ISSN 0914-2487

公益財団法人
# 中谷医工計測技術振興財団

# 年　報

vol. 32

Annual Report　2018

Nakatani Foundation for Advancement of Measuring Technologies in Biomedical Engineering

## 32 号

公益財団法人
中谷医工計測技術振興財団

# 年　報

## 32 号

目　　次


平成 29 年度事業概要 …… 3
　Ⅰ 技術開発研究助成事業 …… 4
　Ⅱ 表彰事業（中谷賞） …… 6
　Ⅲ 技術交流助成事業 …… 7
　Ⅳ 調査研究助成事業 …… 8
　Ⅴ 大学院生奨学金給付事業 …… 9
　Ⅵ 医工計測技術に関する情報の収集及び提供事業 …… 9
　Ⅶ 科学教育振興に対する助成事業 …… 10
　平成 29 年度事業報告書付属明細書（抜粋） …… 15
平成 29 年度贈呈式 …… 47
平成 29 年度トピックス …… 51
平成 28 年度（第 9 回）及び平成 29 年度（第 10 回）中谷賞研究概要 …… 55
研究成果報告 …… 91
　平成 27 年度特別研究助成成果報告 …… 92
　平成 28 年度開発研究助成成果報告 …… 129
　平成 27 年度奨励研究助成成果報告 …… 205
　平成 28 年度奨励研究助成成果報告 …… 219
　平成 27 年度調査研究助成成果報告 …… 267
財団のあらまし …… 275
　設立の趣意 …… 276
　役員等及び事業の概要 …… 277
　表彰ならびに助成実績一覧 …… 278
　　中谷賞の表彰状況 …… 279
　　技術開発に対する助成状況 …… 282
　　技術交流に対する助成状況 …… 311
　　調査研究に対する助成状況 …… 344
　　科学教育振興に対する助成状況（小中高） …… 346

# 平成 29 年度事業概要

新たな産業を創出する先進的な科学技術の重要性がますます高まる中、医工計測技術分野における基盤技術の開発促進は大変重要なテーマのひとつです。公益財団法人中谷医工計測技術振興財団は、昭和59年の設立以来、医工計測技術における先導的技術開発、技術の交流、将来の理系研究者育成に向けた教育助成事業を実施してまいりました。平成29年度からは、医工計測技術および関連技術分野の博士号取得を目指す大学院生に対する給付型奨学金と医工計測技術分野における将来の基盤技術を切り拓く研究に対する長期大型研究助成プログラムを新設しました。収支相償を実現するための枠組み作りを平成 29 年度中に実現させると同時に、既存事業の充実を図るべく諸事業を遂行いたしました。

## Ⅰ．技術開発研究助成事業

医工計測技術は基盤技術であり、その先導的技術開発を促進することは極めて重要です。医工計測技術に対する技術開発研究助成事業は、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いたしました。また本年度から新たに、医工計測技術分野のさらなる発展のために、「長期大型研究助成」（最大 6,000 万円/年を最長 5 年間）を創設し、実施しました。

### ＜特別研究助成、開発研究助成、奨励研究助成＞

1．募　集

医工計測技術は極めて広汎な分野にわたりますが、主には理・工学と医学・生物学の境界領域にあり、学際的研究分野としての社会的ニーズも高まっております。

「生体に関する医工計測技術」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。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。

【募集期間、方法】

| | |
|---|---|
| 募集期間 | 平成 29 年 6 月 20 日～8 月 20 日 |
| 募集案内送付 | 約 390 件 |
| 告知 | 財団ホームページに募集要項等を掲載 |

【応募数】

| | |
|---|---|
| 特別研究助成 | 40 件 |
| 開発研究助成 | 105 件 |
| 奨励研究助成 | 29 件 |

2．審　査

財団内に設置した技術開発研究助成審査委員会（梶谷委員長他11名で構成）の委員により、各大学等から応募のあった計174件の研究テーマに対して、公正にして厳正なる審査を実施し、医工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37件（特別研究助成5件、開発研究助成 20 件、奨励研究助成 12 件）を選出いたしました。

【審査方法】

一次審査　8 月 29 日～10 月 1 日　書面審査

二次審査　10 月 10 日～11 月 5 日　書面審査（特別研究助成）、11 月 19 日（その他）

三次審査　12 月 01 日　面接審査（特別研究助成のみ）

最終審査　12 月 09 日　開催の審査委員会にて審査

＜長期大型研究助成＞

1．募　集

医工計測技術のさらなる発展のため、国内外の研究人材交流による先進的な研究や既存の枠を超えた融合的な研究により将来的に新しい技術や学術・応用分野を開くための基盤を生み出すと同時に次代を担うグローバルに活躍できる若手研究者の育成に資することを目的として研究者と研究題目を募集しました。なお、今年度に関しては受入可能な国内の大学等研究機関のうち、京都大学高等研究院に研究部門を設置することとして募集を行いました。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。

【募集期間、方法】

| | |
|---|---|
| 募集期間 | 平成 29 年 9 月 1 日～9 月 30 日 |
| 募集案内送付先 | 約 10 件 |
| 告知 | 財団ホームページに募集要項等を掲載 |

【応募数】

長期大型研究助成　4 件（ただし、1 件は途中で辞退）

2．審　査

財団内に設置した長期大型研究助成審査委員会（有識者 6 名で構成）の委員により、大学等から応募のあった 3 件の研究テーマに対して、長期大型研究助成の目的や趣旨、また研究体制、人材育成等の多方面から公正にして厳正な審査を行い、1 件を選出いたしました。

【審査方法】

一次審査　10 月 10 日～10 月 31 日　書面審査

面接審査　11 月 14 日　面接審査

最終審査　11 月 14 日　開催の審査委員会にて審査

＜贈呈式＞

平成 30 年 2 月 16 日（金）マンダリンオリエンタル東京において、平成 29 年度技術開発研究助成金（特別研究助成、開発研究助成、奨励研究助成、長期大型研究助成）の贈呈及び平成 27 年度特別研究助成授与者（平成 30 年 3 月末で助成終了予定）による研究成果発表を実施いたしました。技術開発研究助成金は以下の 38 名の研究者に総額 5 億 4,891 万円を贈呈いたしました。

平成 29 年度　技術開発研究助成実績

| | 助成件数 | 助成金額計 |
|---|---|---|
| 開発研究助成 | 20 | 7,700 万円 |
| 奨励研究助成 | 12 | 2,250 万円 |
| 特別研究助成 | 5 | 14,941 万円 |
| 長期大型研究助成 | 1 | 30,000 万円 |
| 合計 | 38 | 54,891 万円 |

※　平成 29 年度技術開発研究助成金贈呈者は付属明細書参照

## Ⅱ. 表彰事業（中谷賞）

### 1. 募　集

生体に関する医工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は、ホームページ上で広く公募を実施しました。

【募集期間、方法】

| | |
|---|---|
| 募集期間 | 平成 29 年 6 月 20 日～9 月 30 日 |
| 募集案内送付 | 約 390 件 |
| 告知 | 財団ホームページに募集要項等を掲載 |

【応募数】

| | |
|---|---|
| 大賞、奨励賞 | 6件 |

### 2. 審　査

財団内に設置した審査委員会（梶谷委員長他 11 名で構成）の委員により、応募のあった計 6 件を公正にして厳正なる審査を実施し、生体に関する医工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として、下記の 2 名を大賞に選考しました。奨励賞に関しては、本年度は該当者はありませんでした。

【審査方法】

一次審査　10 月 10 日～11 月 19 日　書面審査

最終審査　12 月 9 日　開催の審査委員会にて審査

中谷賞　大賞　受賞者

（単位：万円）

| 氏　名 | 所 属 機 関・職位 | 研 究 題 目 | 表彰金額 |
|---|---|---|---|
| 椎名　毅 | 京都大学大学院医学研究科<br>人間健康科学系専攻　教授 | 組織性状・機能情報の新規イメージング技術の先駆的研究と超音波エラストグラフィの開発 | 500 |
| 松田道行 | 京都大学大学院<br>生命科学研究科　教授 | 細胞内情報伝達分子の活性を生きた動物で可視化する技術の開発 | 500 |

小　計　2件　1,000万円

＜贈呈式＞

平成 30 年 2 月 16 日（金）マンダリンオリエンタル東京において、平成 29 年度中谷賞（大賞）の表彰と賞金の贈呈を行いました。

## Ⅲ. 技術交流助成事業

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 29 年度は、技術交流に関して「海外派遣」「日本招聘」「海外研修」「海外留学」「日本留学」への助成を行いました。

### 1. 募　集

医工計測技術分野および関連技術分野の発展に資する、研究者の技術交流に関して財団のホームページ上で広く募集を実施した。

【募集期間、方法】

| | |
|---|---|
| 募集期間 | 四半期毎に募集を実施（海外派遣、日本招聘、海外研修） |
| | 半期毎に募集を実施　（海外留学、日本留学） |
| 告知 | 財団ホームページに募集要項等を掲載 |

### 2. 審　査

財団内に設置した技術交流審査委員会（有識者 4 名で構成）の委員により、応募のあった申請書等を公正にして厳正なる審査を実施し、表に示す多数の研究者を選考しました。

【審査方法】 技術交流助成審査委員による書面審査

ただし、海外留学に関しては、書面審査後審査委員による面接審査を実施

平成 29 年度　技術交流助成実績

| | 助成件数 | 助成金額 |
|---|---|---|
| 海外派遣 | 27 | 674 万円 |
| 日本招聘 | 10 | 330 万円 |
| 海外研修 | 7 | 840 万円 |
| 海外留学 | 6 | 2,850 万円 |
| 日本留学 | 2 | 800 万円 |

小計：　52件　　5，494万円

※ 平成 29 年度　技術交流助成贈呈者は付属明細書参照

## Ⅳ．調査研究助成事業

生体に関する医工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。この、調査研究助成の目的、趣旨に沿う調査研究のテーマに助成を行いました。

1．募　集

調査研究助成の目的、趣旨に沿う調査研究のテーマを広く募集いたしました。

【募集期間、方法】

募集期間　　平成 29 年 6 月 20 日～8 月 20 日

募集案内送付　　約 390 件

告知　　財団ホームページに募集要項等を掲載

【応募数】

調査研究助成　　10 件

2．審　査

財団内に設置した調査研究助成審査委員会（梶谷委員長他 11 名で構成）の委員により、応募のあった 10 件の調査研究テーマに対し公正にして厳正な審査を行い、2 件を選出いたしました。

【審査方法】

一次審査　08 月 29 日～10 月 1 日　書面審査

最終審査　12 月 09 日　開催の審査委員会にて審査

＜贈呈式＞

平成 30 年 2 月 16 日（金）マンダリンオリエンタル東京において、平成 29 年度調査研究助成金の贈呈式を行い、計 600 万円を贈呈いたしました。

※　平成29年度　調査研究助成金贈呈者は付属明細書参照

## Ⅴ. 大学院生奨学金給付事業

医工計測技術および関連技術分野において博士号取得を目指す博士前期課程または博士後期課程の大学院生に奨学金を給付し、将来医工計測技術および関連技術分野で活躍する研究者の育成に資することを目的としています。

### 1. 募　集

奨学金給付を必要とする医工計測技術および関連技術分野の博士号取得を目指す博士前期課程または博士後期課程の大学院生を広く募集いたしました。

【募集期間、方法】

| | |
|---|---|
| 募集期間 | 平成 29 年 9 月 1 日～9 月 30 日 |
| 募集案内送付 | 約　8 件 |
| 告知 | 財団ホームページに募集要項等を掲載 |

【応募数】

| | |
|---|---|
| 博士前期課程 | 8 名 |
| 博士後期課程 | 3 名 |
| 計 | 11 名 |

### 2. 審　査

財団内に設置した大学院生奨学金給付審査委員会（蝦名委員長他 2 名で構成）の委員により、応募のあった 11 名の申請書、成績書等の書類審査と面接審査を実施する公正にして厳正な審査を行い、7 名を選出いたしました。

【審査方法】

| | |
|---|---|
| 一次審査 | 10 月　6 日～10 月 31 日　書類審査 |
| 面接審査 | 11 月 29 日 |
| 最終審査 | 11 月 29 日　開催の審査委員会にて審査 |

＜贈呈式＞

平成 30 年 1 月 15 日（月）中谷医工計測技術振興財団東京事務所において、平成 29 年度大学院生奨学金第一期生の贈与式を行い、第一期生 7 名に認定書を授与いたしました。

## Ⅵ. 医工計測技術に関する情報の収集及び提供事業

生体に関する医工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30号補刷」ならびに「年報31号」を作成し、広く関係機関に提供しました。また当財団の発行する年報を医工計測技術アーカイブとしてホームページ上で公開しています。アーカイブでは各種検索機能が利用可能であり、多くの研究者に医工計測技術分野の有益な情報をフィードバックすることを目指しています。

【発行物】

- 年報30号補刷　：平成29年　5月20日発行
- 年報31号　　：平成30年　3月30日発行
- 発送先　　：関係各位　208部、各大学　117部、関係企業　155部　計480部
  （年報についてはすべて無償提供）

## Ⅶ. 科学教育振興に対する助成事業

将来を担う子どもたちの論理的思考力や創造性を涵養することが、科学技術の発達はもとより我が国の発展に資するものと考え、中学・高校における科学教育振興を目的とした取組みならびに理科好きの小学生を増やすための取り組みを支援する科学教育振興助成を実施しています。

また、同様に大学の学部学生にできるだけ早い時期からグローバルな研究活動を経験してもらうことが、将来グローバルに活躍できる研究者の育成に資するものと考え、国際学生交流プログラムを実施しています。

＜注意事項＞

Ⅶ－1科学教育振興助成とⅦ－2国際学生交流に関しては、審査選考後、実際の助成は次年度に行われます。よって、活動実績としては、前年度に選考された対象者、対象施設に対する助成実績と、次年度の為の募集～審査活動となります。

※ 平成 29 年度科学教育振興助成の助成実績一覧は明細書参照

### Ⅶ－1 科学教育振興助成

助成実績 （平成 29 年度内の助成）

| プ ロ グ ラ ム | 件数/助成金額 |
|---|---|
| 個別助成 | 56件/ 1,631 万円 |
| プログラム助成(初年度)<br>(2 年目) | 14件/ 1,348 万円<br>26件/ 2,235 万円 |
| 小学校の先生を支援するプログラム助成 （初年度）<br>（2年目） | 6件/ 503 万円<br>6件/ 479 万円 |

小計: 108件 6,195万円

※ 平成 29 年度科学教育振興助成 助成校一覧は付属明細書参照

＜成果発表会＞

平成 29 年度助成施設の成果発表会を西日本、東日本の2回に分けて開催した。

西日本大会

平成 29 年 12 月 23 日　広島国際会議場
特別講演　広島大学学長　越智光夫氏
参加校数　34 校
参加人員　147 名

東日本大会

平成 29 年 12 月 26 日　東京品川コクヨホール
特別講演　宇宙飛行士　山崎直子氏
参加校数　47 校
参加人員　175 名

## 募集～審査　活動（平成 30 年度助成に対する活動）

1. 募　集

下記の3つの助成プログラムに対する募集を広く小、中、高校ならびに関連する教育機関からの応募を求めました。

**プログラム**

個別助成
プログラム助成
小学校の先生を支援するプログラム助成

【募集期間、方法】 平成 29 年 10 月 15 日～12 月 10 日

| | |
|---|---|
| 募集案内送付（郵送およびメール） | 67 件（47 都道府県ならびに 20 政令指定都市の教育委員会） |
| 財団のホームページに募集要項等を掲載 | |
| 各県の教育委員会への訪問 | 32 件 |
| 関連学会でのパンフレット配布 | 4 件 |

【応募数】

| | |
|---|---|
| 個別助成 | 113 件 |
| プログラム助成 | 25 件 |
| 小学校の先生を支援するプログラム助成 | 3 件 |
| プログラム助成（2年目） | 14 件 |
| 小学校の先生を支援するプログラム助成（2年目） | 6 件 |
| 合計 | 161 件 |

2. 審　査

財団内に設置した科学教育振興助成審査委員会(有識者 4 名で構成)の委員により、応募のあった 161 件の申請題目に対して、公正にして厳正な審査を行い、下表の通り 96 件を選出いたしました。

＜平成30年度科学教育振興助成予定＞

| プ ロ グ ラ ム | 件数/助成金額 |
|---|---|
| 個別助成 | 61件/　1,816 万円 |
| プログラム助成(初年度)<br>(2 年目) | 13件/　1,256 万円<br>14件/　1,263 万円 |
| 小学校の先生を支援するプログラム助成　(初年度)<br>(2年目) | 2件/　200 万円<br>6件/　547 万円 |

小計：96件　5，082万円

## Ⅶ－2　国際学生交流プログラム

国際学生交流プログラム助成は、日本および海外の大学学部生を対象とし、夏休み等を利用した短期留学であるが、大学研究室に属して最先端の研究活動に触れると同時に、研修や交流活動を通して他国の言語や文化を学ぶ機会を提供し、将来グローバルに活躍できる研究者育成を図ることを目的としています。

### Ⅶ－2．1平成 29 年度　助成実績

**国際学生交流　中谷 RIES プログラム**

中谷 RIES プログラムは日米の理系学部生(1～2 年生中心)に、実際に研究を体験してもらい、研究者の道を踏み出す機会を提供します。

日本学生は、夏季休暇にオリエンテーションとして米国のライス大学*にて生活・文化体験も織り交ぜながらリサーチインターンシップを体験します。

米国学生は 3 か月間の夏季休暇を利用して来日し、オリエンテーションとして東京で日本語を含めた集合研修を受けます。その後、日本各地の大学でリサーチインターンシップを行い日本の大学の研究活動を体験します。

日米の学生の交流も図り、将来グローバルな研究活動を行う際に役立つネットワーク作りも行っています。　　*ライス大学　http://www.rice.edu/

| 採択学生 | 人数 |
|---|---|
| 日本学生 | 11 |
| 米国学生 | 12 |

国際学生交流　アドバンストプログラム

国際学生交流アドバンストプログラムは、本年度の中谷 RIES プログラムで短期のリサーチインターンシップを経験した日本の大学学部生の中から特に優秀であった学生（若干名）を、春休みを活用した海外の著名大学に短期リサーチインターンシップで派遣するプログラムです。

将来グローバルな活躍が期待される人材を、できるだけ早く一流の研究機関の研究活動に触れさせる事で、医工計測技術とその関連技術分野の新たな展開を切り拓いてもらえる人材の育成を目的としています。

1. 募　集

【募集期間、方法】

募集期間　　平成 29 年 9 月 11 日～10 月 2 日

応募資格　　平成 29 年度中谷 RIES プログラム参加者

【応募数】

日本学生応募者数　　7 名

2. 審　査

財団内に設置した国際学生交流審査委員会（有識者　5 名で構成）の委員により、応募のあった 7 名の申請書および関連書類、ならびに中谷 RIES プログラムでの引受先研究室の責任教授、メンター等の評価、ならびにアドバンストプログラムの派遣先研究テーマとのマッチングを参考にして、公正にして厳正な審査を行った。

【審査方法】

書面審査　　10 月 2 日～10 月 9 日

最終審査　　10 月 10 日開催の審査委員会で審査

| 採択学生 | 人数 |
|---|---|
| 日本学生 | 3 |

## Ⅶ－2. 2平成 30 年度助成者　募集～審査活動

1. 募　集

国際学生交流プログラムに参加を希望する、日本人または日本での永住権を持っている、日本の大学に在席する学部学生を広く募集しました。

【募集期間、方法】

米国　　平成 29 年 11 月 10 日～平成 30 年 1 月 16 日

RICE 大学のホームページに募集要項等を掲載（RICE 大学に業務委託）

日本　　平成 29 年 12 月 1 日～平成 30 年 2 月 2 日

募集パンフレット送付　約 30 件

財団ホームページに募集要項等を掲載

主要 9 大学の留学支援部門を訪問、説明会を実施

【応募数】

USA 応募者数　159 名

日本応募者数　29 名

## 2. 審　査

財団内に設置した国際学生交流審査委員会（有識者　5 名で構成）の委員により、応募のあった USA 学生 159 名、日本学生 29 名の申請書および関連書類審査ならびに面接審査を実施により、公正にして厳正な審査を行い、米国側 12 名、日本側 12 名の学生を選考しました。

【審査方法】

USA

書面審査　1 月 25 日～2 月 8 日　書面審査

面接審査　2 月 11 日～2 月 12 日（スカイプインタビュー）

最終審査　2 月 14 日　開催の審査委員会にて審査

日本

書面審査　2 月 8 日～2 月 26 日　書面審査

面接審査　3 月 6 日～3 月 7 日（一部スカイプインタビュー）

最終審査　3 月 7 日　開催の審査委員会で審査

# 平成 29 年度事業報告書付属明細書(抜粋)

## Ⅰ．平成29年度　技術開発研究助成金贈呈者一覧（敬称略・順不同）

### 開発研究助成

（単位：千円）

| 氏　名 | 所属機関・職 | 研究題目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 藤田 秋一 | 鹿児島大学共同獣医学部獣医学科　教授 | 生体膜での脂肪酸ナノスケール解析技術確立による不飽和脂肪酸生理機能発現機序の解明（＊） | 3,000 |
| 斎木 敏治 | 慶應義塾大学理工学部電子工学科　教授 | リキッドバイオプシーへ向けたナノポアフィルタ実装金ナノ粒子アッセイデバイスの開発 | 4,000 |
| 磯部 圭佑 | 理化学研究所光量子工学研究領域　研究員 | 脳機能ネットワーク解明のための深部超解像顕微鏡と光刺激技術の開発 | 4,000 |
| 大場 雄介 | 北海道大学大学院医学研究院教授 | 生きた患者がん細胞でチロシンキナーゼ活性を測定する FRET バイオセンサー群の開発 | 4,000 |
| 佐藤 和秀 | 名古屋大学高等研究院医学系研究科<br>S-YLC 特任助教(Selected-Young Leaders Cultivation Program) | ナノイメージ計測・分析にて明らかにする光励起細胞死の機序（＊） | 4,000 |
| 早水 裕平 | 東京工業大学物質理工学院准教授 | 単一細胞計測のための自己組織化ペプチド修飾2次元ナノバイオセンサの開発 | 4,000 |
| 角嶋 邦之 | 東京工業大学工学院准教授 | SiC 半導体を用いた高感度 X 線検出器の作製 | 3,000 |
| 雲林院 宏 | 北海道大学電子化学研究所教授 | 銀ナノワイヤー探針増強ラマン顕微鏡を用いた超高密度 DNA マッピング | 4,000 |
| 竹内 純 | 東京医科歯科大学難治疾患研究所　准教授 | 安定拍動・薬効評価可能な心筋神経 on-chip ディバイスの技術開発 | 4,000 |
| 水津 太 | 北海道大学遺伝子病制御研究所　准教授 | 膜リン脂質イメージング計測技術の開発と臨床応用に向けた研究 | 4,000 |
| 松田 厚志 | 慶應義塾大学医学部助教 | 革新的エクソソーム糖鎖バイオマーカー検出法の開発および医療応用へ向けた研究 | 4,000 |
| 久武 幸司 | 筑波大学人間総合科学研究科教授 | 非侵襲的蛍光生体イメージングによる脱共役タンパク質の計測技術の開発 | 4,000 |
| 坪井 貴司 | 東京大学大学院総合文化研究科　准教授 | 蛍光タンパク質センサーによる細胞内代謝機能の可視化計測技術の開発 | 4,000 |
| 中野 裕康 | 東邦大学医学部医学科教授 | FRET を用いたネクロプトーシスと DAMPs 放出の可視化技術の開発 | 4,000 |
| 久本 秀明 | 大阪府立大学大学院工学研究科　教授 | 極限濃度色素薄膜を用いる遠隔診療用スマホ検出型高感度簡易マルチ診断デバイスの開発 | 4,000 |
| 三浦 治郎 | 大阪大学歯学部附属病院助教 | 蛍光型 AGEs を指標とした非侵襲高感度な生体糖化測定手法の開発 | 4,000 |

（単位：千円）

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 岩脇 隆夫 | 金沢医科大学総合医学研究所<br>教授 | ミトコンドリア異常を捉える生体イメージング技術の開発 | 3,000 |
| 須藤 亮 | 慶應義塾大学理工学部<br>システムデザイン工学科<br>准教授 | 肝・胆管組織工学に基づく胆汁循環プロセスの計測 | 4,000 |
| 小野 大輔 | 名古屋大学環境医学研究所<br>助教 | 生体深部からの細胞活動を可視化するイメージング技術の開発 | 4,000 |
| 大島 まり | 東京大学生産技術研究所<br>教授 | 治療支援のための医用画像とシミュレーション統合による脳循環動態予測システム開発 | 4,000 |

**奨励研究助成**

（単位：千円）

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 馬越 貴之 | 大阪大学大学院<br>工学研究科　助教 | 波長を選ばない表面増強ラマン分光法の開発と単一生体分子分析への展開 | 2,000 |
| 浅見 祐也 | 学習院大学<br>理学部　助教 | タンパク質二次構造の解明を目指した液滴分子線赤外レーザー蒸発－気相CD分光法の開発 | 1,500 |
| 倉科 佑太 | 慶應義塾大学<br>理工学部　助教 | 超音波振動から生じる音響放射圧を用いた細胞接着力の測定装置の開発 | 2,000 |
| 志水 陽一 | 京都大学<br>医学部附属病院放射線部　助教 | がんの性状診断を可能とするActivatable 光超音波イメージング剤の開発 | 2,000 |
| 藤本 裕 | 東北大学大学院<br>工学研究科　助教 | フォトンカウンティング型X線CTへの応用を目指した新規シンチレータ素子の開発 | 2,000 |
| 吉井 達之 | 名古屋工業大学大学院<br>工学研究科　助教 | タンパク質構造体の積極利用による微量化学種の高感度検出 | 2,000 |
| 佐野 紘平 | 神戸薬科大学<br>薬品物理化学研究室　講師 | がんの性状鑑別を目的とした高感度磁気共鳴／光音響イメージングプローブの創製 | 1,500 |
| 野上 大史 | 九州大学大学院<br>工学研究院　助教 | 褥瘡モニタリング用の接触荷重・血行・皮膚の状態を測定可能なワンチップ多機能センサ | 2,000 |
| 白松 知世 | 東京大学<br>先端科学技術研究センター<br>特任助教 | 迷走神経刺激療法の皮質神経回路に対する神経学的作用機序の解明方法の開発 | 2,000 |
| 小和田 俊行 | 東北大学<br>多元物質科学研究所　助教 | シグナル伝達経路の詳細解析を可能とする光操作小分子プローブの開発 | 2,000 |
| 猪瀬 朋子 | 北海道大学<br>電子科学研究所　助教 | 液中局在プラズモン共鳴microRNAセンシング | 2,000 |
| 紅林 佑希 | 静岡県立大学大学院<br>薬学研究院　助教 | ウイルス酵素イメージングによる薬剤耐性インフルエンザウイルスの検出技術の開発 | 1,500 |

**特別研究助成：複数年（最大2年間）**

（単位：千円）

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 田中 拓男 | 理化学研究所<br>田中メタマテリアル研究室<br>主任研究員 | 赤外吸収メタマテリアルと分子の共鳴結合を利用した高感度極微量分子分光法の開発 | 29,460 |
| 富澤 一仁 | 熊本大学大学院<br>生命科学研究部　教授 | RNA 修飾ヌクレオシド計測システム開発とその非侵襲的診断技術への応用 | 30,000 |
| 竹本 研 | 横浜市立大学<br>医学部生理学　助教 | 内在性蛋白質の時空間機能を網羅的に計測可能な光学技術の開発 | 30,000 |
| 城口 克之 | 理化学研究所<br>生命システム研究センター<br>ユニットリーダー | 菌叢ネットワークの理解・コントロールへ向けた“次世代”菌叢解析法 の開発 | 30,000 |
| 安井 武史 | 徳島大学大学院<br>社会産業理工学研究部　教授 | 光コムを用いたスキャンレス共焦点蛍光顕微鏡の開発と超解像イメージングへの展開 | 29,950 |

**長期大型研究助成**

（単位：千円）

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 田中　求 | ハイデルベルグ大学<br>物理化学研究所　教授 | 医学物理の基礎学理を中核とする医工計測の新たな研究・教育グローバル拠点の確立 | 60,000/年<br>（5 年間） |

## Ⅱ. 平成29年度　中谷賞受賞者一覧

### 中谷賞　大賞

（単位：千円）

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 | 研 究 題 目 | 表彰金額 |
|---|---|---|---|
| 椎名　毅 | 京都大学大学院医学研究科<br>人間健康科学系専攻 | 組織性状・機能情報の新規イメージング技術の先駆的研究と超音波エラストグラフィの開発 | 5,000 |
| 松田道行 | 京都大学大学院<br>生命科学研究科 | 細胞内情報伝達分子の活性を生きた動物で可視化する技術の開発 | 5,000 |

### 中谷賞　奨励賞

平成 29 年度は該当者無し

## Ⅲ. 平成29年度技術交流贈呈者一覧

**海外派遣**

| 氏名 | 所属機関・職 | 会議名 | 開催地 | 時期 |
|---|---|---|---|---|
| 安 琪 | 東京大学<br>工学系研究科<br>精密工学専攻<br>助教 | 米国電気電子学会第 15 回リハビリテーションロボティクス国際会議<br>15th IEEE International Conference on Rehabilitation Robotics (ICORR 2017) | イギリス<br>ロンドン | 平成 29 年<br>7 月 |
| 北田 敦 | 京都大学<br>工学研究科<br>材料工学専攻<br>助教 | 電気化学 2017<br>Electrochemistry 2017 | ドイツ<br>ベルリン | 平成 29 年<br>7 月 |
| 金 英寛 | 東京大学大学院<br>博士課程医学系研究科<br>外科学専攻整形外科学 | 第5回スイスー日本・バイオメカニクス・ワークショップ<br>5th Switzerland-Japan Workshop on Biomechanics SJB2017 | スイス<br>ツェルマット | 平成 29 年<br>9 月 |
| 熊本 康昭 | 京都府立医科大学<br>大学院医学研究科<br>細胞分子機能病理学<br>助教 | 国際光工学会オプティクス＋フォトニクス<br>SPIE Optics + Photonics | アメリカ<br>サンディエゴ | 平成 29 年<br>8 月 |
| 香川 璃奈 | 東京大学大学院<br>医学系研究科<br>社会医学専攻 | 第 16 回国際医療情報学会<br>The 16th World Congress on Medical and Health Informatics | 中国<br>杭州 | 平成 29 年<br>8 月 |
| 西村 啓吾 | 東京大学大学院<br>生産技術研究所<br>竹内昌治研究室 | 化学と生命科学のための微小システムに関する国際会議<br>The 21st International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2017) | アメリカ<br>サバンナ | 平成 29 年<br>10 月 |

| 氏名 | 所属機関・職 | 会議名 | 開催地 | 時期 |
|---|---|---|---|---|
| 井上 渚紗 | 慶應義塾大学<br>理工学研究科総合デザイン工学専攻<br>尾上研究室 | 第 21 回 MicroTAS 国際会議<br>The 21st International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Science | アメリカ<br>サバンナ | 平成 29 年<br>10 月 |
| 中川 直 | 理化学研究所<br>脳科学総合研究センター<br>局所神経回路研究チーム | 北米神経科学学会 2017<br>Neuroscience 2017 | アメリカ<br>ワシントン | 平成 29 年<br>11 月 |
| 梨本 裕司 | 京都大学<br>工学研究科<br>マイクロエンジニアリング専攻<br>特定助教 | バイオメディカルエンジニアリング学会2017<br>Biomedical Engineering Society (BMES) 2017 | アメリカ<br>フェニックス | 平成 29 年<br>10 月 |
| 田中 陽 | 理化学研究所<br>生命システム研究センター<br>集積バイオデバイス研究ユニット<br>ユニットリーダー | 化学と生命科学のための微小化システムに関する国際会議<br>The 21st International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2017) | アメリカ<br>サバンナ | 平成 29 年<br>10 月 |
| 磯村 拓哉 | 理化学研究所<br>脳科学総合研究センター<br>神経適応理論研究チーム | 北米神経科学学会年会<br>Neuroscience 2017 | アメリカ<br>ワシントン | 平成 29 年<br>11 月 |
| 秋山 佳丈 | 国立大学法人 信州大学<br>繊維学部<br>機械・ロボット学科<br>准教授 | 第 21 回化学とライフサイエンスのための微小システムに関する国際会議<br>The 21st International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2017) | アメリカ<br>サバンナ | 平成 29 年<br>10 月 |

| 氏名 | 所属機関・職 | 会議名 | 開催地 | 時期 |
|---|---|---|---|---|
| Liyanaarachchi Madhushanka Rukshani | 東京大学大学院<br>工学系研究科<br>バイオエンジニアリング専攻<br>医用精密工学研究室 | 2017 年 IEEE 核科学シンポジウムおよび医用画像会議<br>（NSS / MIC）<br>2017 IEEE Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference<br>(NSS/MIC) | アメリカ<br>アトランタ | 平成 29 年<br>10 月 |
| 大平 雅子 | 滋賀大学<br>教育学部<br>保健体育講座<br>准教授 | 世界睡眠会議 2017<br>World Sleep 2017 | チェコ共和国<br>プラハ | 平成 29 年<br>10 月 |
| 伊沢 友佑 | 慶應義塾大学<br>理工学研究科<br>総合デザイン工学専攻 | 第 31 回 MEMS 国際会議<br>The 31st IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS 2018) | イギリス<br>ベルファスト | 平成 30 年<br>1 月 |
| 大田 能士 | 慶應義塾大学<br>理工学研究科<br>総合デザイン工学専攻マルチディシプリナリ科学専修機械系 | 第 31 回 MEMS 国際会議 2018<br>The 31st IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems″ | イギリス<br>ベルファスト | 平成 30 年<br>1 月 |
| 黄山 澄昊 | 東京大学大学院<br>情報理工系研究科<br>知能機械情報学専攻<br>下山・高畑研究室 | 第 31 回微小機械電機システムの国際会議<br>The 31th IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems<br>(MEMS2018) | イギリス<br>ベルファスト | 平成 30 年<br>1 月 |
| 谷井 嶺太 | 東京大学大学院<br>情報理工学系研究科<br>知能機械情報学専攻 | 第 31 回微小機械電機システムの国際会議<br>The 31st IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems | イギリス<br>ベルファスト | 平成 30 年<br>1 月 |

| 氏名 | 所属機関・職 | 会議名 | 開催地 | 時期 |
|---|---|---|---|---|
| 池田 裕真 | 慶應義塾大学<br>大学院<br>理工学研究科<br>総合デザイン工学専攻 | 第 20 回生物発光化学発光国際シンポジウム（生物・化学発光技術開発に関する国際会議）<br>20th International Symposium on Bioluminescence & Chemiluminescence | フランス<br>ナント | 平成 30 年<br>5 月 |
| 野村 順一 | 岩手医科大学<br>医学部<br>脳神経外科 | 国際磁気共鳴医学会<br>Joint Annual Meeting<br>ISMRM-ESMRMB 2018 | フランス<br>パリ | 平成 30 年<br>6 月 |
| 太田 亘俊 | 理化学研究所<br>生命システム研究センター<br>集積バイオデバイス研究ユニット | 第33回国際サイトメトリー振興学会<br>33rd Congress of the International Society for Advancement of Cytometry (CYTO 2018) | チェコ共和国<br>プラハ | 平成 30 年<br>4 月 |
| 前田 祐佳 | 筑波大学<br>システム情報系<br>知能機能工学域<br>助教 | 2018 World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering<br>IUPESM 2018 | チェコ共和国<br>プラハ | 平成 30 年<br>6 月 |
| 澁谷 孝行 | 金沢大学<br>医薬保健研究域保健学系<br>量子医薬技術学講座<br>助教 | 第 12 回世界核医学会国際会議<br>12Th WORLD CONGRESS OF THE WORLD FEDERATION OF NUCLEAR MEDICINE AND BIOLOGY (WFNMB) | オーストラリア<br>メルボルン | 平成 30 年<br>4 月 |
| 細井 千尋 | 東京農工大学<br>大学院　工学府<br>生命工学専攻 | バイオセンサーズ 2018<br>Biosensors 2018 | アメリカ<br>マイアミ | 平成 30 年<br>6 月 |
| 藤淵 俊王 | 九州大学<br>大学院医学研究院<br>保健学部門<br>准教授 | 第 5 回アジアオセアニア放射線防護会議<br>5th Asian and Oceanic IRPA Regional Congress on Radiation Protection | オーストラリア<br>メルボルン | 平成 30 年<br>5 月 |
| 畑田 実香 | 東京農工大学<br>大学院　工学府<br>生命工学専攻 | バイオセンサーズ 2018<br>Biosensors 2018 | アメリカ<br>マイアミ | 平成 30 年<br>6 月 |
| 畔堂 一樹 | 有限会社セレンディップ研究所<br>大阪大学大学院　工学研究科<br>応用物理学専攻 | スプリングサイエックス 2017<br>Spring SciX 2018 | イギリス<br>スコットランド<br>グラスゴー | 平成 30 年<br>4 月 |

海外留学

| 氏名 | 所属機関・職 | 研究テーマ | 留学先機関名 | 期間 |
|---|---|---|---|---|
| 小林 正和 | 金沢大学<br>医薬保健研究域<br>附属 健康増進科学センター<br>助教 | 個別化内用放射線治療を可能とするがん治療シミュレーション予測法とがん治療効果増強法の開発 | 米国国立衛生研究所 | 平成 30 年 1 月 ～<br>平成 31 年 12 月 |
| 後藤 昌希 | 福岡大学<br>医学部<br>心臓血管内科学 | ①モノアシルグリセロールリパーゼ活性の測定による簡易的 HDL 機能評価技術の開発 ②超音波/ナノバブルと ApoA-I 模倣ペプチドによる新規動脈硬化治療への簡易的 HDL 機能評価技術の応用 | カリフォルニア大学<br>アーバイン校 | 平成 29 年 10 月～<br>平成 30 年 9 月 |
| 曽山 裕子 | 兵庫医科大学<br>医学部 内科学<br>循環器内科<br>助教 | Fusion Imaging を臨床応用するためのソフトウエア開発 | ワシントン大学 | 平成 29 年 9 月～<br>平成 31 年 8 月 |
| 山下 力也 | 京都大学大学院<br>医学研究科<br>放射線医学講座 | 機械学習を用いた"Radiomics"によるマルチオミクス解析：がん個別化・予測医療の実現にむけて | ニューヨーク<br>メモリアルスローンケタリング<br>がんセンター | 平成 29 年 7 月～<br>平成 30 年 3 月 |
| 重光 幸栄 | 順天堂大学<br>医学部<br>小児科 | 心エコー法による、小児がん化学療法後心機能障害の早期検出 | アルバータ大学 | 平成 30 年 9 月～<br>平成 32 年 8 月 |
| 酒巻 裕介 | 京都大学大学院<br>理学研究科<br>物理学・宇宙物理学専攻 | 疾患・発生の普遍原理解明に向けた疾患・発生関連細胞の細胞接着強度・細胞接着面の形状・細胞運動の定量解析 | ハイデルベルク大学<br>物理化学研究所 | 平成 30 年 10 月～<br>平成 32 年 9 月 |

日本招聘

| 申請者 | 所属機関・職 | 会議名 | 開催地 | 被招聘者 | 時期 |
|---|---|---|---|---|---|
| 林 拓也 | 理化学研究所<br>ライフサイエンス技術基盤研究センター<br>機能構築イメージングチーム | ABiS international symposium “MRI and cohort studies: Development of Imaging Science in Human Biology | 東京 | Matthew F Glasser | 平成 29 年 9 月 |
| 井上 康志 | 大阪大学<br>大学院生命機能研究科<br>生命機能専攻<br>教授 | International Nanophotonics Symposium (INP-2017) | 静岡県<br>伊東 | Prof. Colin J.R. Sheppard | 平成 29 年 8 月 |
| | | | | Prof. Min Gu | 平成 29 年 8 月 |
| 小林 直樹 | 埼玉医科大学<br>保健医療学部<br>医用生体工学科<br>教授 | OS: Image safety and ubiquitous interface based on integrated sensory perception | 名古屋 | Prof. Richard H.Y. SO | 平成 29 年 10 月 |
| 金丸 和典 | 東京大学大学院<br>医学系研究科<br>細胞分子薬理学<br>助教 | 第 20 回カルシウム結合蛋白質とカルシウム機構の生理と病態に関する国際シンポジウム | 兵庫県<br>淡路島 | Robert E. Campbell | 平成 29 年 10 月 |
| 安樂 真樹 | 東京大学<br>医学部附属病院<br>呼吸器外科<br>特任准教授 | 日本生体医工学会 | 札幌 | Keith E cook | 平成 30 年 6 月 |
| 佐藤 正晃 | 理化学研究所<br>脳科学総合研究センター精神生物学研究チーム | 第 41 回日本神経科学大会シンポジウム「最先端光イメージングによる深部脳観察へのアプローチ」 | 神戸 | Chris Xu | 平成 30 年 7 月 |
| | | | | Na Ji | 平成 30 年 7 月 |
| 菊池 章 | 大阪大学<br>大学院医学系研究科<br>分子病態生化学<br>教授 | 第 91 回<br>日本生化学会大会 | 京都 | Edwin Munro | 平成 30 年 9 月 |

| 申請者 | 所属機関・職 | 会議名 | 開催地 | 被招聘者 | 時期 |
|---|---|---|---|---|---|
| 諏訪部 章 | 岩手医科大学<br>医学部 臨床検査医学講座<br>教授 | 第 11 回チェリーブロッサムシンポジウム | 盛岡 | Dr. Patricia M Jones | 平成 30 年 4 月 |
| 青木 一郎 | 名古屋大学<br>大学院理学研究科<br>ニューロサイエンス研究センター | 第 41 回日本神経科学大会若手企画シンポジウム「シンプルな神経回路から解き明かす情報処理の基本原理～複雑な脳への応用に向けて」 | 神戸 | 麻生 能功 | 平成 30 年 9 月 |
| 森松 賢順 | 岡山大学<br>大学院医歯薬学総合研究科<br>システム生理学<br>助教 | 第 56 回 日本生物物理学会年会 | 岡山 | Alexander R Dunn | 平成 30 年 9 月 |

**海外研修**

| 氏名 | 所属機関・職 | 研究テーマ | 研修先機関名 | 時期 |
|---|---|---|---|---|
| 奥村 晋也 | 京都大学<br>医学研究科<br>肝胆膵・移植外科 | 腹腔鏡下肝切除手術におけるシミュレーション技術の開発と有用性の検討 | ピエール・マリーキュリー大学(パリ第 6 大学)，ピティエ・サルペトリエール病院 | 平成 29 年 8 月<br>(5 ヶ月) |
| 庄司 観 | 東京農工大学<br>大学院工学研究院<br>生命工学専攻 | Bio-SICM 技術を応用した単一細胞分析マイクロ流路デバイスに関する研究 | シンシナティ大学 | 平成 29 年 12 月<br>(6 ヶ月) |
| 藪中 俊介 | 京都大学<br>工学部<br>福井謙一記念研究センター | in vitro の細胞組織を記述する連続体モデリング－背側閉鎖(dorsal closure)を例にして | キュリー研究所 | 平成 30 年<br>1 月<br>(3 ヶ月) |

| 氏名 | 所属機関・職 | 研究テーマ | 研修先機関名 | 時期 |
|---|---|---|---|---|
| 吉田　篤司 | 理化学研究所<br>ライフサイエンス技術基盤研究センター<br>機能構築イメージングチーム | 精神疾患 MRI 画像診断法の確立に向けた覚醒マカクサル実験用の MRI 受信コイルの開発 | ルーヴェン大学 | 平成 30 年<br>2 月<br>（1 ヶ月） |
| 横山　ちひろ | 理化学研究所<br>ライフサイエンス技術基盤研究センター<br>機能構築イメージングチーム | 社会行動の多様性の進化を支える脳機能 | エジンバラ大学<br>心理学教室 | 平成 30 年 4 月<br>（6 ヶ月） |
| 陳　碩 | 理化学研究所<br>脳科学総合研究センター<br>神経回路・行動生理学研究チーム | 複数脳領域における大規模 2 光子解析法の開発 | ハワード・ヒューズ医学研究所　ジャネリア・ファーム研究キャンパス | 平成 30 年 4 月<br>（3 ヶ月） |
| 石川　雅浩 | 埼玉医科大学<br>保健医療学部<br>医用生体工学科 | ハイパースペクトル HE 染色病理画像からのデジタル EVG 染色の実現 | イリノイ工科大学 | 平成 30 年<br>4 月<br>（2 ヶ月） |

日本留学

| 申請者 | 所属機関・職 | 被留学者・留学先 | | 研究テーマ | 期間 |
|---|---|---|---|---|---|
| 宮地 勇人 | 東海大学<br>医学部　基盤診療学系臨床検査学<br>教授 | Natsagdorj Munkh-Erdene | 東海大学<br>医学部 | 白血病細胞における骨髄ニッシェ・クロストークによる抗がん剤耐性機序解明とそれに基づく治療反応性の評価法の開発 | 2018 年 4 月<br>～<br>2019 年 3 月 |
| 森 武俊 | 東京大学<br>大学院医学系研究科<br>ライフサポート技術開発学（モルテン）寄付講座<br>特任教授 | Kang SooIn | 東京大学<br>医学部 | 足の圧力センサとジャイロスコープを利用しモーション予測することで関節炎患者の下半身の動きを補助するロボット | 2018 年 4 月<br>～<br>2020 年 3 月 |

## Ⅳ. 平成29年度　調査研究助成金贈呈者一覧

### 調 査 研 究 助 成

（単位：千円）

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 多田 昌史 | 京都大学大学院<br>医学研究科　博士課程後期 | 救急外来におけるトロポニンを用いた最適な心筋梗塞の診断戦略の検討 | 3,000 |
| 一瀬 邦弘 | 長崎大学大学院<br>医歯薬学総合研究科　講師 | ポリソムノグラフィーを用いたリウマチ性疾患患者の疼痛と睡眠障害の検討 | 3,000 |

## Ⅴ. 平成29年度　科学教育振興助成贈呈施設一覧

### 個別助成

（単位：千円）

| 学校名 | 都道府県 | 申請題目 | 助成額 |
|---|---|---|---|
| 札幌市立富丘小学校 | 北海道 | 理科が好きな子どもを育てる | 300 |
| 弘前市立相馬中学校 | 青森県 | 電気エネルギーの利用を身近なものとして理解しよう | 300 |
| 弘前市立第三中学校 | 青森県 | 身の回りの現象から科学を身近に理解する | 300 |
| 秋田県立秋田高等学校 | 秋田県 | 突然変異抑制効果を持つ物質の探索 | 300 |
| 川俣町立川俣小学校 | 福島県 | 「あったらいいな」を形にして発想する喜びと創造力を高める活動 | 300 |
| 茨城高等学校・中学校 | 茨城県 | 化学部の研究 | 200 |
| 茨城県立水戸第二高等学校 | 茨城県 | 高校生の視点に立った Belousov-Zhabotinsky 反応の長時間挙動の解析 | 300 |
| みなかみ町立新治小学校 | 群馬県 | 絶滅危惧種「赤谷の森のイヌワシ」を保護する自然林再生・復旧の試み | 300 |
| 群馬県立前橋女子高等学校 | 群馬県 | 物理基礎の比熱測定実験を「分銅」が劇的に変える！ | 300 |
| 春日部市立幸松小学校 | 埼玉県 | ICT 機器を活用した知識構成型ジグソー学習の実践 | 300 |
| 山村学園山村国際高等学校 | 埼玉県 | マウス腸内フローラから観察した健康食品の機能性 | 300 |
| 浦和実業学園高等学校 | 埼玉県 | 低温下での緑色光または青色光の照射と魚類の成長速度の変化 | 296 |

（単位：千円）

| 学校名 | 都道府県 | 申請題目 | 助成額 |
|---|---|---|---|
| 千葉大学教育学部附属中学校 | 千葉県 | 生徒が積極的に実験に参加できる新しい授業実践　－タブレットPCの活用－ | 300 |
| 銚子市立第五中学校 | 千葉県 | 生徒の疑問を引き出す教材の開発と思考力，創造力を高める指導法の工夫 | 300 |
| 千葉県立東葛飾高等学校 | 千葉県 | 缶サットへの挑戦～模擬人工衛星の製作を通した「ものづくり」教育～ | 300 |
| 日本大学習志野高等学校 | 千葉県 | 化学部生徒による化学実験教室実施の指導および大学教員による高大連携教育の計画と実施 | 300 |
| 江戸川区立南篠崎小学校 | 東京都 | 児童が動植物と触れ合う活動を通して生物の多様性に気付かせる取組 | 300 |
| 神奈川県立平塚農業高等学校初声分校 | 神奈川県 | ハイドロゲル・アルギン酸カルシウム・生分解性プラスチックを利用したカプセル開発 | 300 |
| 神奈川県立弥栄高等学校 | 神奈川県 | 青銅鏡の大型化に対する最適な鋳造条件の研究 | 300 |
| 高岡市立志貴野中学校 | 富山県 | 生徒の自己有用感や協調性を高める科学部（自然科学部）指導の実践 | 300 |
| かほく市立高松中学校 | 石川県 | 2年化学分野における恋愛物語とその実践例 | 300 |
| 山梨県立韮崎高等学校 | 山梨県 | 生徒が進める課題研究における分子生物学的・生化学的解析への取組み | 300 |
| 長野市立山王小学校 | 長野県 | 長野盆地の生い立ちを校歌の一節をもとに繙く―小学校第 6 学年理科「土地のつくりと変化」の学習を通して― | 300 |
| 長野県松本工業高等学校 | 長野県 | 軽い薄い透明、手作り電子デバイスの教材開発 | 300 |
| 静岡県立韮山高等学校 | 静岡県 | バイオテクノロジーを題材にした科学教室で地域貢献及び教材の開発 | 300 |

（単位：千円）

| 学校名 | 都道府県 | 申請題目 | 助成額 |
|---|---|---|---|
| 岡崎市立愛宕小学校 | 愛知県 | 異校種学校や企業・施設と連携する「本物との出会い」を大切にした理科学習の工夫 | 300 |
| 三重県立桑名西高等学校 | 三重県 | 桑名西高等学校　新教育プロジェクトⅣ『平成 29 年度　理数系科学への新たな出会い』 | 300 |
| 三重県立四日市工業高等学校 | 三重県 | ロボット創造開発のためのCAD／CAM／CAEシステムを用いた実用的なものづくり教育手法の開発 | 300 |
| 三重県立伊勢工業高等学校 | 三重県 | CFRP焼成炉に関する製作研究を通じた学び | 300 |
| 守山市立明富中学校 | 滋賀県 | iPad を活用した多様な表現・双方向コミュニケーションによる 能動的・協働的な理科授業の実践 | 300 |
| 綾部市立何北中学校 | 京都府 | 理科室を発見の場に | 300 |
| 大谷中学校・高等学校 | 大阪府 | 既存の製品にはない機能を持つ実験装置の開発を通じて物理教育の発展に貢献する | 298 |
| 大阪府立東住吉高等学校 | 大阪府 | 理科研究部部員による地域の小中学生向け実験教室の実験内容の多様化に向けて | 292 |
| 大阪府立大手前高等学校定時制の課程 | 大阪府 | 重力の魔術師をめざして ～微小重力発生装置・重力可変装置を製作し，様々な惑星・衛星の表面重力をつくる～ | 300 |
| 大阪府立枚方高等学校 | 大阪府 | 枚方にホタルを取り戻す～枚高ホタルプロジェクト | 279 |
| 大阪府立三島高等学校 | 大阪府 | タブレットを用いた授業の新展開・・・拡張現実（AR）技術を用いた教材の開発と活用 | 300 |
| 兵庫県立姫路聴覚特別支援学校 | 兵庫県 | ロボットを利用したものづくり教育 | 294 |

（単位：千円）

| 学校名 | 都道府県 | 申請題目 | 助成額 |
|---|---|---|---|
| 神戸大学附属小学校 | 兵庫県 | 3 年生の子どもたちの「もの」としてのとらえを，「素材」としてのとらえに変える授業プログラムの開発 | 262 |
| 神戸市立糀台小学校 | 兵庫県 | 子供の主体性を育てる理科教育の充実を目指して | 300 |
| 兵庫県立小野高等学校 | 兵庫県 | 葉緑体 DNA の解析によるスミレ属の分子系統解析 | 300 |
| 兵庫県立兵庫高等学校 | 兵庫県 | 大学院生と学ぶ自然科学探究活動Ⅰ | 300 |
| 帝塚山中学校高等学校 | 奈良県 | ロボット教室開催を通した人づくり　～参加児童・指導生徒、両方の成長を願って～ | 290 |
| 日野町立黒坂小学校 | 鳥取県 | 科学が好きな子どもを育てる　黒坂小かわこっ子ドリーム・ホーププラン | 300 |
| 岡山大学教育学部附属中学校 | 岡山県 | 体感型常設展示と授業を連動して主体的に探究する能力を高める　～中学校地球領域の新たな視点の獲得を通して～ | 300 |
| 広島市立戸山小学校 | 広島県 | 小・中連携による大雨洪水・土砂災害の危険予測学習に重点を置いた教育プログラム　～防災教育を通じて科学への関心を高める実践の工夫　～ | 297 |
| 広島市立中広中学校 | 広島県 | 中広中学校区内の環境調査の実施と、調査結果を使った身近な環境の教材化　～太田川流域の水質調査と環境放射線について～ | 300 |
| 広島県立広島国泰寺高等学校 | 広島県 | ヨコエビの植物繊維を分解するセルラーゼ獲得の進化を探る | 300 |
| 広島県立祇園北高等学校 | 広島県 | 研究や研究発表をとおして将来研究者になりたいと考える生徒を増やす取組み　～博物館や大学などと連携して行う科学研究～ | 300 |
| 山口県立小野田工業高等学校 | 山口県 | 「高校生と小学生が一緒に考える」出前実験実習による学びあい学習 | 300 |
| 山口県立萩商工高等学校 | 山口県 | ウインターイルミネーションの製作を通した情報技術や電気実習の発展学習 | 300 |

（単位：千円）

| 学校名 | 都道府県 | 申請題目 | 助成額 |
|---|---|---|---|
| 徳島県立城北高等学校 | 徳島県 | サイエンス部生徒課題研究の充実 | 300 |
| 福岡県立八女高等学校 | 福岡県 | 絶滅危惧種アサザの生育に関する土壌調査 | 300 |
| 佐賀県立佐賀商業高等学校 | 佐賀県 | 体験を重視する学びによる科学への興味・関心を高める取り組み | 300 |
| 鹿児島市立甲東中学校 | 鹿児島県 | 中学理科の授業に使える理科模型の開発及び活用方法の研究 | 300 |
| 三島村立片泊中学校 | 鹿児島県 | 離島における貴重な生物の研究と最先端のテクノロジーを取り入れた授業の開発 | 300 |
| 希望が丘学園鳳凰高等学校 | 鹿児島県 | サイエンスクラブの活動での主体的な学びを通した，生徒の「生きる力」の育成 | 300 |

小計　56件　16,608千円

プログラム助成（初年度）

（単位：千円）

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目 | 助成額 |
|---|---|---|---|---|
| 宮城県富谷高等学校 | 宮城県 | 富谷市教育委員会<br>富谷市立富谷小学校<br>富谷市立富ヶ丘小学校<br>富谷市立東向陽台小学校<br>富谷市立あけの平小学校<br>富谷市立日吉台小学校<br>富谷市立成田東小学校<br>富谷市立成田小学校<br>富谷市立明石台小学校 | 地域特産物ブルーベリーの研究と高校生による小学生向け科学教室 | 999 |
| 宮城教育大学 | 宮城県 | 仙台市教育委員会<br>（今年度実施例・仙台市立大沢小学校・仙台市立西多賀中学校。新年度の6月に決定する） | 子供達の理科の弱点を補強するためのチャレンジングな指導法改善の支援 | 1,000 |
| 山形大学 | 山形県 | 山形県教育庁<br>山形県教育センター<br>山形市教育委員会<br>山形県立博物館<br>山形県立産業科学館<br>鶴岡市立加茂水族館 | ヤマガタサイエンスアカデミーでの人材育成の指導法の研究とネットワーク化 | 1,000 |
| 茨城工業高等専門学校 | 茨城県 | 茨城県立土浦第三高等学校<br>茨城県立水戸特別支援学校<br>茨城県立下妻特別支援学校<br>福島県立安積黎明高等学校<br>福島県立新地高等学校<br>鳥取大学<br>藁谷製作所<br>日本原子力機構 | 車いす仕様ナスミス望遠鏡自動追尾化による特別支援学校と普通校の交流～茨城から福島へ～ | 1,000 |
| 埼玉県立越谷北高等学校 | 埼玉県 | 埼玉県総合教育センター<br>埼玉県立川越女子高等学校<br>埼玉県立飯能高等学校<br>埼玉県立所沢西高等学校<br>埼玉県立所沢高等学校<br>埼玉県立浦和高等学校<br>埼玉県立越ヶ谷高等学校<br>埼玉県立熊谷西高等学校<br>埼玉県立坂戸西高等学校<br>海城中学高等学校<br>早稲田大学人間科学学術院<br>日本獣医生命科学大学獣医学部<br>埼玉県絶滅危惧動物種調査団<br>埼玉県環境科学国際センター | 外来生物研究ネットワークによる、埼玉県内外での外来生物の生息実態調査、ならびに高校生によるシンポジウム開催・県内の他の外来生物についての研修ならびに調査 | 1,000 |

（単位：千円）

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目 | 助成額 |
|---|---|---|---|---|
| 能登町立小木中学校 | 石川県 | 能登町教育委員会事務局<br>金沢大学環日本海域環境研究センター臨海実験施設<br>石川県立能登少年自然の家<br>のと海洋ふれあいセンター<br>一般社団法人能登里海教育研究所<br>能登町立中学校（3校）<br>能登町立小学校（5校） | 九十九湾海洋教育推進プログラム | 1,000 |
| 三重県立神戸高等学校 | 三重県 | 鈴鹿市立神戸小学校<br>鈴鹿市立神戸中学校<br>鈴鹿市内各中学校（10校）<br>鈴鹿医療科学大学<br>三重大学<br>国際環境情報移転センター<br>三重環境学習情報センター<br>（株）万協製薬<br>（株）ホンダ技研工業 | 小中高大産をつなぐ理数・科学教育 | 985 |
| 京都ノートルダム女子大学 | 京都府 | ノートルダム学院小学校<br>京都市立洛央小学校<br>京都市立葵小学校<br>京都市葵児童館 | 地域連携型科学遊びプログラム「自然と遊ぼう！」の開発・実施 | 893 |
| 大阪府立堺工科高等学校 定時制の課程 | 大阪府 | プール学院大学・短期大学<br>堺市立美原中学校<br>堺市立熊野小学校 | 廃油発電によるエコ・プロジェクト | 850 |

（単位：千円）

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目 | 助成額 |
|---|---|---|---|---|
| 香川県立三本松高等学校 | 香川県 | 高知県立高知小津高等学校<br>兵庫県立神戸高等学校<br>京都府立桃山高等学校<br>奈良県立奈良高等学校<br>石川県立金沢泉丘高等学校<br>静岡県立磐田南高等学校<br>愛知県立一宮高等学校<br>高知工科大学 システム工学群<br>東京学芸大学 教育学部 | 可聴音による落雷位置の調査及び落雷位置とスプライト発生位置との関係を探る | 1,000 |
| 香川県立香川中央高等学校 | 香川県 | 高松市立大野小学校 | ホタルの生息地の環境調査および保存活動 | 750 |
| 福岡工業大学附属城東高等学校 | 福岡県 | 宗像市立大島小学校<br>宗像市立大島中学校<br>福岡市立志賀中学校<br>新宮町立相島小学校<br>新宮町立新宮中学校相島分校<br>福岡工業大学工学部生命環境学科<br>九州大学 農学部 | 玄界マリンフロンティアプロジェクト | 1,000 |
| 大牟田市立吉野小学校 | 福岡県 | 大牟田市立駛馬南小学校<br>大牟田市立駛馬北小学校<br>大牟田市立明治小学校<br>大牟田市立中友小学校 | 未来へつなぐ大牟田の川と有明海の海洋プロジェクト | 1,000 |
| 長崎県立宇久高等学校 | 長崎県 | 佐世保市立宇久小学校<br>佐世保市立宇久中学校<br>長崎大学教育学部<br>鹿児島大学理学部 | ふるさとの島を4D計測 ～宇久ストリートビューの製作～ | 1,000 |

小計　14件　13,477千円

意欲的な小学校の先生方を支援するプログラム助成（初年度）

（単位：千円）

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目 | 助成額 |
|---|---|---|---|---|
| 岐阜県養老町立養北小学校 | 岐阜県 | ロンドン大学<br>養老町小中理科教育研究会<br>（養老小学校、広幡小学校、上多度小学校、池辺小学校、笠郷小学校、養北小学校、日吉小学校、高田中学校、東部中学校） | ローカル・グローバル情報を活用した理科授業のあり方～地学分野における児童の科学的思考力を育てる～ | 956 |
| 三島市教育研究会小学校理科部 | 静岡県 | 三島市教育研究会<br>（三島市内全小学校14校） | チーム三島理科教育向上計画～理科好きな先生の育成が理科教育を変える | 1,000 |
| 滋賀 CST 研究会 | 滋賀県 | 滋賀 CST 研究会<br>（彦根市立鳥居本小学校、彦根市立城西小学校、草津市立矢倉小学校、大津市立瀬田小学校、大津市立瀬田中学校、東近江市立箕作小学校）<br>滋賀大学<br>滋賀県教育委員会<br>滋賀県内各市教育委員会 | 滋賀の理科教育推進プログラム～小学校教員の理科の指導力向上を求めて～ | 1,000 |
| 同志社小学校 | 京都府 | 京都市立岩倉南小学校<br>京都水族館 | 岩倉川を中心とした里山の自然を学ぶ理科プログラムの研究 | 730 |
| 愛媛大学教育学部 | 愛媛県 | 愛媛県教育委員会（義務教育課・愛媛県総合教育センター）<br>松山市教育委員会（松山市教育研修センター）<br>愛媛県立総合科学博物館<br>愛媛県立とべ動物園<br>松山市立生石小学校<br>松山自然科学教室<br>面河山岳博物館 | 科学系社会教育施設を活用できる小学校教員の育成と支援 | 990 |
| 四国中央市理科同好会 | 愛媛県 | 愛媛県四国中央市全小・中学校<br>愛媛大学教育学部<br>東北大学大学院生命科学科 | 教員の指導力向上と理科教育の振興 | 350 |

小計　　6 件　　5,026千円

プログラム助成（2年目）

（単位：千円）

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目名 | 助成額 |
|---|---|---|---|---|
| 宮城県石巻工業高等学校 | 宮城県 | 石巻管内（石巻市、東松島市、女川町）教育委員会管轄の小中学校 | 河川の災害に対して自分たちができることを考える　～防災を通して科学のおもしろさを理解する取組～ | 997 |
| 宮城県仙台第一高等学校 | 宮城県 | 宮城県岩ヶ崎高等学校<br>宮城県古川黎明高等学校<br>宮城県利府高等学校<br>仙台城南高等学校<br>宮城教育大学<br>仙台市八木山動物公園<br>仙台市科学館 | 宮城県内に生息するメダカのルーツを探る－高校生による高校生のための分子生物学特講－ | 1,000 |
| 宮城県仙台二華中学校・高等学校 | 宮城県 | 東北工業大学工学部<br>東北大学大学院工学研究科<br>東北大学大学院環境科学研究科<br>東北大学大学院情報科学研究科<br>仙台市立連坊小路小学校 | 日本の水問題に関する調査研究 | 1,000 |
| 秋田県立大曲農業高等学校 | 秋田県 | 立命館大学<br>信州大学<br>秋田大学<br>仙北市立生保内小学校<br>仙北市立桧木内小学校 | 電気分解による田沢湖の中性化がもたらす生態系への影響の調査 | 1,000 |
| 秋田大学　教育文化学部 | 秋田県 | 秋田大学国際資源学部<br>関東学園大学経済学部<br>城西大学理学部<br>東洋大学経済学部<br>海洋研究開発機構 | 「フューチャー・アース」世代育成のための地球科学教育プログラムの開発，実践と成果 | 966 |
| 山形県立米沢興譲館高等学校 | 山形県 | 山形大学<br>東北大学大学院<br>山形県教育委員会<br>山形県高等学校文化連盟科学専門部<br>米沢市内の全中学校、高等学校 | 小中高大・医を工学と医療で繋ぐサイエンス・ネットワーク構築 | 1,000 |

（単位：千円）

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目名 | 助成額 |
|---|---|---|---|---|
| 山形大学大学院<br>教育実践研究科 | 山形県 | 山形大学地域教育文化学部<br>山形市教育委員会総合学習センター | 科学技術イノベーション人材を育成するための STEM 教育プログラムの開発 | 1,000,000 |
| 福島県立福島高等学校 | 福島県 | ケンブリッジ大学<br>ﾕﾆﾊﾞｰｼﾃｨ・ｶﾚｯｼﾞ・ﾛﾝﾄﾞﾝ<br>クリフトン科学トラスト<br>County Upper School<br>St Mary Redcliffe and Temple School<br>Newham Collegiate School<br>Thomas Hardy School<br>Merchants' Academy<br>Hinchley Wood School<br>Seven Kings High School<br>立教英国学院<br>福島県立相馬高等学校<br>福島県立磐城高等学校<br>宮城県古川黎明高等学校<br>宮城県仙台第一高等学校<br>宮城県仙台第二高等学校<br>山形県立鶴岡南高等学校<br>山形県立米沢興譲館高等学校<br>立教池袋高等学校 | 日英サイエンスワークショップの実施 | 1,000,000 |
| 福島成蹊高等学校 | 福島県 | 地元の小学校 | 微小生物を活用した高校生（自然科学部員）による理科実践～自分たちで採集した微小生物を使った観察教室～ | 0 |
| 和洋国府台女子中学校高等学校 | 千葉県 | 千葉県市川市近隣の小学校<br>（本校講座に参加希望をしていただいた小学校）<br>大東文化大学スポーツ・健康科学部 | 小学生対象実験講座「放課後　Science Team」の企画・運営 | 1,000,000 |

（単位：千円）

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目名 | 助成額 |
|---|---|---|---|---|
| 東京都立戸山高等学校 | 東京都 | 東京大学海洋教育推進研究センター<br>新宿区立富久小学校 | 生徒の主体的な活動の場としての実験観察体験における小中高大連携のチームの編成とカリキュラムの開発 | 950 |
| 台東区立忍岡小学校 | 東京都 | 台東区立上野中学校 | わたしたちの海について知ろう！学ぼう！体験しよう！ | 925 |
| 岐阜県立八百津高等学校 | 岐阜県 | 岐阜大学応用生物科学部<br>岐阜県立加茂高等学校 | 静かなる侵入者アルゼンチンアリ～分布拡大への考察と行動学的研究～ | 0 |
| 静岡科学館 | 静岡県 | 静岡サイエンスミュージアム研究会<br>静岡市教育委員会<br>特定非営利法人体験科学教育研究所（リアルサイエンス）<br>静岡大学 | 理科授業のアクティブラーニングを支援する教材プログラムの開発と活用 | 1,000 |
| 星陵中学校・高等学校 | 静岡県 | 静岡北中学校・高等学校または地域の小中学校<br>静岡理工科大学<br>東北大学 | 次世代型「環（わ）」の文化の提案 | 1,000 |
| 愛知教育大学 | 愛知県 | 富山県立富山視覚総合支援学校<br>石川県立盲学校<br>静岡県立静岡視覚特別支援学校<br>静岡県立沼津視覚特別支援学校<br>静岡県立浜松視覚特別支援学校<br>愛知県立名古屋盲学校<br>愛知県立岡崎盲学校<br>岐阜県立岐阜盲学校<br>三重県立盲学校<br>日本福祉大学<br>岐阜大学<br>愛知県総合教育センター | 視覚障害のある児童生徒に対する科学教育プログラム「科学へジャンプ・イン・東海（仮称）」の企画、実施と評価 | 1,000 |

（単位：千円）

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目名 | 申請額 |
|---|---|---|---|---|
| 滋賀県立高島高等学校 | 滋賀県 | 高島市立マキノ中学校<br>高島市立今津中学校<br>滋賀県立大学 環境科学部<br>滋賀県 農政水産部 水産課 | 源流域と琵琶湖をつなぐ流域環境の探究―奥山・里山・里湖― | 1,000 |
| 同志社中学校 | 京都府 | 福井大学教育学部<br>桃山学院中学校<br>香港大学付属王錦中小学校<br>台湾 淡江高級中学<br>韓国 徳寿中学校 | アジアを中心とした科学技術キャンプの実施と発展 | 826 |
| たつの市立揖保川中学校 | 兵庫県 | たつの市教育委員会<br>兵庫県立龍野高等学校<br>兵庫県立龍野北高等学校<br>たつの市青少年館こどもサイエンスひろば | 中高生が教える小学生のためのかがく教室 | 1,000 |
| 島根県立益田高等学校 | 島根県 | 益田市教育委員会<br>NPO法人ガリレオ工房<br>益田市立益田小学校<br>益田市立吉田小学校<br>益田市立高津小学校<br>益田市立吉田南小学校<br>益田市立安田小学校<br>益田市立鎌手小学校<br>益田市立真砂小学校<br>益田市立豊川小学校<br>益田市立西益田小学校<br>益田市立桂平小学校<br>益田市立戸田小学校<br>益田市立中西小学校<br>益田市立東仙道小学校<br>益田市立都茂小学校<br>益田市立匹見小学校<br>益田市立道川小学校 | 益田市（益田市周辺）の全ての小学校へのアウトリーチ活動「出前実験」・「理科読を楽しむ会」 | 1,000 |
| 山口県立下関工科高等学校 | 山口県 | 山口県立下関中央工業高等学校<br>山口県立下関工業高等学校<br>山口大学大学院 | 高校生による地域に科学の楽しさを伝える活動 | 620 |

（単位：千円）

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目名 | 申請額 |
|---|---|---|---|---|
| 高等教育コンソーシアム久留米 | 福岡県 | 久留米大学<br>久留米工業大学<br>聖マリア学院大学<br>久留米信愛女学院短期大学<br>久留米工業高等専門学校<br>福岡県立青少年科学館<br>久留米からくり振興会<br>株式会社ブリヂストン<br>久留米絣組合<br>久留米市教育委員会<br>高良大社<br>福岡県下及び熊本の各中学校<br>福岡県立明善高等学校<br>久留米大学附設高等学校<br>八女学院高等学校<br>福岡工業大学附属城東高等学校<br>東海大学付属福岡高等学校<br>上智福岡中学高等学校<br>熊本県立第二高等学校 | くるめ子どもキャンパス　ー出前授業や講座とサイエンスイベントで見て・考え・体験してみようー | 995 |
| 北九州工業高等専門学校 | 福岡県 | 北九州市児童文化科学館<br>北九州市立志井小学校<br>北九州市立花尾小学校<br>北九州市立黒崎中央小学校 | 小学生への理科教育を通じた理系キャリア教育（特に女子生徒にむけて） | 522 |
| 熊本県高等学校教育研究会地学部会 | 熊本県 | 熊本県立熊本北高等学校<br>熊本県立熊本西高等学校<br>熊本県立菊池高等学校<br>熊本県立八代高等学校<br>熊本県立第一高等学校<br>熊本県立大津高等学校 | 高校生アースサイエンスセミナー～大学や博物館等と連携したジオパークでのフィールドワークと成果発表の取組～ | 622 |
| 熊本高等専門学校 | 熊本県 | 沖縄工業高等専門学校<br>鹿児島工業高等専門学校<br>都城工業高等専門学校<br>有明工業高等専門学校<br>大分工業高等専門学校<br>佐世保工業高等専門学校<br>久留米工業高等専門学校<br>北九州工業高等専門学校 | 高専生による「小・中学校向け理科教育支援」～高専サイエンス支援ネットを利用したアイデア募集と実施～ | 930 |

（単位：千円）

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目名 | 申請額 |
|---|---|---|---|---|
| 南さつま市立　坊津学園 | 鹿児島県 | 東京大学海洋アライアンス海洋教育促進研究センター<br>鹿児島大学教育学部<br>鹿児島県立鹿児島水産高等学校<br>希望が丘学園鳳凰高等学校<br>タツノオトシゴハウス<br>鹿児島水圏生物研究所<br>南さつま市農林水産課<br>坊津歴史資料センター<br>川辺地区理科研究協議会 | 科学的探求心を持ち，問題解決力を高め，未来を切り拓く児童生徒の育成 | 1,000 |

小計　　26件　　22,352千円

意欲的な小学校の先生方を支援するプログラム助成 （2年目）

（単位：千円）

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目名 | 申請額 |
|---|---|---|---|---|
| 新宿区立富久小学校 | 東京都 | 東京大学<br>新宿区立余丁町小学校<br>新宿区立落合第四小学校<br>新宿区立四谷第六小学校<br>新宿区立天神小学校 | 都心部の小学校に通う児童の科学的な見方や考え方を育む小学校連携 | 990 |
| 京都市野外教育研究会 | 京都府 | 京都市小学校教員 | 京都市野外教育研究会　自然観察プログラムおよび野外教育活動 | 675 |
| 兵庫県立尼崎北高等学校 | 兵庫県 | 尼崎市教育委員会（市内小中学校）<br>兵庫県教育委員会（県内公立高等学校）<br>尼崎市（公民館ほか）<br>青少年のための科学の祭典実行委員会 | ものづくり都市の子ども達と科学するペーパークラフト | 700 |
| 兵庫県立西脇高等学校 | 兵庫県 | 神戸大学人間発達環境学研究科<br>西脇市立重春小学校<br>たつの市立御津小学校<br>西脇市内のすべての小学校<br>たつの市内のすべての小学校 | 西脇高校の生徒と近隣地域の小学校教員が共同で野外調査書や実験書を作成し授業を実施 | 1,000 |
| 安芸太田町教育委員会 | 広島県 | 新しい学びプロジェクト（参加21団体）<br>東京大学 CoREF<br>日本技術士会中国本部<br>安芸太田町立加計小学校<br>安芸太田町立筒賀小学校<br>安芸太田町立上殿小学校<br>安芸太田町立戸河内小学校<br>安芸太田町立加計中学校<br>安芸太田町立筒賀中学校<br>安芸太田町立戸河内中学校<br>広島県立加計高等学校 | アクティブ・ラーニングによる主体的・協調的に学ぶ科学教育プログラム | 722 |

（単位：千円）

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目名 | 申請額 |
|---|---|---|---|---|
| 飯塚市立図書館 | 福岡県 | 福岡大学理学部物理科学科<br>福岡県立嘉穂高等学校<br>福岡県立嘉穂高等学校附属中学校<br>飯塚市の小中学校<br>飯塚市立潤野小学校<br>飯塚市立小中一貫校頴田校、他 | 公立図書館が地域で展開する新形式の読み聞かせ－「理科読」への挑戦（Ⅱ） | 700 |

小計　6件　4,787千円

# 平成 29 年度贈呈式

平成 30 年 2 月 16 日（金）
於　マンダリンオリエンタル東京

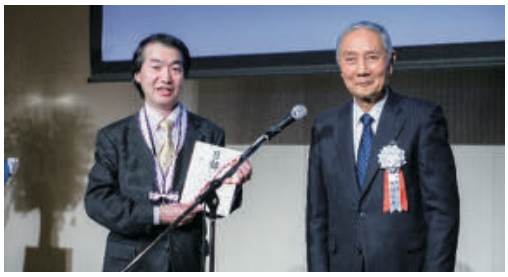
### 主催者挨拶

輕部理事長

### 審査報告

梶谷審査委員長

### 贈呈書の授与



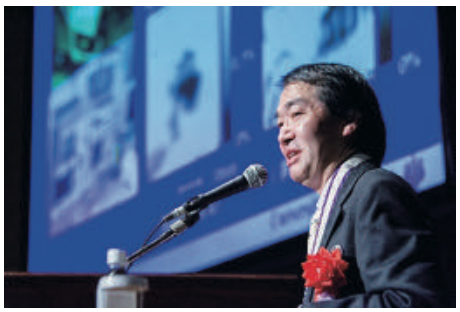
中谷賞大賞　椎名氏

中谷賞大賞　松田氏

### 集合写真

受賞者・受領者の皆さん

### 中谷賞受賞者のご挨拶とご講演



中谷賞大賞　椎名氏

中谷賞大賞　松田氏

## 平成 27 年度特別研究助成の成果発表

金城氏

松田氏

齊藤氏

矢冨氏

佐藤氏

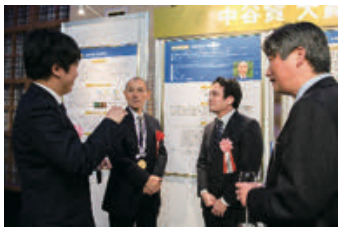
上田氏

藤田氏

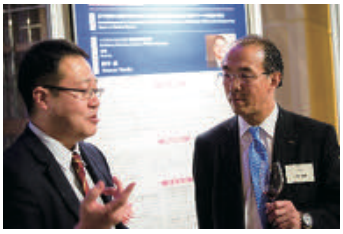
## 情報交換会・懇親会

ご挨拶　輕部理事長

乾杯のご発声　浅野理事



歓談風景



歓談風景

中締めご挨拶　家次専務理事

# 平成 29 年度トピックス

## 平成 29 年度トピックス　長期大型研究助成

### 長期大型研究助成を新設、第 1 回助成を開始　－「医学物理・医工計測グローバル拠点」を京都大学に設立－

平成 29 年 7 月の内閣府による事業認定を受け、「長期大型研究助成」を新設しました。これは他の研究助成とは一線を画し、新たな研究部門を立ち上げて既存の枠を超えた先進的・融合的な研究を行うため、5 年間で総額 3 億円を助成するというものです。

公募の結果、第 1 回はハイデルベルク大学(独)の田中(求)教授による京都大学高等研究院への「医学物理・医工計測グローバル拠点」設立が採択され、平成 30 年 1 月に京都大学と共同記者会見を行いました。4 月には海外の共同研究者の参画も得て京都大学にてキックオフ・シンポジウムが開催され、今後の研究に対する熱意と関係者の期待が熱く語られました。

記者会見に臨んだ京都大学と財団の関係者
（中央左が田中(求)教授、同右が山極総長）

京都大学高等研究院にてキックオフ・シンポジウムを開催

## 平成 29 年度トピックス　大学院生奨学金給付

### 大学院生奨学金（給付型）事業を開始　－奨学生 1 期生 7 名を決定、奨学生認定証授与式を実施－

平成 29 年 7 月の内閣府による事業認定を受け、大学院生を対象にした給付型奨学金事業を平成 29 年度より開始しました。この奨学金は、医工計測技術および関連分野で博士号の取得を目指す大学院生または大学院入学を予定している方に、博士前期課程は月額 10 万円、博士後期課程は月額 15 万円、最長で 5 年間（後期課程が 4 年の場合は 6 年間）奨学金を給付するものです。

9 月より募集を開始し、審査委員会による書面審査、面接審査を経て、理事会で承認された奨学生 7 名に対し、輕部理事長より奨学生認定証を授与しました。第 1 期生は、医学系、医工学系、理学系、情報系、生物系など、幅広い分野の学生が選ばれました。今後も財団は継続した奨学支援を行い、奨学生が研究者として成長され、研究成果を上げられることを期待しています。

（なお、平成 30 年度から、募集は毎年春（4 月～）となります。）

輕部理事長より認定証を贈呈

奨学生 1 期生と輕部理事長

## 平成 29 年度トピックス　科学教育振興助成

### 初めての成果発表会を開催

児童・生徒に取り組んできた研究成果を発表する機会の提供及び担当の先生方の情報交換の場を設け、児童・生徒のモチベーションアップと本助成終了後も活動を継続頂く助けとなるように、助成校(機関)の成果発表会を西日本及び東日本地域でそれぞれ開催、計 322 名の参加があり、活発で盛況な発表会となりました。このような成果発表会の場は、当財団の事業としては初めての試みでしたが、終了後のアンケートにも感謝と肯定的な意見を多数いただき、当初の目的を充分果たせたと確信しています。
各大会の詳細は以下の通り。

[ 西日本大会 ]

① 日時： 2017 年 12 月 23 日（土・祝） 13:00～17:30
② 場所： 広島国際会議場（広島市中区）
③ 特別講演: 越智光夫 氏（広島大学学長）

[ 東日本大会 ]

① 日時： 2017 年 12 月 26 日（火） 13:00～17:30
② 場所： コクヨホール（東京都品川区）
③ 特別講演： 山崎直子 氏（宇宙飛行士）

成果発表会を開催

文部科学省からの後援もいただき、助成校からも高く評価される助成事業として次年度以降も益々の充実を図っていきます。

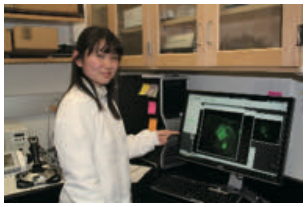
### 日経サイエンス広告大賞を受賞

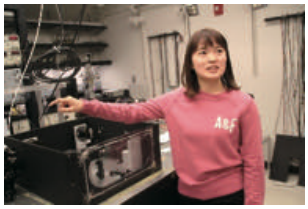
科学教育振興助成の助成先の活動を毎月 1 校取り上げ、日経サイエンス誌面にて紹介を行なって来ました。助成先の児童・生徒は自分達の活動が誌面で紹介される事で、モチベーションアップとなっています。
その広告に対してこの度、過去 62 回で公益財団法人として初となる「日経サイエンス広告大賞」を受賞しました。

## 平成 29 年度トピックス　国際学生交流プログラム

### 国際学生交流プログラム春季短期留学を 2017 年より新たに開始　－アドバンストプログラムのご紹介－

夏季インターンシップ（Nakatani RIES)の修了者が習得したスキル・経験に基づき、より本格的な研究活動を体験する機会として、翌春季休暇に米国大学に短期留学する「アドバンストプログラム」を 2017 年より開始しました。今年は Yale 大、Georgia 工科大、UCDavis 校の研究室に東工大 3 年生 1 名、東大 3 年生 2 名が約 2 ヵ月間滞在し、研究を行いました。帰国後の成果報告会ではコメンテータの先生より「学部学生の成果とは思えない、優秀な学生が恵まれた環境で研究を行った成果」との評価を頂きました。学生達も自らの意思・責任で色々な事にチャレンジし、今後に役立つ貴重な経験ができたと満足をしています。グローバルに活躍する研究者育成の為、今後ともより充実したプログラムに育てていきます。


UC Davis 校にて


Yale 大にて

Georgia 工科大にて

帰国後の成果報告会

# 平成 28 年度(第 9 回)及び平成 29 年度(第 10 回)
# 中谷賞研究概要

## 平成 28 年度（第 9 回）
## 中谷賞　研究概要

**大賞**

生体の多階層の計測データを統合し新たな情報を生み出す心臓シミュレータ“UT-Heart”の開発

（東京大学大学院新領域創成科学研究科　元特任教授　杉浦　清了）

**奨励賞**

マイクロ流体デバイス技術を利用した膜タンパク質センサの開発

（東京大学生産技術研究所　教授　竹内　昌治）

ECoG/MEG-BMI 義手による重度麻痺患者の運動機能再建と幻肢痛治療への応用

（大阪大学高等共創研究院　教授　柳澤　琢史）

## 平成 29 年度（第 10 回）
## 中谷賞　研究概要

**大賞**

組織性状・機能情報の新規イメージング技術の先駆的研究と超音波エラストグラフィの開発

（京都大学大学院医学研究科　教授　椎名　毅）

細胞内情報伝達分子の活性を生きた動物で可視化する技術の開発

（京都大学生命科学研究科生体制御学分野　教授　松田　道行）

注意　所属等は助成研究実施時または執筆された当時のものです。

# 平成 28 年度（第 9 回）
# 中　谷　賞　研　究　概　要

## 生体の多階層の計測データを統合し新たな情報を生み出す心臓シミュレータ “UT-Heart”の開発

東京大学大学院新領域創成科学研究科
元特任教授
株式会社 UT-Heart 研究所　取締役
杉浦　清了

### １．はじめに

二十世紀後半に始まった分子・細胞生物学の進歩発展は様々な疾患の原因を分子レベルで明らかにしてきた。要素還元主義とも言われるこうしたアプローチは心臓を中心にした循環器の領域においても多くの知見を生んできたが、一方で未解決の問題が残されていることも事実である。細胞・分子・遺伝子レベルでの研究が生理学的計測を含め、精力的に進められた結果、我々は現在膨大な知識を手にしているが、臓器レベルの機能との関係が必ずしも明確でないものも多い。特に心臓の機能は電気生理現象、力学現象および生化学現象がミクロからマクロにいたる全てのレベルで複雑に連関した結果として生じるものであるため、このような要素還元型の研究と統合型の研究を組み合わせて初めて理解できるものである。

統合の中心になるのはコンピュータシミュレーションであるが実際に循環器領域においては早くから数値シミュレーションの応用が行われてきた。しかし従来のシミュレーションはほとんどがイオンチャネル機能などの分子レベル、血圧ー血流関係などの臓器レベルといった単一のレベルの現象をあつかうものに留まっており、臨床への応用は限られたものであった。従ってミクロ（基礎医学）からマクロ（臨床データ）までの測定結果、知見を統合した心臓シミュレータが開発できれば、基礎研究の成果と臨床研究を結び付けることで病態の解明に役立つだけでなく、臨床応用を初めとする幅広い成果が期待され、世界中で研究が進められてきた [1)]。

我々の研究チームは 2001 年からこのような条件を満たすマルチスケール・マルチフィジックス心臓シミュレータの開発を開始し、現在世界で最も本物に近い心臓シミュレータ(UT-Heart)を完成している [2)]。私自身、これに先立って多階層における心臓力学の実験研究を行ってきたが、要素の単純な結合では心臓機能の理解には結びつかないことをシミュレータ開発の過程で再認識している。以下の項ではそのような実例に基づいて統合の意義を示した後、臨床を含めた応用について紹介する。

### ２．マルチスケール・マルチフィジックス心臓シミュレータ UT-Heart

UT-Heart は有限要素法に基づくヒト心臓モデルであり、その形状は実際に撮影されたマルチスライス心臓 CT または MRI 画像から三次元再構成している。心臓モデルは電気生理現象の解析用

には 2000 万個以上のボクセルメッシュに、力学解析用には60万個以上の四面体要素に分割され、それぞれにイオンチャネルや収縮タンパクなどの機能分子の数理モデルから構成される心筋細胞モデルが組み込まれている。それぞれの細胞の配向（線維方向）や局所的なグループ構造（シート構造）といった心筋組織構造に加え、刺激伝導系、弁および動静脈に微小循環を加えた冠循環系も再現され、臨床における多様な問題の解決に対応できる。また心臓の中の血液も流体要素としてモデル化され、心筋組織（構造）と強連成によって解析される。右心房上部に位置するペースメーカー部位から発生した興奮は、順次隣接した細胞に伝播し心室に至ると刺激伝導系を伝わって速やかに心室全体に広がる。興奮した細胞内ではカルシウム濃度の上昇と下降に伴って収縮タンパクの相互作用が制御され周期的な力の発生が細胞の収縮弛緩を引き起こす。この結果心臓の収縮と弛緩に伴う血液の駆出と流入が繰り返される。UT-Heart はこの全ての過程を忠実に再現するだけでなく、同時に作製されたヒトの上半身有限要素法モデル（トルソ）を組み合わせて計算を行うことで、心臓の興奮に伴って生じる体表面電位分布から実際と同様の 12 誘導心電図までを出力する。すなわち心臓シミュレータは計測された情報と知識を統合することで、新たな情報を生み出すばかりか予測までをも可能とするシステムである[3)-7)]。（図１）

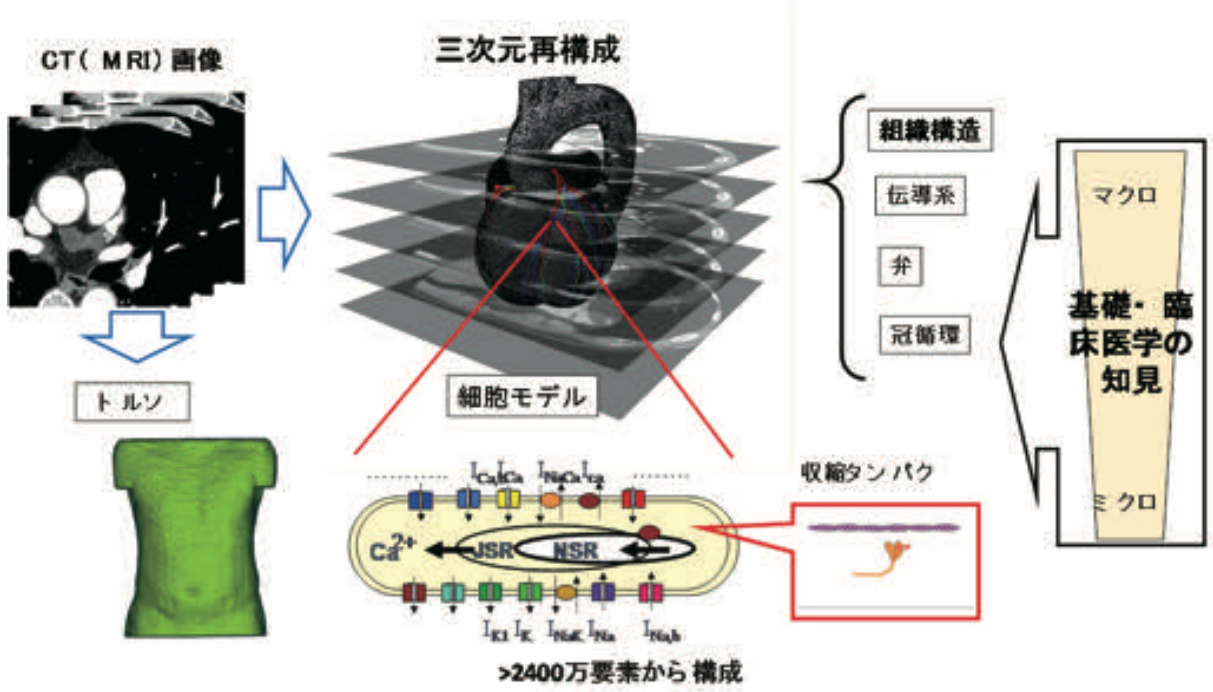



図1　UT-Heart 心臓シミュータ

### ３．心臓力学における要素還元と統合

心臓のポンプとしての機能は壁を構成する筋肉組織の収縮および弛緩に基づいている。組織の収縮は構成要素としての心筋細胞の収縮に、さらに細胞の収縮は細胞内に存在するサルコメアの主要な構成要素である収縮タンパク、ミオシンの活動に支えられている。ポンプ機能を要素還元的に検討する目的に沿って単一心筋細胞の機能測定装置を開発した。これは細胞接着性を持つカーボンファイバーを利用したもので、支持となる太いファイバーと歪ゲージとなる細いファイバーを細胞の両端に固定することで細胞の収縮力を測定することができるだけでなく、負荷を制御することで細胞の心臓の壁の中での活動を再現す

ることも可能となっている（図２A）[8),9)]。測定された単一心筋細胞の発生張力は生理的条件下で働く心臓から推定されるものと近い値であった。さらに蛍光顕微鏡の光学系と指示薬の組み合わせによって膜電位、細胞内カルシウム濃度などの測定を同時に行うことで機械的な刺激からこれらの電気生理学的指標へのフィードバックについての知見を得た[10)-14)]。

分子レベルでの力学はレーザー光ピンセットを用いた測定系で評価した。抽出、精製したミオシン分子をカバーグラスに固定し、その上に蛍光色素で標識したアクチンフィラメントを ATP を含む溶液とともに加えるとアクチン・ミオシン間の相互作用によるアクチンの滑り運動が蛍光顕微鏡下で観察される[15)-17)]。ここでアクチンフィラメントの端に微小なビーズを付着し、それを対物レンズから導入したレーザー光で捕捉することで、力と変位を測定することができる[18)]。１個の心筋ミオシン分子は負荷に反応して力の発生様式を変化させ最大で 2pN 前後の力を発生していることが明らかになった[19)-22)]（図２B）。また細胞性粘菌のミオシン発現系を用いて肥大型心筋症において報告されている変異ミオシンを作製し評価したところ、ヒトにおいて報告されている予後と相関するような機能低下を観察した[23)]。

こうしたミクロの知見を単純に足し合わせるだけの統合ではシステムとしての臓器の機能を理解することはできない。我々のシミュレーションは次のような事実を明らかにしている。

心臓の壁の中では、心筋細胞が規則的に並んでいるが、この並び方（線維方向）によって細胞の機能が同じでも心臓全体としてのポンプ機能は大きく左右される。我々のシミュレーションは自然に備わっている心筋の線維方向が最適なポンプ機能を生み出す構造であることだけでなく、自己組織化によって作り出されている可能性があることを明らかにしている[24),25)]。

心臓の力発生の機能単位であるミオシン分子は各々が独立して働いているのではなく、サルコメアの中で協調して機能を発現していることが実験的に示されている。すなわち個々のミオシン分子の機能を足し合わせるだけでは高次のシステムの機能は予測できない。我々のサルコメアモデルは細いフィラメントと太いフィラメントからなるサルコメアの構造を再現した中でミオシン分子の協調性を再現することに成功し、これが心臓全体の収縮よりむしろ弛緩の機能に大きく影響していることを見出した[6),7)]。

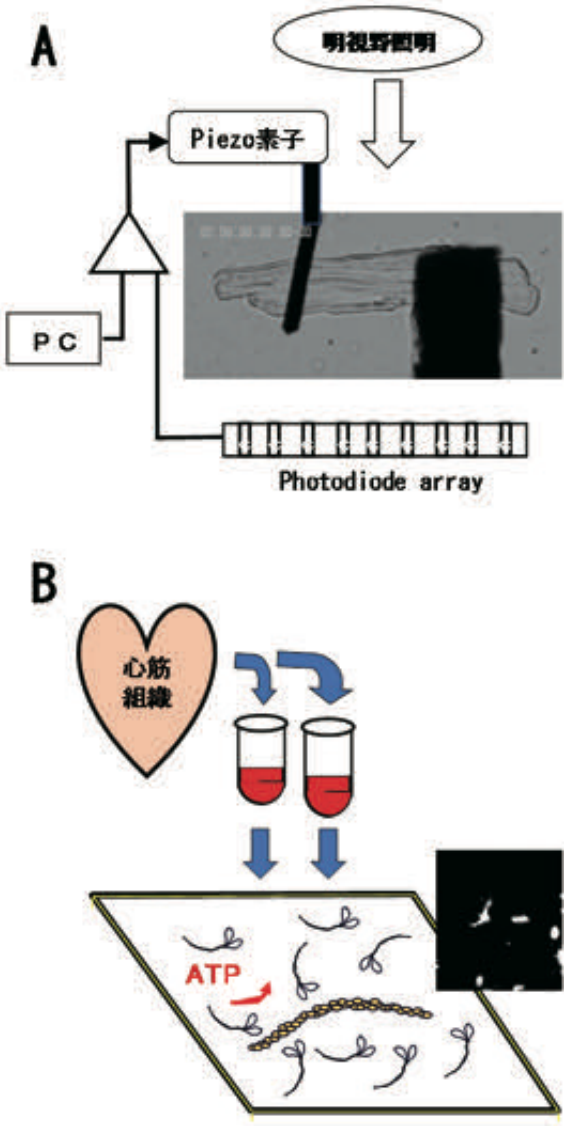



図2　マルチスケール心機能測定

これらは代表的な事例であるが、この他にも要素間、階層間をつなぐ関係が心臓全体の機能を大きく左右している例をインシリコ心臓を開発す

る過程で多数経験している。今後もテクノロジーの進歩によってミクロの知見は集積されていくと思われるが、それらの意味を全体の中で考えるプラットフォームとしてもマルチスケールシミュレーションの意義は大きいと考える。

## 4．臨床応用

現在、心臓シミュレータは基礎研究だけでなく、多方面における応用が進められている。臨床応用は主要な分野であるが、ここで重要となるのが心臓モデルの個別化を実現する技術である。

マルチスケール心臓シミュレータでは分子レベルから臓器レベルまでの全てのレベルで個人の特性を反映させることができる。しかし患者に対する負担、倫理的問題、費用の面から、日常臨床において得られるデータは限られている。我々は、基礎医学の知見を統合することによって作製した標準モデルを基に、日常臨床で得られるデータのみから個別化を行っている。図３に示す例では患者の CT から作製した心臓モデルの興奮伝播様式、細胞の分布を調整することで実際の心電図をシミュレーションによって再現した[26]。実はこのような興奮伝播様式の推定は専門医なら頭の中で行っていることであるが、シミュレータはこれをはるかに高い精度で行い患者の状態を判断（診断）することができる。

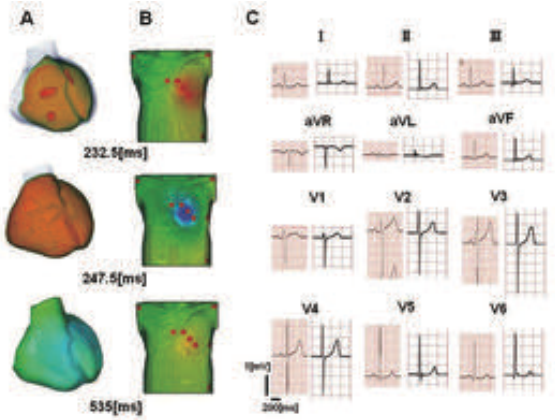



**図3　個別心臓モデルの例**

**A. 興奮伝播　B. 体表面電位分布　C. 患者の心電図（左列）とシミュレーションによる心電図（右列）の比較　文献 26 より引用**

個別心臓シミュレーションの利点は診断にとどまらず、予測までもが可能なことである。実際の医療において試しに治療を行ってみるということは倫理上許されることではないが、シミュレーションでは複数の治療オプションを試して最も効果が得られる方法を選択するということが可能である。このような予測医療の実現には個別モデルが正確であることが大前提であることは言うまでもない。慢性心不全は高齢化社会の大きな健康問題であるが、患者のおよそ 30%に心室内興奮伝導障害が合併していることが報告され、両心室ペーシングが有効な治療法であることが実証されている。一方この高額で侵襲性の高い治療に反応しない例が約 30%存在することも報告されており、治療法の改良とならんで治療効果を予測できる臨床指標の同定が進められている。

我々は伝導障害を伴う心不全に対する両心室ペーシングを用いた心臓再同期療法（Cardiac Resynchronization Therapy: CRT）の効果予測を動物実験[27]および後ろ向き臨床研究で行い、予測能力を実証した[28]。

臨床研究においては CRT の植込みを受けた 9 症例について治療前のデータを基に個別の心臓モデルを作製した。これらの心臓モデルに対して、実際に行われた通りに電極を配置してペーシングのシミュレーションを施行し、治療効果としての心電図および血行動態指標を得た（図４A）。これらを実際の治療効果としての駆出率の変化と比較したところ CRT シミュレーションの効果としての左室圧の微分の最大値の変化（Δdp/dtmax）と良い相関を得た（図４B）[28]。

現在実用化を目指して検討を進めている。

テーラーメード医療の実証としては心臓手術のシミュレーションも行っている。特に先天性心疾患の手術は解剖学的な異常が個人間で大きくまさにテーラーメードなアプローチが要求される分野である。さらにやり直しが許されない手術もシミュレーションでは複数の術式を試した上で、最良の方針を選択することもできるという観

点から、シミュレーションが大きな貢献ができると期待される。

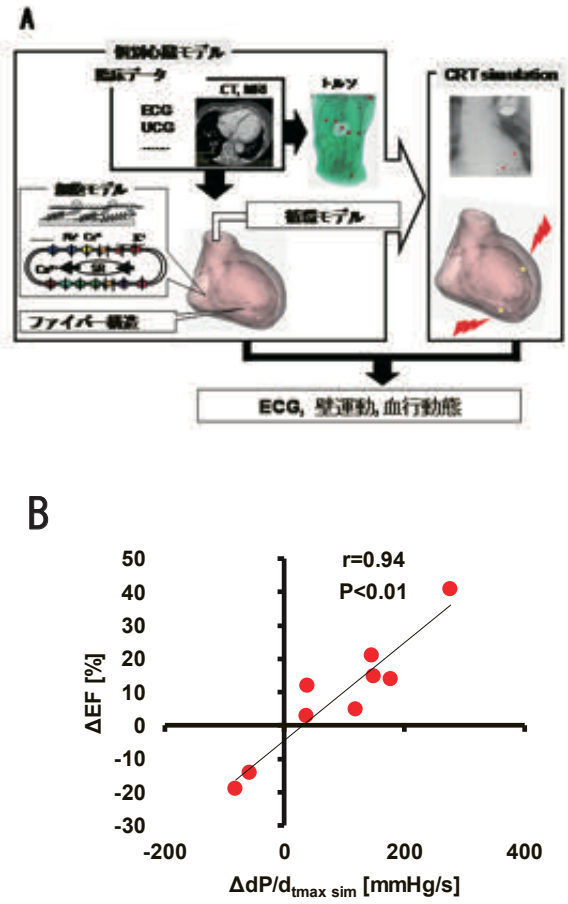



図4　CRT シミュレーション　A.プロトコール
B. シミュレーションによる効果予測（横軸）と実際の効果（縦軸）

## 5．創薬への応用

新薬の開発には候補化合物の同定から市販まで10年の歳月と百億円以上の予算が必要とされ、製薬企業にとっては大きなリスクを伴う事業であるばかりか、このリスクのために画期的な新薬の開発がためらわれるような事態が起きれば社会全体の健康維持にとっても大きな問題である。特に臨床試験など開発の後期における中止（失敗）は大きな損失を生むことになるが、その大きな理由として薬剤の副作用があり、中でも催不整脈性の副作用（心毒性）は大きな割合を占めている。過去に起きた事故の反省から設定された現行のガイドラインは不整脈発生に最も関係があるとされる 1 種類のカリウムチャネルへの阻害作用、および動物実験および臨床試験における心電図の QT 間隔への影響を調べることを全ての薬剤について求めている。このガイドライン施行によって不整脈による事故は防止されたが、有効性が期待される化合物が実際には不整脈を起こさないにも拘わらず厳密な基準の故に創薬パイプラインから除外される例があるとの問題が指摘されるに至っている。

そこでアメリカ食品医薬品局を中心とする規制当局は複数のイオンチャネルに対する影響を測定しその結果をインシリコモデルで統合して評価すること、幹細胞技術を評価に取り入れることを柱とするガイドラインの改訂方針を打ち出している。ここで想定されているインシリコモデルは単一心筋細胞モデルであるが、我々は方針を先取りして UT-Heart による心臓（個体）レベルでの心毒性評価を試みた。

テスト用に不整脈発生リスクの報告されている 12 種類の薬剤を選択した。これらの薬剤について改訂指針に従い不整脈発生に関係すると考えられている 6 種類のイオンチャンネルへの抑制作用をパッチクランプ実験によって評価し、薬剤濃度と抑制効果との関係を得た。このデータに基づき薬剤の様々な血中濃度における心臓の状態をシミュレーションし心電図を得た。図 5 A に 2 つの薬剤についてのシミュレーション結果を示す。薬剤濃度はそれぞれの薬剤の常用量を投与した際の血中濃度に対する比で表示した。左の薬剤は 30 倍の濃度で不整脈を発生したのに対し、右の薬剤は 50 倍とはるかに高い濃度にしても不整脈が観察されなかった。同様の解析を全ての薬剤に行った結果をまとめたものが図 5 B である。棒グラフの上に色分けした数字はリスクのクラスを意味し左へ行くほど不整脈発生のリスクが高い薬剤に分類される。棒グラフは不整脈発生の閾値濃度を表している。高リスク薬では全てにおいて不整脈の発生を確認したが、安全とされる薬剤

（分類 4,5）では常用量をはるかに超える濃度においても全く不整脈が発生しなかった。つまりこのシステムの false positive は 0 であることを意味している[29]。

今後さらに薬剤を増やして検討を進める予定である。

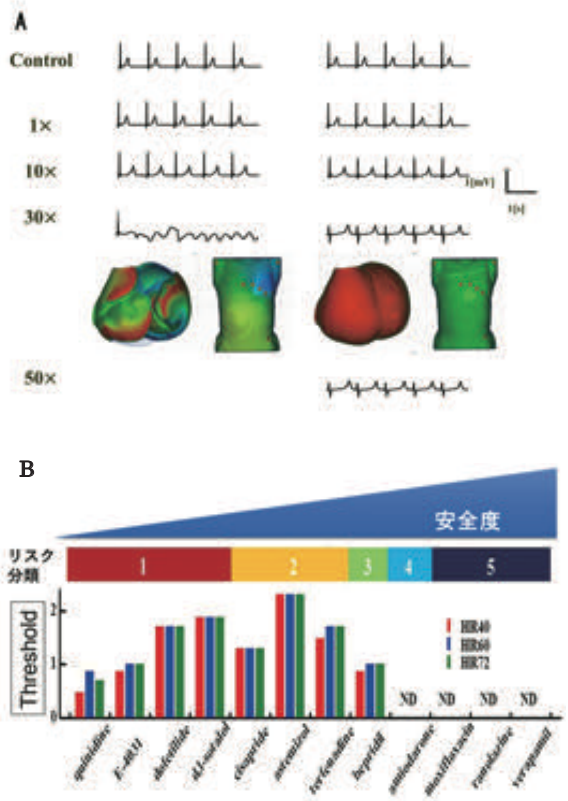



図5 心毒性シミュレーション

A. シミュレーションの例、高リスク薬（左）と安全な薬（右）の比較

B. 薬剤のリスク分類とシミュレーション結果 文献 29 より引用

## 6．まとめ

UT-Heart シミュレーションについてミクロの心機能測定との関係および応用例を紹介した。計算科学とそれを支えるコンピュータハードウエアの進歩によって生体シミュレーションは新しい段階に入った。ミクロからマクロの各領域で新しい計測技術によって得られる膨大な知識を統合するマルチスケール・マルチフィジックス生体シミュレーションは、還元主義的なアプローチと補完することによって生理機能、疾患のメカニズムの理解を深めるだけでなく、新たな発見のためのツールとして基礎医学に貢献する。またテーラーメード心臓モデルを活用した予測医療による臨床医学への応用も期待される。今後さらにモデルの改良を進めていく予定である。

## 参考文献

1) Hunter PJ and Borg TK. Integration from proteins to organs: the Physiome Project. *Nature Rev.* 2003;4:237-243.

2) Sugiura S, Washio T, Hatano A, Okada J, Watanabe H and Hisada T. Multi-scale simulations of cardiac electrophysiology and mechanics using the University of Tokyo heart simulator. *Prog Biophys Mol Biol.* 2012;110:380-389.

3) Watanabe H, Sugiura S and Hisada T. The looped heart does not save energy by maintaining the momentum of blood flowing in the ventricle. *Am J Physiol.* 2008;294:H2191–H2196.

4) Watanabe H, Sugiura S, Kafuku H and Hisada T. Multiphysics simulation of left ventricular filling dynamics using fluid-structure interaction finite element method. *Biophys J.* 2004;87:2074–2085.

5) Washio T, Okada J and Hisada T. A parallel multilevel technique for solving the bidomain equation on a human heart with Purkinje fibers and a torso model. *SIAM Review* 2010;52:717–743.

6) Washio T, Okada J, Sugiura S and Hisada T. Approximation for cooperative interactions of a spatially-detailed cardiac sarcomere model. *Cell Mol Bioeng.* 2011.

7) Washio T, Okada J-I, Takahashi A, Yoneda K, Kadooka Y, Sugiura S and Hisada T. Multiscale heart simulation with cooperative stochastic cross-bridge dynamics and cellular structures.

*SIAM J Multiscale Modeling and Simulation*. 2013;11:965–999.

8) Yasuda S, Sugiura S, Kobayakawa N, Fujita H, Yamashita H, Katoh K, Saeki Y, Kaneko H, Suda Y, Nagai R and Sugi H. A novel method to study contraction characteristics of a single cardiac myocyte using carbon fibers coupled with a feedback system. *Am J Physiol*. 2001;281:H1442-1446.

9) Sugiura S, Nishimura S, Yasuda S, Hosoya Y and Katoh K. Carbon fiber technique for the investigation of single-cell mechanics in intact cardiac myocytes. *Nat Protoc*. 2006;1:1453-1457.

10) Yasuda S, Sugiura S, Yamashita H, Nishimura S, Saeki Y, Momomura S, Katoh K, Nagai R and Sug iH. Unloaded shortening increases the peak of Ca2+ transients but accelerates their decay in rat single cardiac myocytes. *Am J Physiol*. 2003;285:H470-H475.

11) Nishimura S, Kawa iY, Nakajima T, Hosoya Y, Fujita H, Katoh M, Yamashita H, Nagai R and Sugiura S. Membrane potential of rat ventricular myocytes responds to axial stretch in phase, amplitude and speed dependent manners. *Cardiovasc Res*. 2006;72::403-411.

12) Nishimura S, Nagai S, Katoh M, Yamashita H, Saeki Y, J-I. O, Hisada T, Nagai R and Sugiura S. Microtubules modulate the stiffness of cardiomyocytes against shear stress. *Circ Res*. 2006;98:81-87.

13) Nishimura S, Seo K, Hosoya Y, Nagasaki M, Yamashita H, Fujita H, Nagai R and Sugiura S. Responses of single ventricular myocytes to dynamic axial stretching. *Prog Biophys Mol Biol*. 2008;97:282–297.

14) Nishimura S, Yasuda S, Katoh M, Yamada KP, Yamashita H, Saeki Y, Sunagawa K, Nagai R, Hisada T and Sugiura S. Single cell mechanics of rat cardiomyocytes under isometric, unloaded and physiologically loaded conditions. *Am J Physiol*. 2004;287:H196-202.

15) Yamashita H, Sata M, Sugiura S, Momomura S, Serizawa T and Iizuka M. ADP inhibits the sliding velocity of fluorescent actin filaments on cardiac and skeletal myosins. *Circ Res*. 1994;74:1027-1033.

16) Sata M, Sugiura S, Yamashita H, Fujita H, Momomura S and Serizawa T. MCI-154 increases Ca2+ sensitivity of reconstituted thin filament A study using a novel in vitro motility assay technique *Circ Res*. 1995;76:626-633.

17) Sata M, Sugiura S, Yamashita H, Momomura S and Serizawa T. Dynamic interaction between cardiac myosin isoforms modifies velocity of actomyosin sliding in vitro. *Circ Res*. 1993;73:696-704.

18) Sugiura S, Kobayakawa N, Momomura S, Chaen S, Omata M and Sugi H. Different cardiac myosin isforms exhibit equal force-generating ability in vitro. *Biochim Biophys Acta*. 1996;1273:73-76.

19) Sugiura S, Kobayakawa N, Fujita H, Yamashita H, Momomura S, Chaen S, Omata M and Sugi H. Comparison of unitary displacements and forces between 2 cardiac myosin isoforms by the optical trap technique Molecular basis for cardiac adaptation. *Circ Res*. 1998;82:1029-1034.

20) Sugiura S. Actin myosin interaction. *Cardiovasc Res*. 1999;44:266-273.

21) Sugiura S and Yamashita H. Functional characterization of cardiac myosin isoforms. *Jpn J Physiol*. 1998;48:173-179.

22) Yamashita H, Sugiura S, Fujita H, Yasuda S, Nagai R, Saeki Y, Sunagawa K and Sugi H. Myosin light chain isoforms modify force-generating ability of cardiac myosin by changing the kinetics of actin-myosin interaction. *Cardiovasc Res*. 2003;60:580-508

23) Fujita H, Sugiura S, Momomura S, Omata M, Sugi H and Sutoh K. Characterization of mutant myosins of Dictiostelium Discoideum equivalent to human familial hypertrophic cardiomyopathy mutants. *J Clin Invest*. 1997;99:1010-1015.
24) Watanabe H, Sugiura S and Hisada T. Finite element analysis on the relatioship between left ventricular pump function and fiber structure within the wall. *JSME Int J series C*. 2003;46:1330-1339.
25) Washio T, Yoneda K, Okada J-I, Kariya T, Sugiura S and Hisada T. Vengricular fiver optimization utilizing the branching structure. *Int J Numer Meth Biomed Engng*. 2015:e02753.
26) Okada J, Sasaki T, Washio T, Yamashita H, Kariya T, Imai Y, Nakagawa M, Kadooka Y, Nagai R, Hisada T and Sugiura S. Patient specific simulation of body surface ECG using the finite element method *Pacing and Clinical Electrophysiology (Pace)* 2013;36:309-321
27) Panthee N, Okada J-I, Washio T, Mochizuki Y, Suzuki R, Koyama H, Ono M, Hisada T and Sugiura S. Tailor-made heart simulation predicts the effect of cardiac resynchronization therapy in a canine model of heart failure . *Med Image Anal*. 2016;31:46-62.
28) Okada J-I, Washio T, Nakagawa M, Watanabe M, Kadooka Y, Kariya T, Yamashita H, Yamada Y, Momomura S-I, Nagai R, Hisada T and Sugiura S. Multi-scale, tailor-made heart simulation can predict the effect of cardiac resynchronization therapy. *J Mol Cell Cardiol*. 2017;108:17-23.
29) Okada J-I, Yoshinaga T, Kurokawa J, Washio T, Furukawa T, Sawada K, Sugiura S and Hisada T. Screening system for drug-induced arrhythmogenic risk combining a patch clamp and heart simulator. *Sci Adv*. 2015.

# 平成28年度（第9回）
# 中　谷　賞　研　究　概　要

## マイクロ流体デバイス技術を利用した膜タンパク質センサの開発

東京大学生産技術研究所
統合バイオメディカルシステム国際研究センター
センター長、教　授　竹内　昌治

### １．はじめに

DNA、タンパク質、細胞などの生体材料は、人工材料にはない優れた特異的性質を持っている。特に、膜タンパク質は、一分子レベルの超高感度な化学量センサである。このようなセンサを工学的に利用できれば、生体物質や環境物質を高精度に検出できるセンサとなる。ところが、この様な生体材料は、不安定で扱いにくい材料であったため、これまでデバイス中の機能素子として利用は難しかった。

一方で、マイクロ流体デバイスは、微小空間で生体材料を扱うプロセスに適している。粘性力が慣性力よりも支配的な微小流路中では、液体の流れは層流となり、操作が容易になる。また、体積に比べ表面積の割合が大きくなるため、化学反応が効率的に起きる。さらに、微小な流路内を満たすだけの溶液があれば、反応を推進することができるため、経済的であり、繰り返し実験を高速に行なえる。実際、筆者の研究グループでは、微小な液滴や細胞を高速にアレイ化し、解析できるシステムを実現してきた（PNAS 2007）。

そこで、我々のグループでは、このようなマイクロ流体デバイス技術によって、膜タンパク質発現した脂質２重膜や細胞などの生体材料を扱いやすい材料として操作・加工し、膜タンパク質の優れた分子認識能を直接利用した高感度のセンシングを実現する研究に取り組んでいる。超高感度バイオセンサを中心とした医工計測技術の飛躍的な発展や、再生医療や創薬など生体材料を扱うライフサイエンス分野や環境計測分野の発展など、幅広く貢献できる研究として推進している。

### ２．研究の成果

具体的には、これまでに、以下のように（１）膜タンパク質センサとして細胞を直接利用するもの、また（２）人工細胞膜を利用するものの２つの手法を開発してきた。以下、詳細を記載する。

（１）細胞を使った膜タンパク質センサ

膜タンパク質は、細胞膜中に存在し、味や匂い、環境物質など細胞の外の物質の認識に重要な役割を果たしている。各種の膜タンパク質の機能や特性を一つ一つ解明することが、基礎研究のみならず、次世代の治療、創薬産業における重要な課

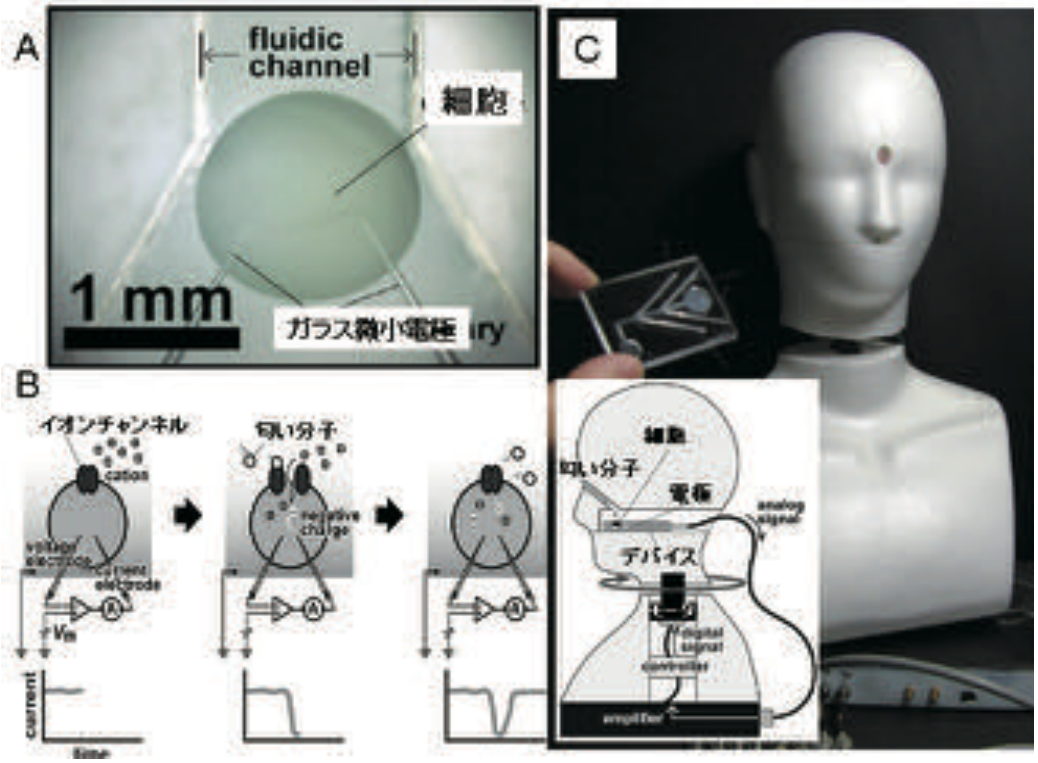



**図1　(A)匂い受容体(イオンチャンネル型の膜タンパク質)を選択的に発現させた細胞を電極を組み込んだマイクロ流体デバイス中に組み込んだ。(B)膜タンパク質に匂い分子が結合すると、イオンを内部に輸送するため、細胞内の電位が変化する。(C)この電位変化を検出して動作するロボットと断面図。写真の指で持っているチップが細胞固定用のマイクロ流体デバイス。**

題である。また工学的に見れば、膜タンパク質は、一分子レベルの超高感度、高性能な増幅器であるといえる。このようなセンサを工学的に利用できれば、これまで人工物センサでは実現できない選択性と感度をもつセンサとなる。たとえば、筆者らは、これまでに、カイコガの匂い受容体を発現させた細胞を、マイクロ流体デバイス内に固定し、匂いを検知するデバイスとして利用する手法を開発した。

匂い物質が吸着したときの細胞内の電位変化を読み取ることで、複数種類の匂いを選択的にかぎ分けることに成功した(図1A、B)。これらを図1Cのようなロボットに搭載し、動作させることで、電気ノイズなどの発生源が多い回路内でも、選択的に匂いをかぎ分けられるセンサとして利用可能であることを世界で初めて示した(PNAS 2010)。加えて、ヒトの汗の匂いに反応する蚊の受容体を発現させたほ乳類細胞に発現させ、3次元組織を形成し、鼻の粘膜を模した薄い培養液層下に配置することで、世界で初めて空気中の標的物質を検出する高性能匂いセンサーとしての有効性を示した(Angew.Chem.Int. Ed. 2014、図2)。

これらの細胞を使ったセンサは匂いセンサ以外にも、薬物動態を解析するセンサとしての期待が高まっている。特に最近では、Organ on a chipと呼ばれる研究が発展してきているが、筆者らのグループでは、3次元組織を高速で組み上げ、薬物動態の応用する手法を開発してきた。たとえば、細胞をビーズやファイバー上に加工することによって、細胞外マトリックスを豊富に含む3次元組織を高速に組み上げる手法を開発した(Nature Materials 2013、Advanced Materials 2011他)。さらに、マイクロ流体デバイス中に胎盤細胞と血管内皮細胞を共培養し、グルコーストランスポー

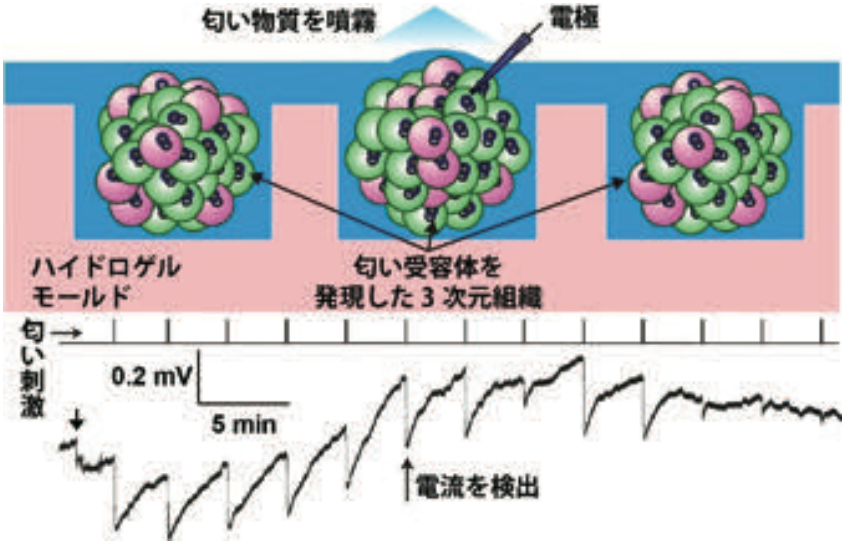



図2　気液界面にて３次元組織による気中物質検出の概念図(上)、匂い物質噴霧のタイミングと細胞内のイオン電流変化の関係(下)

タを介した物質輸送を計測するデバイスを初めて開発した（Nature Communications 2015）。これらの技術は、薬物動態検査のみならず、移植医療の移植片や基礎生物学のツール、上記に挙げた匂いセンサの基盤技術として注目され、現在、複数の製薬企業等との共同研究が進んでいる。また、2015 年にベンチャー企業「セルファイバ社」を起業し成果の実用化に努めている。

（２）人工細胞膜を使った膜タンパク質センサ

また、より安定で簡便な膜タンパク質を利用した計測法として、「人工平面膜法」に注目している。この方法は、脂質２重膜を人工的に再構成し、1 種類の膜タンパク質を導入することで、その膜タンパク質の計測を安定して再現性良く行なえる。これまでこのような人工膜法は、理想的な方法とされてきたが、現状では人工膜の形成は運まかせであり、再現性、安定性は低かった。そこで、ここではマイクロ流体デバイス技術を利用して、小型チップ上に効率良く、安定して脂質膜を再構成できる計測プラットフォームを実現した。まず、有機溶媒中に脂質を溶かす。そこに水滴を導入する。脂質は、親水基と疎水基からなるため、水と有機溶媒との界面には脂質の一重膜が形成される（図３a、b、c）。こうした水滴を２つ用意し、双方をマイクロ流体デバイス内で接触させることで、脂質２重膜を再構成する「接触法」を開発した（Anal. Chem. 2006）。微小な液滴や流体を扱うことを得意としているマイクロ流体デバイス技術によって、再現性、安定性を向上させることができる。また、多チャンネルの膜形成にも成功し、各チャンネルに膜タンパク質を膜融合法によって導入し（図３d）、96 チャンネル計測用のデバイスを実現し、世界で初めて複数チャンネル同時膜電流計測に成功した（Sci. Rep. 2013 他）。海外では本手法により構成された脂質膜を Droplet Interface Bilayer（DIB）と名付け、世界中で利用されている技術に発展している。また、これらの脂質２重膜と DNA アプタマーを用いてわずか 25 秒でコカインを検出できる簡便なセンサの開発に成功した（図４参照、JACS 2011）。この他、MicroRNA を感度よく検出できることを示し、がんの早期発見に応用できる可能性も示した（MicroTAS2016）。小型化にも成功し（図３e、PLoS One 2014）、富士山頂での膜タンパク質計測が世界一高い場所での膜計測としてギネスブック（2015 年）に登録された。

さらに、この「接触法」によって形成した脂質２重膜の中心にジェット水流を当て膜を変形させ、平面膜から均一直径の球体膜を形成することに

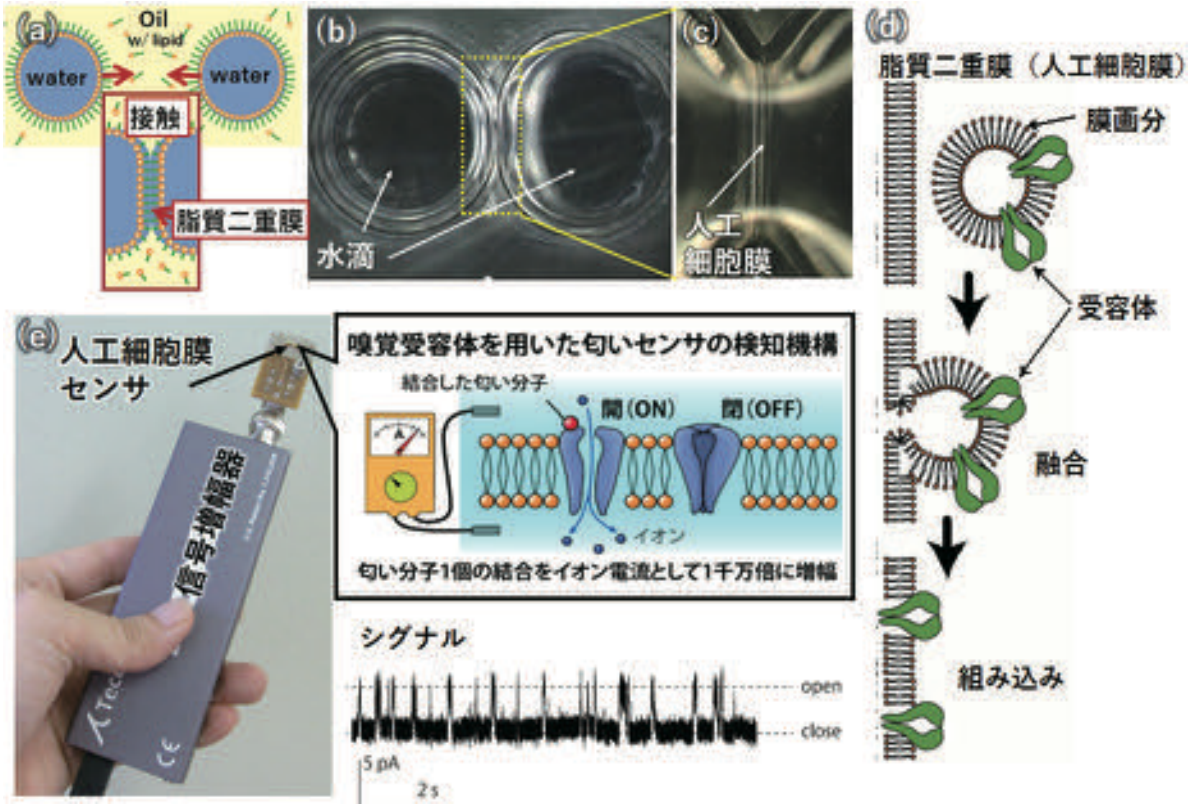



図3 (a)受賞者が提案した接触法による脂質 2 重膜(人工細胞膜)の形成法。油中の水玉の界面に形成された脂質単分子膜を接触させて脂質 2 重膜を形成する。(b,c)実際の接触法の様子。ひょうたん型のチャンバに水滴を垂らすと接触した部分に膜が形成される。(d)膜形成後に膜タンパク質を導入する方法。精製した膜タンパク質を人工細胞膜上に散布し融合させる。(e)受賞者が開発した小型の膜タンパク質センサ。先端に膜が形成され、物質を検知すると発生するイオン電流を検知する。この方法で膜タンパク質の一分子レベルの信号を検知できるため、創薬や匂い検知に応用ができる。

世界初で成功した（Nature Chemistry 2016、JACS 2007）。これらのベシクルでタンパク質合成を行う人工細胞研究への展開が注目されている。筆者らが中心となり 2007 年 11 月に「細胞を創る研究会」を発足させ、マイクロ流体デバイスを利用した人工細胞研究分野の開拓に務めている。

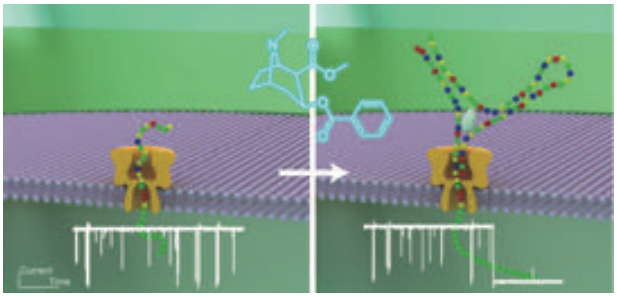


図4 脂質 2 重膜に組み込んだナノサイズの孔をもつ膜タンパク質。膜の上下に電圧をかけると DNA の一本鎖を孔に通過させることができる(左図)。DNA の配列を選び、コカインなどの小分子に特異的に吸着するDNA(DNAアプタマーと呼ぶ)を溶液に導入すれば、コカイン分子があるときのみ DNA が吸着し、3 次元構造をとるため、孔を通過せずに、途中で DNA が止まってしまう(右図)。その結果、この際の膜電流の変化(コンダクタンス変化)を計測することで、コカインを選択的に簡便に検出できた。

## 3．おわりに

マイクロデバイス技術を含むメカトロニクス産業はわが国の経済を支える強い分野である。「ものづくり」の技術が、生命科学分野へ浸透することによって、将来のわが国の健康・医療産業の躍進につながる。たとえば、膜タンパク質研究の展開として、将来、高速高感度の体内物質診断、

創薬に用いる膜タンパク質の高速スクリーニング、あるいは膜タンパクを利用した味、匂いセンサなどの超高感度バイオセンサなどの産業の発展に貢献できる。2015 年より NEDO の「次世代人工知能・ロボット中核技術開発」事業に、ヒトの匂いに応答する蚊の受容体を利用したセンサ開発のテーマが採択され、5 年後の実用化に向けて研究が進んでいる。災害時の不明者捜索には捜索救助犬が活躍しているが、集中力が持続しなかったり、指示を出す伴走者が必要となるなどの制約がある。人工物による簡易匂い計測系では生物ほどの選択性を実現できない。そこで、人の匂いを検知することのできるセンサをロボットに搭載すれば、瓦礫が散乱して視覚が遮られる状況や、捜索救助犬が入っていけない危険な状況でも不明者の捜索が可能となることが期待される。このような応用例以外にも、呼気の検出による健康診断などヘルスケアの分野での期待が高まっており、現在、住友化学と本格的な共同研究を進めている。

また、3 次元ヘテロ組織構造形成技術は、将来の動物実験不要の薬物動態解析や iPS 細胞などの万能細胞を利用した再生医療などへの応用が大いに期待されている。これらの実用化に向けて、実際、複数の製薬企業や化粧品企業などとともに、実用化に向けて研究を推進している。

## 謝辞

本研究の成果は、筆者の研究室の過去および現在のメンバーである学生、研究員、補佐員の多大なる努力の賜物である。また、本成果により、中谷医工計測技術振興財団より平成 28 年度中谷賞奨励賞を賜ることができた。ここに、ご支援いただいたすべての方に感謝の意を表す。

## 本研究に関わる参考文献

1. Koki Kamiya, Ryuji Kawano, Toshihisa Osaki, Kazunari Akiyoshi, and Shoji Takeuchi:, Nature Chemistry, vol. 8, pp. 881–889, 2016
2. Shigenori Miura, Koji Sato, Midori Kato-Negishi, Tetsuhiko Teshima and Shoji Takeuchi: Nature Communications, vol. 6, 8871, 2015
3. Won Chul Lee, Kwanpyo Kim, Jungwon Park, Jahyun Koo, Hu Young Jeong, Hoonkyung Lee, David Weitz, Alex Zettl, and Shoji Takeuchi: Nature Nanotechnology, vol. 10, pp. 423–428, 2015
4. Koji Sato and Shoji Takeuchi: Angew. Chem. Int. Ed., vol.126, pp. 11798-11802, 2014
5. Hiroaki Onoe, Teru Okitsu, Akane Itou, Midori Kato-Negishi, Riho Gojo, Daisuke Kiriya, Koji Sato, Shigenori Mirua, Shintaroh Iwanaga, Kaori Kuribayashi-Shigetomi, Yukiko Matsunaga, Yuto Shimoyama, and Shoji Takeuchi: Nature Materials, vol.12, pp. 584–590, 2013
6. Yun Jung Heo , Hideaki Shibata, Teru Okitsu , Tetsuro Kawanishi, and Shoji Takeuchi: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 108(33), pp. 13399-13403, 2011
7. Hideaki Shibata, Yun Jung Heo, Teru Okitsu, Yukiko Matsunaga, Tetsuro Kawanishi, and Shoji Takeuchi: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 107, no. 42, pp. 17894-17898, 2010
8. N. Misawa, H. Mitsuno, R. Kanzaki, S. Takeuchi: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 107(35), pp. 15340-15344, 2010
9. W-H. Tan and Shoji Takeuchi: Advanced Materials, vol. 19, pp. 2696-2701, 2007

10. W-H. Tan and Shoji Takeuchi:
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 104, no. 4,
pp. 1146-1151, 2007

# 平成 28 年度（第 9 回）
# 中　谷　賞　研　究　概　要

## ECoG/MEG-BMI 義手による重度麻痺患者の運動機能再建と幻肢痛治療への応用

大阪大学　高等共創研究院
教　授　　柳澤　琢史

### 1．まえがき

機械学習により脳信号のパターンから脳情報を抽出する技術を Neural Decoding と呼びます[1]。この技術を用いることで、脳信号だけから、人の運動意図や知覚内容を推定することができます[2)-6)]。さらに、この技術をオンラインで用いることで、人の運動意図などを機械に伝え、人が念じるだけで機械を動かす Brain-Machine Interface (BMI)が実現します(図１)[7)-10)]。BMI 技術は、神経難病により重度の運動麻痺がある患者に対し、運動機能を代替したり、BMI を用いる訓練を介して患者の脳活動を修飾することで、異常な適応状態にある脳活動に可塑的変化を誘導し症状を改善することが期待されています[11),12)]。我々は、人の頭蓋内に留置した電極で計測する皮質脳波や超電導コイルを用いて脳から発せられる微弱な磁気を計測する脳磁図を用いた BMI を開発し、脳機能を再建し修飾する技術を様々な患者に適用する臨床研究を進めてきました。そして、この研究内容に対して、平成 28 年度中谷賞奨励賞を拝受致しました。中谷財団の関係者様には心より感謝いたします。本稿では、この研究内容について概説いたします。

図1　BMI 概念図

### 2．皮質脳波 BMI による機能再建

脳卒中や外傷、筋萎縮性側索硬化症(ALS)などの神経難病により重度の運動麻痺がある患者さんは、伝えたいことがあっても、体の筋肉が一切

動かず、自分の意思を全く表出できない完全閉じ込め症候群に陥ることがあります。このような状態に対して、現在の医療では患者の意思伝達を達成する方法がありません。我々は、頭蓋内の脳表に皿状の電極を留置して計測する皮質脳波を用いることで、高精度の BMI を実現し、患者さんが体を動かさずに意思を伝えたり、自分の体の代わりにロボットで動くことのできる技術の開発と臨床応用を目指して研究をしています。

この開発ではまず、脳外科の治療目的で、脳の感覚運動野と呼ばれる運動を制御する領域に電極を留置された患者さんを対象として、皮質脳波を介してロボットを制御する技術を開発しました。図２では、脳卒中により左手に軽度の麻痺がある患者さんが手を握ったり、開いたり、つまむような動作をするときの皮質脳波を計測し、皮質脳波から運動内容を推定することで、ロボットが同じ動作を実現できていることを示しています[10]。

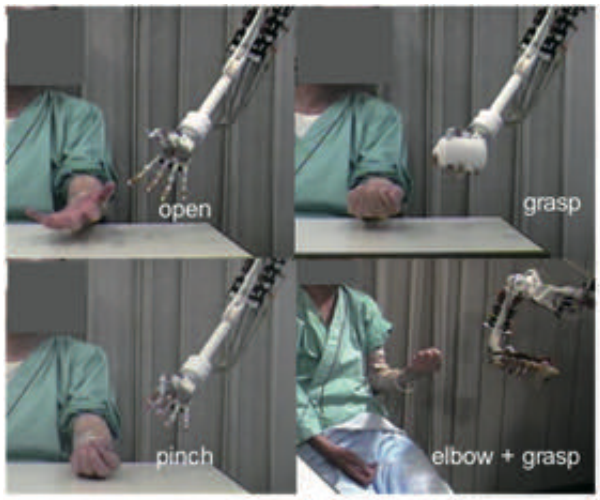



図2　皮質脳波によるロボット制御

この技術は、実際には体が動かなくても実現できるため、麻痺のある患者さんが、念じるだけで制御できるロボットになります。そこで我々は、同じ技術を、人工呼吸器を使う最重症の ALS 患者さんに適用し、BMI の臨床的有用性を検討しました[13]。患者さんの左感覚運動野に高密度の硬膜下電極を留置して皮質脳波を計測することで、患者さんは動かない腕を動かすことを念じるだけで、ロボットハンドで物を掴んで離したり、パソコンに文字を入力できることを示しました。この成果は、重症の ALS 患者さんに皮質脳波 BMI が臨床的にも有用であることを示した世界初の成果となりました。我々は現在、体内埋め込み型の脳波計を開発し、患者さんが自宅でも使える皮質脳波 BMI の実現を目指しています（図１）。

## ３．脳磁図 BMI による機能修飾

さらに、BMI を用いる訓練をすることで、脳活動に可塑的変化を誘導し、神経疾患の治療にも応用することができます。例えば、脳活動に応じて動くロボットを制御する訓練を行う事で、運動に関連する脳活動を強化したり、弱めたりする事ができます。これにより、異常な脳活動によって生じている神経疾患を治療できる事が明らかになりました。

我々は、開発した皮質脳波 BMI を脳磁図（MEG）信号に適用することで、非侵襲的な BMI 義手を開発しました（図３）[7,8]。脳磁図は超電導状態にした特殊なコイルによって、脳から出る微弱な磁気を計測する完全に非侵襲な計測器です。皮質脳波と同様に大脳皮質の電位変化を捉えていると考えられています。このため、皮質脳波 BMI で用いた技術を非侵襲的に実現できました。この技術によって、手術を受けなくても BMI によりロボット制御が可能になり、この技術を用いた新しい神経疾患の治療法開発が始まりました。

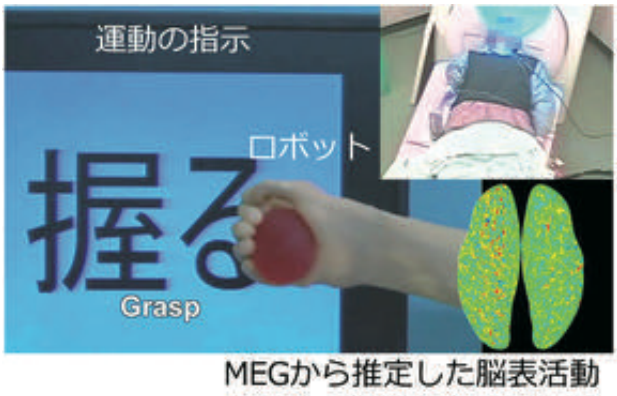



図3　脳磁図によるロボット制御の様子

BMI を用いた神経疾患治療の対象として、我々はまず、幻肢痛に注目しました。幻肢痛は腕を切断した後などに、失った腕が未だあるように感じ（幻肢覚）、酷く痛む（幻肢痛）病気です[14]。この痛みは、腕を失った後に、腕の運動や感覚に関連していた脳活動に異常な変化が生じる事で起こると考えられています[15),16]。そこで、BMI により幻肢を動かすつもりで制御できるロボットを実現し、これを使う訓練をすることで、幻肢に関連する脳活動に可塑的変化を誘導し痛みを減弱できると考えました。

そこで、脳磁図を使った BMI[7]を、幻肢痛患者さんに適用し、自分の幻肢を動かすつもりで操作する訓練をして頂き、訓練前後での痛みの変化と幻肢運動時の脳活動の変化を検討しました。特に、患者の脳活動から脳情報を抽出し BMI を実現するための Decoding 部分に３つの方法を使って、異なる変化を誘導し、脳活動と痛みとの因果関係を検証しました（図４）[12]。つまり、脳信号から運動を推定するデコーダとして（１）幻肢で離握手運動を行なった時の脳活動を学習した幻肢デコーダ（２）１のデータの運動種類をランダムにシャッフルしたデータで学習したランダムデコーダ（３）健常肢で離握手運動を行なった時の脳活動を学習した健常肢デコーダ、の３つを用いました。どのデコーダを用いた場合も、被験者は自分の幻肢を動かすつもりで、BMI で動く義手を制御する訓練を行いました。

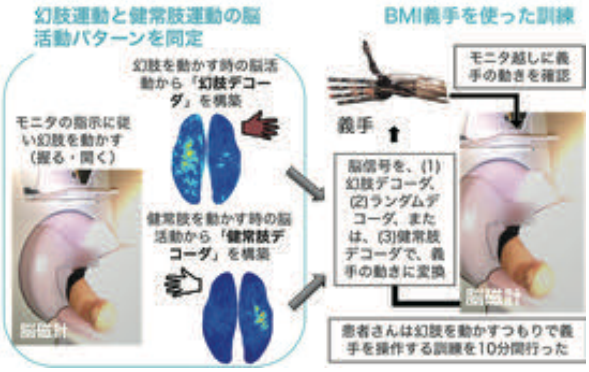



図４　BMI 訓練による幻肢痛の制御

10 分間の訓練前後で比較したところ、デコーダの種類によって、幻肢に関連する脳活動に異なる可塑的変化が誘導されることが明らかになりました。つまり、１のデコーダを用いると、幻肢運動の脳情報は増え、２では変わらず、３では減少することが示されました。さらに、これに伴って痛みも、１で増加、２で変わらず、３で減少することが示されました（図５）[12]。つまり、幻肢運動に関する活動を強めると痛みが強くなり、弱めると痛みを軽減する相関関係が明らかになりました。これらの結果から、BMI を使う事で、幻肢運動に関する脳活動が痛みの原因になっている事が明らかになりました。

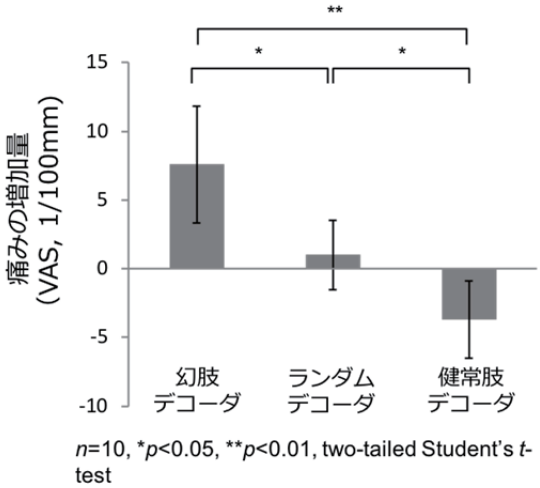



図５　BMI 訓練前後の痛みの変化

我々は現在、この BMI による幻肢痛制御の方法を応用して、幻肢痛を治療する医療機器の開発を行っています。また、この成果は、幻肢痛以外の様々な精神疾患や認知症などにも応用が期待されます。精神疾患や認知症は、脳の器質的な変化だけではなく、異常な脳活動が症状の原因となっていると考えられています。BMI の技術を使い、脳に様々な可塑的変化を誘導することで、精神・神経疾患の原因を明らかにし、新しい治療法を開発できると期待されます。

## ４．まとめ

BMI は失った脳機能を再建し、異常な活動を修飾することで、精神・神経疾患の新しい治療につながります。さらに、健常者の脳の健康維持や機能増進にも応用が期待されます。医学と工学・情報が混じる領域で、BMI 技術が更に発展することで、医療だけでなく産業においても幅広い応用が期待されます。

## ５．参考文献


1 Kamitani, Y. & Tong, F. decoding the visual and subjective contents of the human brain. *nature neuroscience* **8**, 679-685 (2005).

2 Horikawa, T., Tamaki, M., Miyawaki, Y. & Kamitani, Y. Neural decoding of visual imagery during sleep. *Science* **340**, 639-642, doi:10.1126/science.1234330 (2013).

3 Yanagisawa, T. *et al.* Neural decoding using gyral and intrasulcal electrocorticograms. *Neuroimage* **45**, 1099-1106, doi:S1053-8119(09)00005-6 [pii]10.1016/j.neuroimage.2008.12.069 (2009).

4 Nakamura, M. *et al.* Categorical discrimination of human body parts by magnetoencephalography. *Frontiers in human neuroscience* **9**, 609, doi:10.3389/fnhum.2015.00609 (2015).

5 Nakanishi, Y. *et al.* Decoding fingertip trajectory from electrocorticographic signals in humans. *Neuroscience research*, doi:10.1016/j.neures.2014.05.005 (2014).

6 Nakanishi, Y. *et al.* Prediction of three-dimensional arm trajectories based on ECoG signals recorded from human sensorimotor cortex. *PLoS ONE* **8**, e72085, doi:10.1371/journal.pone.0072085 (2013).

7 Fukuma, R. *et al.* Real-Time Control of a Neuroprosthetic Hand by Magnetoencephalographic Signals from Paralysed Patients. *Sci Rep* **6**, 21781, doi:10.1038/srep21781 (2016).

8 Fukuma, R. *et al.* Closed-Loop Control of a Neuroprosthetic Hand by Magnetoencephalographic Signals. *PLoS One* **10**, e0131547, doi:10.1371/journal.pone.0131547 (2015).

9 Yanagisawa, T. *et al.* Real-time control of a prosthetic hand using human electrocorticography signals. *J Neurosurg* **114**, 1715-1722, doi:10.3171/2011.1.JNS101421 (2011).

10 Yanagisawa, T. *et al.* Electrocorticographic control of a prosthetic arm in paralyzed patients. *Annals of neurology* **71**, 353-361, doi:10.1002/ana.22613 (2012).

11 Chaudhary, U., Birbaumer, N. & Curado, M. R. Brain-Machine Interface (BMI) in paralysis. *Annals of physical and rehabilitation medicine*, doi:10.1016/j.rehab.2014.11.002 (2015).

12 Yanagisawa, T. *et al.* Induced sensorimotor brain plasticity controls pain in phantom limb patients. *Nature communications* **7**, 13209, doi:10.1038/ncomms13209 (2016).

13 Morris, S. *et al.* Patient-specific cortical electrodes for sulcal and gyral implantation. *IEEE Trans Biomed Eng* **62**, 1034-1041, doi:10.1109/TBME.2014.2329812 (2015).

14 Flor, H., Nikolajsen, L. & Staehelin Jensen, T. Phantom limb pain: a case of maladaptive CNS plasticity? *Nature reviews. Neuroscience* **7**, 873-881,

doi:10.1038/nrn1991 (2006).

15 Flor, H. *et al.* Phantom-limb pain as a perceptual correlate of cortical reorganization following arm amputation. *Nature* **375**, 482-484, doi:10.1038/375482a0 (1995).

16 Makin, T. R. *et al.* Phantom pain is associated with preserved structure and function in the former hand area. *Nature communications* **4**, 1570, doi:10.1038/ncomms2571 (2013).

# 平成 29 年度（第 10 回）
# 中　谷　賞　研　究　概　要

## 組織性状・機能情報の新規イメージング技術の先駆的研究と超音波エラストグラフィの開発

京都大学　大学院医学研究科
人間健康科学系専攻
教　授　　椎名　毅

### １．はじめに

既に、国民の 4 人に 1 人以上が 65 歳以上と、社会の高齢化が急速に進みつつある我が国では、今後、がん、心疾患、認知症など生活習慣病の罹患率の増加が予想されており、予防医療とともに、疾患の早期診断と適切な治療を行うことで、高い QOL を維持した健康長寿社会の樹立が、医療において取り組むべき重要課題となっている。

現在、臨床では、非侵襲的に体内臓器を可視化する画像診断装置として、X 線 CT、MRI、超音波診断装置等が活用されているが、これらで得られる診断情報は、組織の形態、組織性状、機能に関する 3 つからなると言える。即ち、病態の進行に伴い、腫瘍の増大など形態的な変化とともに、組織の線維化などの組織性状の変化や、新生血管により血流の増加など機能的変化を呈することが知られており、これらの 3 つの診断情報を正確に捉えることが、早期診断や、良悪性の鑑別による適切な治療につながる。

CT では X 線の吸収率、MRI は NMR の緩和時間、超音波診断装置は音響インピーダンスの分布から、主として形態的な情報を、また画像輝度や、テクスチャから、線維化や脂肪沈着の違い、石灰化の有無などの組織性状に関する情報、そして f-MRI や超音波ドプラ法のように血流動態から機能情報を得ていると言える。

超音波は、胎児の検査にも適用可能な高い非侵襲性と、心臓の壁運動を捉えるリアルタイム性、簡便な操作で体内を可視化できる利点から、1990 年頃までには、主に形態を捉える B モード像と、血流を計測するドプラ法の 2 つが臨床に普及していた。一方で、組織性状に関しては、組織性状診断（TC: Tissue Characterization）として、音速や減衰など組織の超音波物性を表すパラメータを計測する試みや、B モードの輝度やテクスチャ解析により、動脈硬化症での脂質性プラークの評価、慢性肝炎での肝線維化のステージ判定などが試みられていたが、いずれも実用化レベルに達したものはなかった[1)~3)]。一方で、組織の硬さ（弾性）は、表 1 に示すように以前から触診が用いられてきた乳がんや前立腺がんの他に、動脈硬化、肝硬変など多くの疾患において、その初期段階から変化することから、組織弾性の分布が可視化できれば、早期診断や良悪性の鑑別診断に有効であることが期待できる[4),5)]。また、RF や超音波によるがんの熱焼灼治療、化学療法などの治療に

おける効果判定への利用も考えられる。（図１参照）　このため、1990 年頃から欧米や日本で組織弾性イメージングの研究が行われていたが、CT, MRI,　PET など様々な画像診断装置があるなかで、組織の硬さを客観的に捉える手法は、2003 年に超音波によるエラストグラフィが実用化して初めて可能になったと言える [6]。

表 1.　摘出乳房組織の弾性率（ヤング率）[5]

| 乳房組織 | ヤング率　(kPa) |
|---|---|
| 正常脂肪 | 3.25 ± 0.91 |
| 正常乳腺 | 3.24 ± 0.61 |
| 線維腺腫(良性腫瘍) | 6.41 6±2.86 |
| 非浸潤性乳管癌 | 16.38 ± 1.55 |
| 浸潤性乳管癌（Low-grade ） | 10.40 ± 2.60 |
| 浸潤性乳管癌（High-grade ） | 42.52 6±12.47 |

図1　組織弾性情報の医療応用

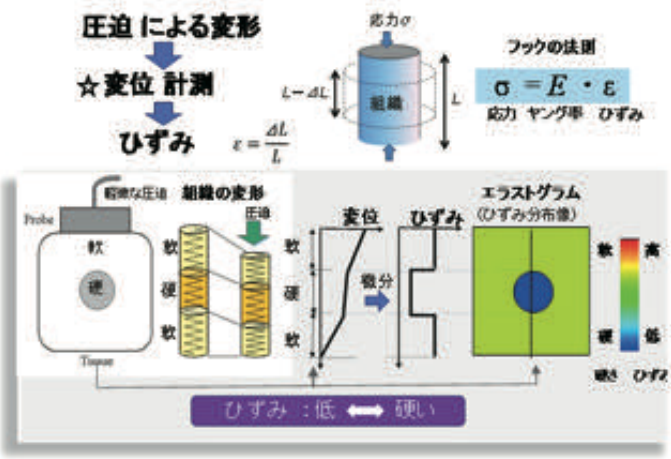



図2　Elastography の概念

## ２．超音波エラストグラフィの基本原理の開発と実用化

組織弾性イメージングの考えは、1990 年頃に米国のテキサス大の Ophir やロチェスター大の Parker らにより提案された [7,8]。これらは、いずれも外部から圧迫や振動により組織を変形させて、その動きを超音波で計測するというもので、これまで、エコー信号のみを用いて画像構成していた、超音波計測法にはない発想の転換であった。

Ophir は、同時に組織弾性(elasticity)の映像法（graphy）ということで、Elastography という造語を提唱したが [7]、それが現在では組織弾性イメージングを表す用語であるエラストグラフィとして定着している。この Elstography は、図２に示すように、超音波プローブで組織を軽く圧迫し、圧迫前後の組織の変位から局所の収縮率（ひずみ）の分布を計測するもので、圧迫で生じる体内の応力 σ と、ひずみ ε との間には、式（１）で示すフックの法則が成り立つと仮定すると、その比例係数が弾性率（ヤング率）となる。

$$\sigma = E \cdot \varepsilon \qquad (1)$$

式（１）は、体内での応力 σ が一様であるとすると、ひずみ ε とヤング率に反比例することを示す。

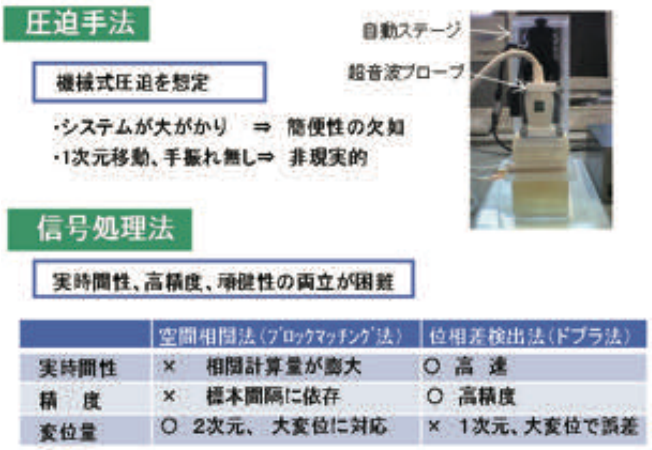



図3　従来手法とその課題：組織ひずみ計測法

従って、ひずみ分布をエラストグラムとして画像化することで、低ひずみの部分は、ヤング率が大きく硬い組織を意味することになる。

実際には、応力は体表から離れるにしたがって減衰し、また体内組織の不均一性により一様ではないが、プローブの幅に比べて浅い範囲であれば、近似的成り立つため、後述する表示法を工夫することで、臨床上有用な画像情報となる。

組織ひずみを求めるには、圧縮の前後における 2 つの状態を比較し、断層面の各点における変位分布を正確に得る必要があるが、その変位計測法は、主に 2 つの手法が提案されていた。

即ち、プローブの面に対して垂直に組織を圧迫した場合、圧迫前後のエコー信号は、次式のようにモデル化される。ここで $u$ は RF 信号の 2 次元包絡線形状、$t$、$\mu$ はそれぞれ距離方向と方位方向の位置、τ、ν は、それぞれの変位量を示す。

$$x(t,\mu) = u(t,\mu)\cdot e^{-j(\omega_0 t-\theta)} \quad (2)$$

$$y(t,\mu) = u(t+\tau,\mu+\nu)\cdot e^{-j(\omega_0(t+\tau)-\theta)} \quad (3)$$

ここで、$x$ と $y$ の空間相関は

$$R_{xy}(\eta,\xi) = \iint x(t,\mu)y^*(t-\eta,\mu-\xi)\,dtd\mu \quad (4)$$

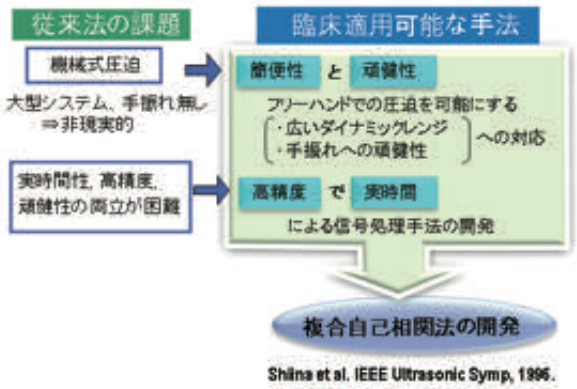



図4　実用的組織弾性イメージング法の開発

と表されるので、$R_{xy}$ が最大となる(η, ξ)を組織の変位(τ, ν)とするのが、空間相関法あるいはブロックマッチング法と呼ばれる手法である [7]。これは、図 3 に示すように 2 次元の大変位にも対応可能な反面、空間相関の計算に膨大な時間を要するため、実時間処理に適さない。

また、方位方向の変位の影響は無視できるとして、距離方向の変位をドプラ法の原理を用いるのが位相差検出法である。即ち、$x(t,\mu)$、$y(t,\mu)$の $t$ に関する直交検波を $S_x(t)$, $S_y(t)$とすると、次式により位相差 $\omega_0\tau$ が 得られ、変位 τ が求まる。

$$\omega_0\cdot\tau = \frac{S_x(t)\cdot S_y^*(t)}{|S_x(t)|\cdot|S_y(t)|} \quad (5)$$

この手法は、カラードプラと同様に高速という利点があるが、圧迫の際のプローブの横ずれに弱いことと、大変位ではエイリアシングによる誤差が生じるなど、実用化のための条件を満足するものでなかった [9]。

米国の Ophir により最初に Elastography の考えが示されてから 10 年余りの間に様々な手法が提案されたが、いずれも臨床と異なる単純な組織モデルや理想的な測定条件でのみ成り立つもので、臨床に適用可能なものは存在しなかった [10]。

私は 1996 年に日本学術振興会の派遣研究員として英国の癌研究所（The Institute of Cancer Research）に滞在する機会を得、そこで新たな研究テーマとして、組織弾性イメージングの研究に着手したが、これが幸運にも、後に製品化される超音波エラストグラフィの基本原理となる「複合自己相関法」(combined autocorrelation method, CA 法）を考案することにつながった [11), 12)]。

実用的な組織弾性イメージングの条件として、診断に有用な空間分解能と精度を有することに加え、超音波検査の利点である簡便性と実時間性を損なわないことが重要である。用手的に圧迫する場合、術者や状況により速度や大きさが変化するため、どのような変位の値にも対応できる広いダイナミックレンジを持つ必要がある。また患者の動きや手振れなどによる探触子の体表面での滑りなど臨床計測の環境に頑健に対応できる必要がある。また、実時間性を確保するためには、高速な信号処理法が不可欠となる（図4）。

これら条件を満たすため、内容の詳細は文献（12）に譲るが、複合自己相関法では、図 5 に示すように組織の動きの検出を 2 段階で行う。1 段

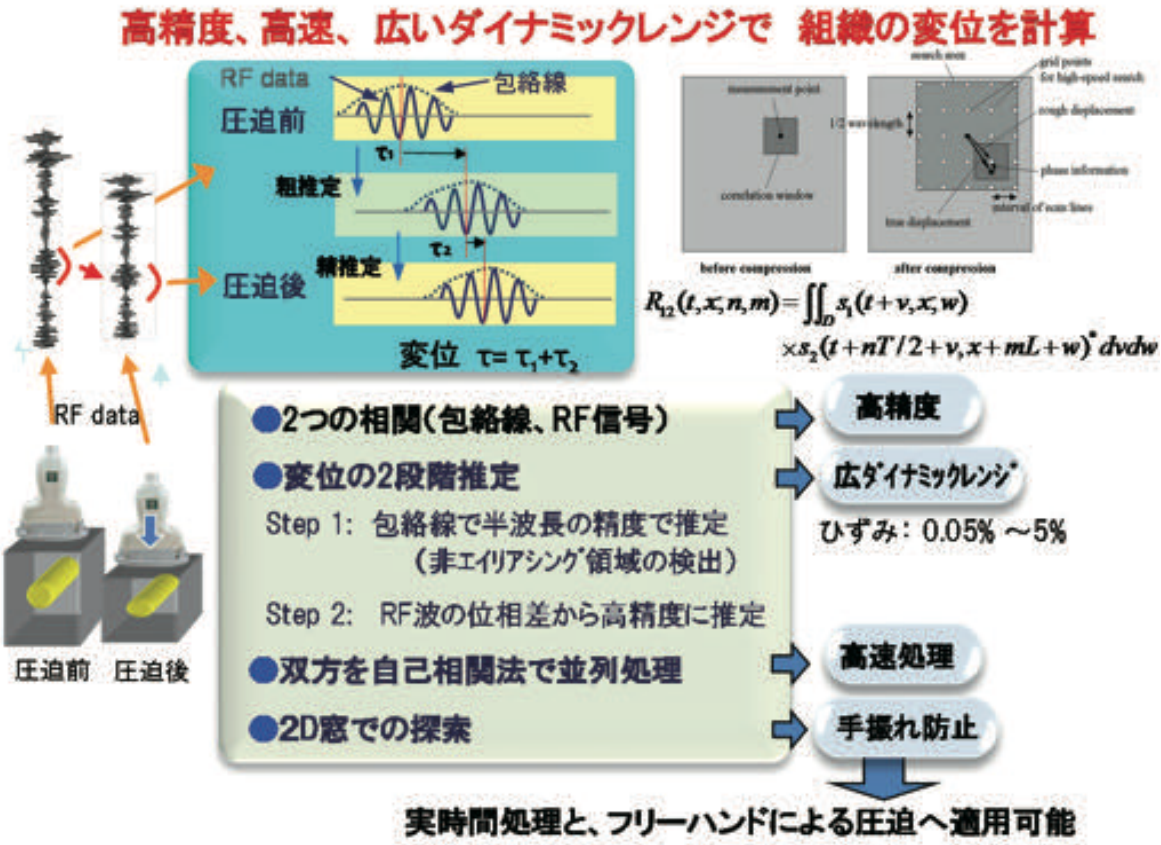



図5 複合自己相関法:Combined autocorrelation method

目は圧縮前後のエコー信号の振幅（包絡線）の動きから大まかに求める粗推定であり、この時、次式で表わされる相関関数を用い距離方向には半波長ごとの離散的な処理で計算効率の最適化を図っている。

$$R_{xy}(t,\mathrm{n}) = \int_{-t_0/2}^{t_0/2} x(t+\nu)\cdot y^*\left(t-\frac{nT}{2}+\nu\right)\mathrm{d}\nu$$

$$= R_u(t,\tau-\frac{nT}{2})\cdot e^{j\psi(\mathrm{t;n})} \qquad (n\text{:整数}) \qquad (6)$$

2 段目には、エコー信号の高周波成分の位相差から高精度に求める精推定を組み合わせている。また方位方向には走査線間の移動も行うことで手振れによる影響にも対応可能となっている。これにより微小な変位から波長を超える大変位までの広いダイナミックレンジを（ひずみ 0.05～5%） 実現した。

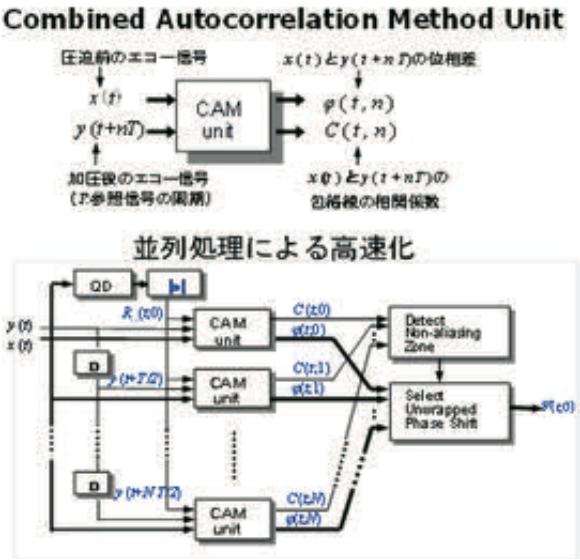



図6 CAM unit の並列処理による高速化

また実時間性については、粗推定と精推定の両推定ともカラードプラ法の基本原理である自己相関法をベースとして処理する演算ユニット（CAM unit）を構成し、さらに図６に示すような並列処理により実時間での演算を可能としている。カラードプラ法で用いる自己相関法ではエコー信号の振幅情報は使わず位相のみを用いていたのに対し、開発した手法は振幅と位相の双方を利用しているため「複合自己相関法」と命名した。

このように、複合自己相関法では、従来法の課題であった術者の手振れや圧迫速度の変動の影響を回避し、さらに臨床適用に不可欠な簡便性、実時間性と高精度を両立させた弾性分布計測が可能となった。

図7　実用化にむけて日立メディコとの共同研究を開始

この原理を用いた実用機の開発に向けて、2001年 10 月に、椎名と植野映氏（当時、筑波大学乳腺外科）は、日立メディコ（現　日立製作所）との共同研究を開始した（図７）。そして、2003 年 11 月には、Real-time Tissue Elastography の名称で世界に先駆けて、超音波エラストグラフィの製品化が達成された（図８）。画像表示については、ROI 内のひずみ値の平均値を（緑）、低ひずみの部位を硬い組織として（青）、また高ひずみの部位を軟らかい組織として（赤）を用いた半透明のカラー画像として重畳したエラストグラムの描画法を考案した。悪性に多い硬い低ひずみの部分を青にしたのは、半透明のカラー像の下の腫瘍部のテクスチャの視認性を高めるためであった。ひずみ値自体は圧迫の強さにより変動するが、このように ROI 内でのひずみの平均値に基づく階調化を行うことで、圧迫の速度に依存せずに安定した画像を得ることを可能にした[13]。

その結果、探触子を触れる程度に軽く当て、僅かに動かすだけで、実時間（約 35 フレーム／秒）で組織弾性像（ひずみ像）が B モード像と同時に表示され、形態と組織性状の双方の情報が同時に得られる点で、診断上有用な装置となった。

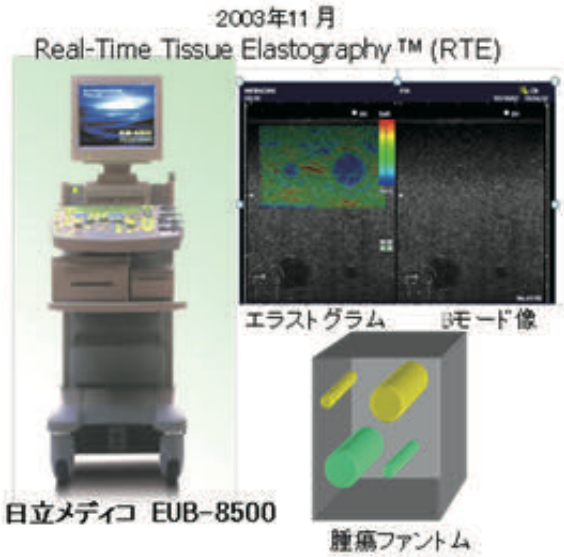



図8　世界初の超音波エラストグラフィの実用化

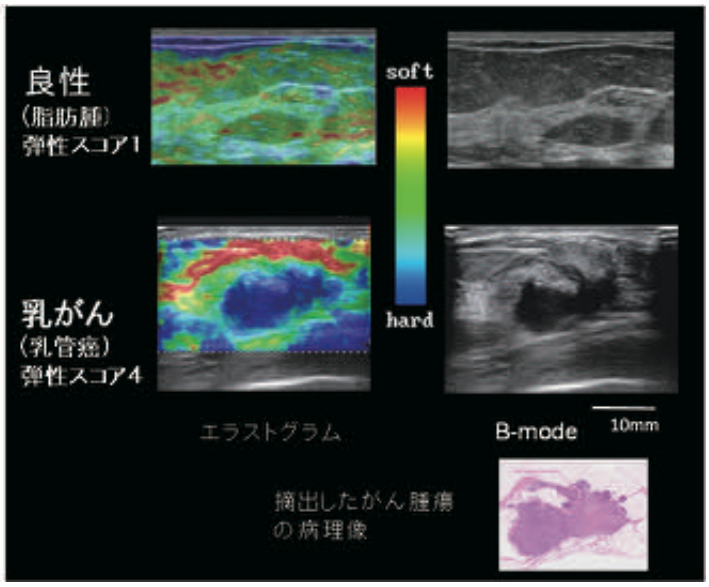



図9　乳がん診断へのエラストグラフィの適用

図９に乳腺領域での臨床適用の例を示す。図９上段は良性の脂肪腫の例である。触診でも柔かく触知されるが、エラストグラムでも緑色であり周囲組織に近い硬さであることを示している。図９下段は、浸潤性乳管癌で、Bモードの低輝度部は、良性の場合と異なり青く硬い組織であることが示されている。この症例については、右下に示された摘出した腫瘍の病理像と比較すると、がん細胞の浸潤の範囲が、エラストグラムの硬化組織の部分と良く一致していることがわかる。このように、組織型と対応が極めて良いこともこのひずみ像によるエラストグラフィの特徴である。

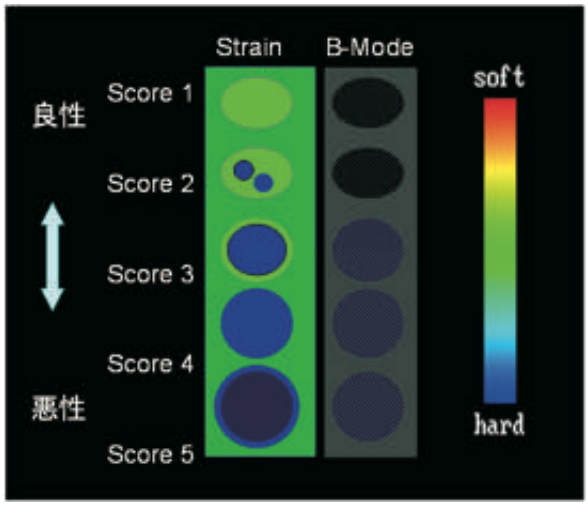



**図10　新規イメージングによる診断基準の構築：弾性スコアの提唱**

## ３．臨床への普及と標準化への取り組み

新規イメージングの場合、それを臨床現場に普及させて初めてその価値を高めることができると言える。そこで、超音波エラストグラフィの臨床的有用性の実証と診断基準の確立、さらにガイドラインによる標準化などの環境整備に取り組んだ。まず、乳がんの専門医（筑波大学 植野映氏ら）と共同で、100 例以上の臨床評価を進め、乳腺腫瘍のエラストグラフィの画像を悪性度で 5 段階にパターン分類した「弾性スコア（Tsukuba Elasticity Score）」を提唱し、簡便に熟練医師と同等の精度で良悪性の鑑別診断が可能になることを実証した（図 10）[14]。その結果、超音波エラストグラフィによる新たな乳がん診断法の普及促進が図られ、現在では、医用超音波メーカの殆ど全てがエラストグラフィ機能を搭載している。

一方で、同じ超音波エラストグラフィでも、図 11 に示すように、装置による計測条件の微妙な違いや基本原理が異なる様々な装置が出現したことで、適切な使用法に関する教育と標準化が必要となった。そこで、WFUMB（国際超音波医学会）から「超音波エラストグラフィ診断ガイドライン」

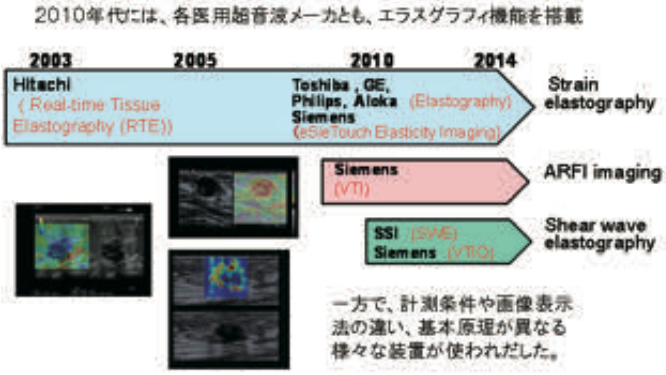



**図11　エラストグラフィ技術の進歩**

編纂委員会の Chair として選出され、十数ヵ国からの委員とともに、2015 年に、基礎技術と臨床（乳腺、肝臓）の各診断ガイドラインを編纂した。これは、WFUMB の論文誌（Ultrasound in Medicine and Biology）に掲載され、現在、各国でエラストグラフィ診断の手引きとして引用されている [15]。（図 12）

## ４．新規生体イメージング技術による医療イノベーションの推進

現在では、B モード(形態診断)、ドプラ法（血流）に並んで、エラストグラフィ(組織弾性)は第３のモードとなり、特に乳がん超音波診断では欠かせないものとなりつつある。また、乳腺以外でも、甲状腺がん、前立腺がん、慢性肝炎における肝線維化の診断、動脈硬化性プラークの検出、RF 焼灼治療における治療効果の評価など、様々な領域へのエラストグラフィ適用の展開が試みられており、それによる医療技術の向上が期待される。

図12　国際超音波医学会での超音波エラストグラフィ診断ガイドライン策定

上段：WFUMB consensus meeting, Washington DC, 2013、下段：基礎領域のガイドライン[15]

H28 年度の診療報酬改定で、超音波エラストグラフィによる肝硬度計測が保険適用となる。今後の乳がん診断など他領域への保険適用と普及が期待される。

図13　超音波エラストグラフィ診断の標準化

最初の臨床装置の誕生から13年を経た2016年に、肝臓の硬さ計測に対するエラストグラフィの保険適用が認められた。CT など欧米発の医療技術が多い中、エラストグラフィは、日本から生まれた医療画像診断技術として誇るべきものと言える。幸いにも、これらの成果が評価され、2010年には文部科学大臣表彰科学技術賞受賞の機会を得ることができた。また、これらの超音波エラストグラフィの開発の他にも、近年では、非造影でがんの新生血管を可視化する「光超音波マンモグラフィ」の開発など、非侵襲による生体の性状・機能の新規イメージング技術の開発と医療応用を軸とした医療イノベーションの推進に取り組んでいる[16]。

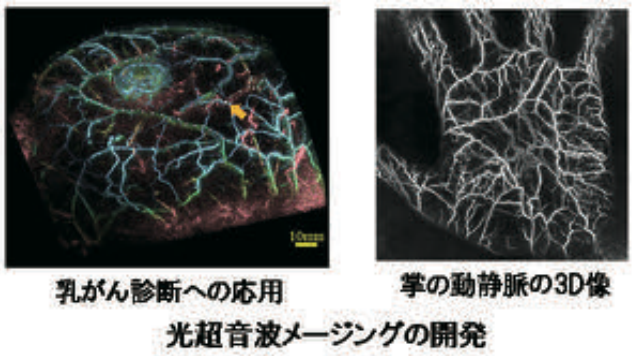



図14　新規生体イメージング技術による医療イノベーションの推進

## 謝辞

この度、中谷賞大賞の受賞という栄誉を賜ることになり、これまでの研究推進にご支援ご協力頂いた各位に感謝いたします。また、これを励みに、今後も健康長寿社会の樹立を目指した研究開発に邁進する所存です。

## 参考文献

1) Kuc R. “Estimating acoustic attenuation from reflected ultrasound signals: Comparison of spectral-shift and spectral-difference approaches,” IEEE transactions on ASSP, 32(1), 1-6, 1984.
2) Vered Z, et al : “Quantitative ultrasonic tissue characterization with real-time integrated backscatter imaging in normal human subjects and patients with dilated cardiomyopathy,” Circulation 76, 1067-1073, 1987.
3) Cain CA, “Ultrasonic Reflection Mode Imaging of the Nonlinear Parameter B/A: A Theoretical Basis,” Proc. of IEEE Ultrasonics Symposium 1985,.887-890, 1985.

4) Krouskop TA.,. Wheeler TM, Kallel F et al: Elastic Moduli of Breast and Prostate Tissue Under Compression. Ultrason Imag 20: 260-274, 1998
5) Samani A, et al., “Elastic moduli of normal and pathological human breast tissues: an inversion-technique-based investigation of 169 samples,” Phys. Med. Biol. 52, 1565-1576, 2007.
6) Shiina T, “Ultrasound elastography: Development of novel technologies and standardization,” Jap. J. Appl. Phys., 53, 07KA02, 2014.
7) Ophir J, et al: Elastography: A Quantitative Method for Imaging the Elasticity of Biological Tissue. Ultrason Imag 13: 111-134, 1991.
8) Parker KJ, et al: Tissue Response to Mechanical Vibrations for “Sonoelasticity imaging”. Ultrason Med Biol 16: 241-246, 1990
9) M. O'Donnell, et al., "Internal displacement and strain imaging using ultrasonic speckle tracking", IEEE Trans. Ultrason. Ferroelect. Freq. Contr., 41(3), 314-325, 1994.
10) Parker KJ, et al. “Imaging the elastic properties of tissue: the 20 year perspective,” Physics in Med. & Biol. 57(16), 5359, 2012.
11) Shiina,T et al., “Strain imaging using combined RF and envelope autocorrelation processing,” Proc IEEE Ultrason Symp1996, 1331-1334, 1996.
12) Shiina T, et al., “Real Time Tissue Elasticity Imaging Using the Combined Autocorrelation Method,” Journal of Medical Ultrasonics, 29, Autumn, 119-128, 2002.
13) Yamakawa M, et al., “High-speed Freehand Tissue Elasticity Imaging for Breast Diagnosis”, Japanese Journal of Applied Physics, 42(5B), 3265-3270, 2003.
14) Itoh A, et al., “Breast Disease: Clinical application of ultrasound elastography for diagnosis,” Radiology, 231(2), 341-350, 2006.
15) Shiina T et al. ”WFUMB Guidelines and recommendations for clinical use of ultrasound elastography: Part 1:Basic principles and technology", Ultrasound in Med. & Biol., 41(5), 1126-1147, 2015.
16) T.Shiina et al. “Development and Clinical Translation of Photoacoustic Mammography,” Biomed. Eng. Letters,8(2), 157-165, 2018.

# 平成 29 年度（第 10 回）
# 中　谷　賞　研　究　概　要

## 細胞内情報伝達分子の活性を生きた動物で可視化する技術の開発

京都大学
生命科学研究科生体制御学分野
医学研究科病態生物医学分野
教　授　　松田　道行

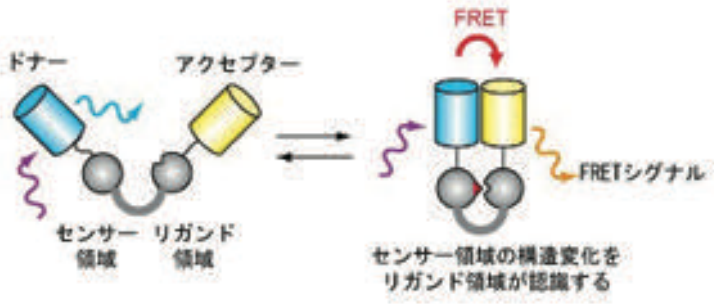
### １．はじめに

病理学は疾病の原因を解明する長い歴史を持つ学問分野である。異常をきたした臓器を顕微鏡下に観察し、病気をもたらす原因を形態学的に探求してきた。一方、20 世紀後半に始まった分子生物学の爆発的進歩は、ヒトが有する 2 万を超えるタンパク質のカタログを提供し、これにより生命のそして病気の理解が一気に進むかに思われた。しかし、分子のカタログを手に入れたということは病気を理解するうえでは、まだほんの始まりに過ぎなかったのである。細胞内外の様々な情報を処理する細胞内情報伝達分子群の異常、随伴する細胞間コミュニケーションの攪乱、そして、それらの帰結として表出される臓器機能低下の動態を、100 年を越える歴史の中で連綿と蓄積されてきた形態異常の知識とを関連付けることが、病気の理解のためには必須であるからである。我々は、顕微鏡下で分子活性情報をライブ観察できる技術を開発し、様々な病態において、細胞内情報伝達系の異常がどのようにして細胞や組織の形態異常を引起し、ひいてはそれらが器官、個体の病気へと繋がっているのかを明らかにしたいと考えている。

### ２．FRET バイオセンサーの開発

細胞内情報伝達分子の活性を生きた組織で観察するために、我々はフェルスター共鳴エネルギー移動（FRET）バイオセンサーの開発を続けている。FRET バイオセンサーは目的とする細胞内情報伝達分子の構造が変化したことを、ドナーとアクセプターの二つの蛍光分子間の FRET の増減により検出するもので、分子の活性変化を蛍光量の変化として検出することができる [1), 2)]。FRET バイオセンサーに用いる蛍光分子は有機蛍光分子を始めとして様々なものがあり、一長一短がある。我々は蛍光タンパク質を使うことで、遺伝子によりコードされる FRET バイオセンサーを作成している [3)]。FRET バイオセンサーの遺伝子を染色体に組み込むことで、FRET バイオセンサーを安定的に発現させることができるし、後述するように遺伝子改変動物への応用も可能であり、応用が格段に広がるからである。

我々は、2001 年に世界で初めて、癌遺伝子産物 Ras の活性変化を生細胞で観察したのに引き続き [4)]、多数の低分子量 G タンパク質やタンパク質リン酸化酵素など、細胞の増殖や運動を制御する分子群 FRET バイオセンサーを作製してきた [5)-8)]。

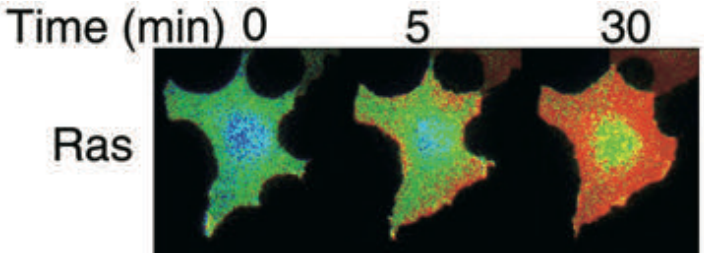



（左図）FRET バイオセンサーの作動原理。センサー領域とリガンド領域の結合乖離に応じて、ドナーからアクセプターへの FRET 高率が変化する。ドナーとアクセプターの蛍光量比を比較することで、センサーの構造変化を検知できる。

当初はこれらの FRET バイオセンサーを培養細胞やマウスに安定に発現することは困難であった。その原因は、ドナーとアクセプターの蛍光タンパク質の双方がオワンクラゲ由来であり、遺伝子相同性が極めて高いために、遺伝子組換えを起こすことにあることがわかった [9]。特にレトロウイルスを用いて遺伝子導入を行うと高率に遺伝子の組み換えが観察された。我々は二つの方法でこれを乗りきることに成功した。ひとつは、トランスポゾンを用いる方法である [10), 11)]。piggyBac や Tol2 などのトランスポゾンを遺伝子導入に用いると、蛍光タンパク遺伝子間の組替えがほとんど起きなくなる [7]。もう 1 つは、片方の蛍光タンパク質の遺伝子のみヒトに最適化した遺伝子コードを用いることで相同性を減らす方法である [9]。これらのうち Tol2 トランスポゼースを使う方法は、受精卵に導入することで遺伝子組換えマウスを高効率に作製することが可能で、FRET バイオセンサーの生体イメージングへの可能性がいっきに広がった [12), 13)]。

## ３．FRET マウスのライブイメージング

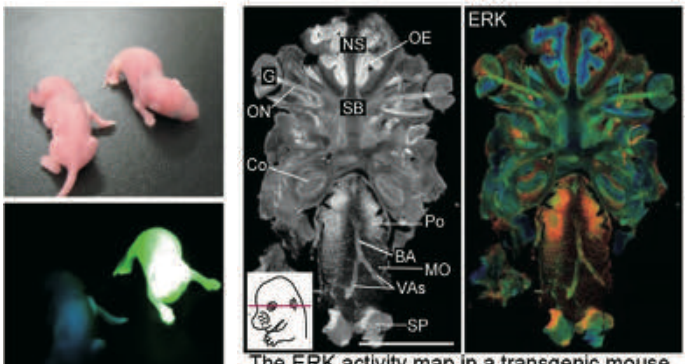
我々はこの FRET バイオセンサーを発現するトランスジェニックマウスを FRET マウスと呼んでいる。これまでに、10 系統を超える低分子量 G タンパク質とタンパク質リン酸化酵素の活性を測定できる FRET マウスが確立されている。さらに、生体で細胞を観察するための臓器固定装置の開発や術式の工夫等を重ね、様々な臓器の分子活性を多光子顕微鏡下にライブ観察する技術を確立した [14)-18)]。これより、細胞内情報伝達分子の異常をダイナミックに顕微鏡下で観察するという新たな病理学的研究手法が始まりつつある。以下に代表的な観察結果について報告する。




（左図）癌遺伝子産物 Ras の活性を検出する FRET バイオセンサーを培養細胞に発現させ、上皮細胞増殖因子受容体で刺激すると、細胞のの辺縁部から Ras が活性化される。左図では暖色が Ras の活性が高いことを示す。

## ４．マップキナーゼの表皮細胞間伝播現象

細胞増殖因子が細胞増殖因子受容体の細胞外ドメインに結合し、その情報が細胞内に伝播することで細胞の増殖は誘導される。中でも ERK マップキナーゼ（以下、ERK と略する）が活性化されることが細胞の増殖と分裂に重要であることが長年の研究でわかっている。しかし、これまでの知見の大部分は培養細胞を用いて得られたものであり、生きた個体内で細胞増殖刺激がどのように伝播されているかを観察した結果はほとんどない。そこで我々は、ERK の活性を高感度にモニターする FRET バイオセンサーを作製し、この遺伝子を発現するマウスを作製した [7), 13)]。この FRET マウスを多光子顕微鏡を用いて観察することで、皮膚基底細胞において ERK 活性がどのように変化しているかを検討した [19)]。マウス皮

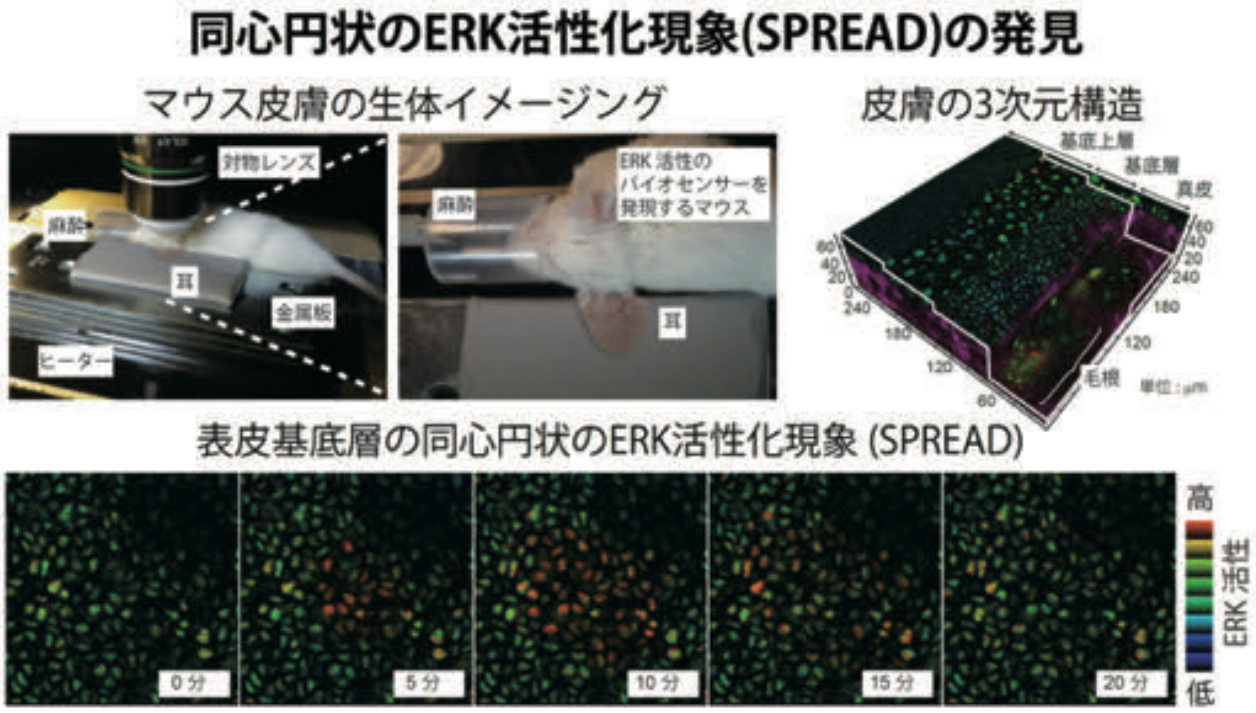


The ERK activity map in a transgenic mouse expressing a FRET biosensor

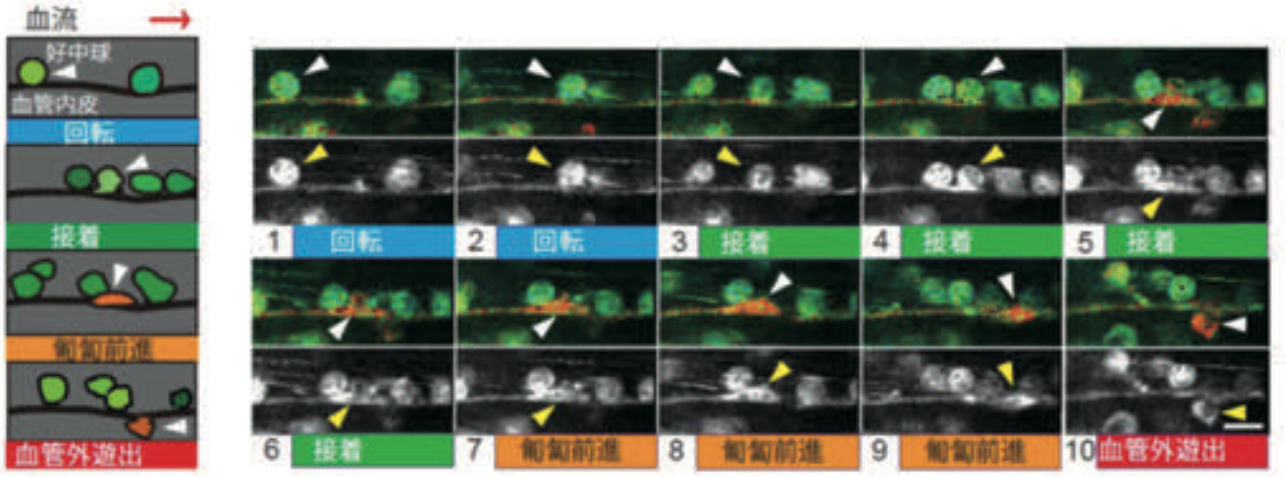
FRET マウス：細胞増殖を制御するリン酸化酵素である ERK マップキナーゼの活性をモニターする FRET バイオセンサーをマウスに発現させたもの。青色 LED 照明で簡便にマウスを同定できる。このマウスの胎児脳の断面を顕微鏡で観察すると、細胞内情報伝達分子活性の脳内地図を作成できる。この図では暖色が ERK 活性の高い部位を示している。

膚の表皮細胞は約 1 週間でターンオーバーするとされ、生体内ではもっとも活発に分裂を繰り返している細胞種のひとつであるため、細胞増殖刺激を観察するのに適している。細胞分裂が起きる表皮基底細胞層を丹念に観察したところ、あたかも打ち上げ花火のように ERK 活性が同心円状に伝播する現象を発見した。この Spatial Propagation of ERK Activity Distribution (SPREAD; ERK 活性化空間伝播)と命名した現象は、1 回の発火で、直径 0.1 mm 程度の領域に含まれる約 100 個の細胞で ERK 活性が上昇するのに伴うもので、30 分程度で収束する。様々な阻害剤を用いて解析したところ、この現象は以下のステップで起きていることがわかった。

1. 中心の数個の細胞で最初に ERK 活性が上昇する。この最初の発火の原因はいまだ不明である。
2. 基底細胞内での ERK 活性の上昇は細胞膜表面の ADAM ファミリータンパク質分解酵素の活性上昇を誘導する。
3. ADAM ファミリータンパク質分解酵素は細胞膜表面に存在する上皮細胞増殖因子前駆体を切断し、上皮細胞増殖因子を遊離させる。
4. 遊離した上皮細胞増殖因子は隣の細胞の上皮細胞増殖因子受容体に結合し、活性化させる。
5. 活性化した上皮細胞増殖因子受容体は ERK を活性化し、上記 2 以下のステップが繰り返され、さらに隣の細胞で ERK が活性化される。



SPREAD と細胞周期との関連を解析したところ、SPREAD は S／G2／M 期から G1 への進行を進めていることがわかった。すなわち、表皮基底細胞においては細胞増殖因子が同種の細胞間のコミュニケーションの手段として、細胞周期を促進することに使われていることがわかった。これまで、細胞増殖因子の役割は試験管内培養細胞を使った研究や遺伝子改変マウスを使った研究等で進められてきたが、FRET マウスを使った研究はこの両者の研究を繋ぐ貴重な情報を与えるということも示すことができたといえよう。




## 5．白血球の運動と分子活性の変化

炎症反応は生体修復過程の一つであるが、その過剰な反応はしばしば私たちの健康を損なう。アスピリンに代表される抗炎症薬が現代医療で占める重要な役割はそれを裏付けている。炎症反応は、好中球をはじめとする白血球が血管から遊出して壊れた組織や細菌を攻撃するところから始まる。組織や細菌のどんな分子が白血球を呼び寄せるのか、白血球のなかでどんな分子が壊れた組織や細菌を攻撃するのに必要なのか、これまでにさまざまな研究が試験管内でなされてきた。しかし、そのような生体分子の動態は培養細胞を使った生化学的解析はできても、生体内で観察するすべはなかった。そのため、たとえば抗炎症薬が「いつ、どこで」白血球の働きを制御しているのかなど、薬の効果を考えるうえでもっとも基本的なことすらあまり理解が進んでいない。そこで、細胞の様々な過程を制御する ERK とプロテキンキナーゼA（PKA）の活性を測定する FRET マウスを使って、白血球が血管から出て、壊れた組織や細菌を認識する過程でこの二つのリン酸化酵素がどのような時空間制御を受けているかを麻酔下のマウスの腸管の血管を用いて検討した [18]。その結果、白血球が血管壁に付着するとともに ERK 活性が上昇し、これが白血球の血管外遊走に大事であることがわかった（上図）。一方、白血球内の PKA は炎症組織に近づくと上昇し、これが、ERK に拮抗して細胞運動を止める働きを有することがわかった。PKA は炎症のケミカルメディエーターであるプロスタグランジンにより活性化される酵素である。したがって非ステロイド性抗炎症薬を投与すると、PKA が不活化され、ERK を活性化する。これにより、白血球の運動能は亢進し、炎症細胞の運動範囲をむしろ広げていることを見出した。この結果は、非ステロイド性抗炎症薬腸炎という、非ステロイド性抗炎症薬によって誘導されるという奇異な腸炎の病態を理解するうえで重要な知見と考えられる。薬剤は分子に対する特異性はあっても、細胞に対する特異性はないものがほとんどである。生体内で分子活性を可視化することで、薬剤の期待する効果と期待しない効果がどのようにしてもたらされているのかを明らかにできる一例である。

## 謝辞

本研究は、国立国際医療センター研究所、大阪大学微生物病研究所、京都大学大学院医学研究科・生命科学研究科でともに研究をした多くの仲間たちとの共同研究の成果です。また、現在も共同研究を続け、中谷賞に推薦いただきました湊長博京都大学副学長にも篤く御礼申し上げます。最後に、公益財団法人中谷医工計測技術振興財団から中谷賞大賞を拝受致しましたことは、大変名誉なことと深く感謝いたしますとともに、今後の励みにしたいと思います。

## 文献

1. Aoki K, Matsuda M: Visualization of small GTPase activity with fluorescence resonance energy transfer-based biosensors, Nat Protoc 2009, 4:1623-1631
2. Rodriguez EA, Campbell RE, Lin JY, Lin MZ, Miyawaki A, Palmer AE, Shu X, Zhang J, Tsien RY: The growing and glowing toolbox of fluorescent and photoactive proteins, Trends Biochem Sci 2017, 42:111-129
3. Aoki K, Kamioka Y, Matsuda M: Fluorescence resonance energy transfer imaging of cell signaling from in vitro to in vivo: Basis of biosensor construction, live imaging, and image processing, Dev Growth Differ 2013, 55:515-522
4. Mochizuki N, Yamashita S, Kurokawa K, Ohba Y, Nagai T, Miyawaki A, Matsuda M: Spacio-temporal images of growth factor-induced activation of Ras and Rap1, Nature (London) 2001, 411:1065-1068
5. Yoshizaki H, Ohba Y, Kurokawa K, Itoh RE, Nakamura T, Mochizuki N, Nagashima K, Matsuda M: Activity of Rho-family GTPases during cell division as visualized with FRET-based probes, J Cell Biol 2003, 162:223-232
6. Itoh RE, Kurokawa K, Ohba Y, Yoshizaki H, Mochizuki N, Matsuda M: Activation of Rac and Cdc42 video-imaged by FRET-based single-molecule probes in the membrane of living cells, Mol Cell Biol 2002, 22:6582-6591
7. Komatsu N, Aoki K, Yamada M, Yukinaga H, Fujita Y, Kamioka Y, Matsuda M: Development of an optimized backbone of FRET biosensors for kinases and GTPases, Mol Biol Cell 2011, 22:4647-4656
8. Kitano M, Nakaya M, Nakamura T, Nagata S, Matsuda M: Imaging of Rab5 activity identifies essential regulators for phagosome maturation, Nature (London) 2008, 453:241-245
9. Komatsubara AT, Matsuda M, Aoki K: Quantitative analysis of recombination between YFP and CFP genes of FRET biosensors introduced by lentiviral or retroviral gene transfer, Sci Rep 2015, 5:13283
10. Yusa K, Rad R, Takeda J, Bradley A: Generation of transgene-free induced pluripotent mouse stem cells by the piggyBac transposon, Nat Methods 2009, 6:363-369
11. Kawakami K, Takeda H, Kawakami N, Kobayashi M, Matsuda N, Mishina M: A transposon-mediated gene trap approach identifies developmentally regulated genes in zebrafish, DevCell 2004, 7:133-144
12. Sumiyama K, Kawakami K, Yagita K: A simple and highly efficient transgenesis method in mice with the Tol2 transposon system and cytoplasmic microinjection, Genomics 2010, 95:306-311
13. Kamioka Y, Sumiyama K, Mizuno R, Sakai Y, Hirata E, Kiyokawa E, Matsuda M: Live imaging of protein kinase activities in transgenic mice expressing FRET biosensors, Cell Struct Funct 2012, 37:65-73
14. Konagaya Y, Terai K, Hirao Y, Takakura K, Imajo M, Kamioka Y, Sasaoka N, Kakizuka A, Sumiyama K, Asano T, Matsuda M: A Highly Sensitive FRET Biosensor for AMPK

Exhibits Heterogeneous AMPK Responses among Cells and Organs, Cell reports 2017, 21:2628-2638
15.Hiratsuka T, Sano T, Kato H, Komatsu N, Imajo M, Kamioka Y, Sumiyama K, Banno F, Miyata T, Matsuda M: Live imaging of extracellular signal-regulated kinase and protein kinase A activities during thrombus formation in mice expressing biosensors based on Forster resonance energy transfer, Journal of thrombosis and haemostasis : JTH 2017, 15:1487-1499
16.Hirata E, Girotti MR, Viros A, Hooper S, Spencer-Dene B, Matsuda M, Larkin J, Marais R, Sahai E: Intravital imaging reveals how BRAF inhibition generates drug-tolerant microenvironments with high integrin beta1/FAK signaling, Cancer cell 2015, 27:574-588
17.Goto A, Nakahara I, Yamaguchi T, Kamioka Y, Sumiyama K, Matsuda M, Nakanishi S, Funabiki K: Circuit-dependent striatal PKA and ERK signaling underlies rapid behavioral shift in mating reaction of male mice, Proc Natl Acad Sci U S A 2015, 112:6718-6723
18.Mizuno R, Kamioka Y, Kabashima K, Imajo M, Sumiyama K, Nakasho E, Ito T, Hamazaki Y, Okuchi Y, Sakai Y, Kiyokawa E, Matsuda M: In vivo imaging reveals PKA regulation of ERK activity during neutrophil recruitment to inflamed intestines, J Exp Med 2014, 211:1123-1136
19.Hiratsuka T, Fujita Y, Naoki H, Aoki K, Kamioka Y, Matsuda M: Intercellular propagation of extracellular signal-regulated kinase activation revealed by in vivo imaging of mouse skin, eLife 2015, 4:e05178

# 研究成果報告

平成 27 年度(第 32 回)　特別研究助成
平成 28 年度(第 33 回)　開発研究助成
平成 27 年度(第 32 回)　奨励研究助成
平成 28 年度(第 33 回)　奨励研究助成
平成 27 年度　　調査研究助成

# 平成 27 年度（第 32 回）
# 特別研究助成　研究成果報告

無染色組織診断のための高速ラマン分光顕微鏡の開発研究

（大阪大学大学院工学研究科　准教授　藤田　克昌）

人工 RNA スイッチによる標的生細胞の計測・運命制御技術の開発

（京都大学 iPS 細胞研究所　教授　齊藤　博英）

タンパク質分子活性を実時間で計測する埋植型 FRET 用 CMOS センサーの開発

（京都大学大学院医学研究科　教授　松田　道行）

蛋白質相互作用に基づく細胞内薬物動態解析のための多細胞蛍光相関分光装置の開発研究

（北海道大学大学院先端生命科学研究院　教授　金城　政孝）

高性能なクエンチ解消原理に基づく免疫センサーの選択法に関する研究

（東京工業大学資源化学研究所　教授　上田　宏）

注１　顔写真は研究責任者です。

注２　所属等は助成研究実施時または執筆された当時のものです。

# 無染色組織診断のための高速ラマン分光顕微鏡の開発研究

研究責任者　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　　藤田　克昌

## １．はじめに

ラマン散乱分光法は物質分析の強力な手法として広い分野で利用されている。ラマン散乱分光法により測定される情報は観察対象に含まれる分子や結晶格子の振動の情報であり、それをもとに試料内に含まれる分子や物質の種別を認識できる。しかしながら、ラマン散乱は極めて微弱な光学効果であるため測定に時間がかかり、時間変化を伴う対象や、多くの測定を繰り返す必要がある画像計測にはあまり用いられてこなかった。顕微分析においては微量な試料を測定する必要があるので、ラマン散乱分光を利用した高速観察、画像計測は特に困難であった。

近年、高感度かつ低ノイズの光検出器や微弱な光でも効率良く検出可能な光学デバイスの開発が進み、この微弱なラマン散乱を利用した顕微鏡イメージング技術の道が開けてきた[1)]。我々のグループでは、試料からのラマン散乱スペクトルを並列に検出できるライン照明ラマン散乱顕微鏡を開発し、数分から数十分で細胞レベルの微小な試料の顕微観察を実現した[2)]。ラマン散乱分光法は試料中の分子情報を無標識で与えるため、ラマン散乱顕微鏡を用いて、生きた細胞内の分子を分析し、従来の標識技術では得られなかった細胞状態も可視化できる[3)]。

上記のような分子分析イメージングが可能というラマン散乱顕微鏡の利点は様々な病変の検出、診断に利用できるとして期待が高まっている。従来、細胞診断、組織診には、組織や細胞の固定、目的に合わせた染色、観察、という行程が必要であったが、ラマン散乱による無標識観察を利用して診断行程を短縮し、さらに同時測定される分子組成と形態情報と診断に活用できる。実際、各種癌組織や細胞の無標識診断等について有効であると、研究レベルでは多くの報告がある。しかしながら、微弱なラマン散乱を用いた画像観察は非常に時間がかかるため、多くの試料の観察や、病理切片の様な広視野の観察への応用は困難である。このため医療応用を目的としたラマン散乱スペクトルのデータベースの構築も進んでいない。

## ２．研究内容

本研究ではより高速かつ、広視野なラマン散乱顕微鏡の開発を目的とした。これまで研究責任者らが開発してきたライン照明ラマン散乱顕微鏡を発展させ、その数十倍以上の撮像速度を実現するマルチライン照明ラマン散乱顕微鏡を提案する。研究期間内において、開発するラマン散乱顕微鏡の設計、および試作を行い、実際にポリマー材料、細胞試料、生体組織切片の観察において、

その原理検証、時間分解能の評価を行った。また提案する手法を医療診断に活用した際に必要となるスペクトル解析技術についても検討を行った。

本研究で開発するマルチライン照明ラマン散乱顕微鏡では、試料上の多くの点からのラマン散乱スペクトルを同時検出することで、ラマン散乱の検出による顕微観察を高速化する。同様のアプローチは、これまで我々が開発してきたライン照明ラマン散乱顕微鏡でも用いており、ライン状の照明光により約400点のラマン散乱スペクトルの同時検出を行った。本研究では、この照明ライン数を 20 本程度にまで増やし、かつ１ライン当たりの測定点数を 1000 点とすることで、撮像速度をさらに 50 倍程度高めることができ、ラマン散乱を用いて多くの細胞や生体組織の広い範囲をより高速に観察することが可能になる。

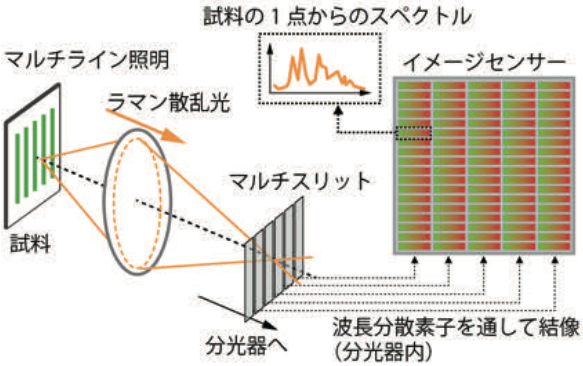



**図1　マルチライン照明による並列ラマン分光測定の原理**

図１に開発したマルチライン照射ラマン散乱顕微鏡の原理を示す [4)-6)]。試料は複数のライン状焦点により照明され、照明部位からのラマン散乱光は分光器上に配置されたスリットにそれぞれ結像される。各スリットから分光器に入射したラマン散乱光は回折格子を用いて波長分解され、イメージセンサーにより検出する。このとき、ラマン散乱スペクトルはイメージセンサー上に２次元的に配列されたデータとして検出される。この２次元のラマン散乱スペクトル並列検出によりラマン散乱観察を高速化できる。

## ３．マルチライン照明ラマン顕微鏡の開発

図２に開発したマルチライン照明ラマン散乱顕微鏡の光学系を示す。光源には波長 532nm の連続発振レーザーを用いた。レーザー光はシリンドリカルレンズアレイを通過し、複数のライン状の光線に分離され、それぞれのライン状光は、結像光学系を通して、試料上に投影され、試料を照明する。照明部位において生じたラマン散乱光は同じ結像光学系を逆向きにたどり、ダイクロイックミラーで分離された後、分光器の入射部に到達する。このとき、分光器の入射スリット（複数のスリットで構成）上に、試料で生じたラマン散乱が結像され、各部位のラマン散乱スペクトルは２次元的に空間分離されてイメージセンサーにより検出される。ガルバノミラーを用いて照明光を走査しながら、この測定を繰り返すことで、２次元のラマン散乱像の構築に必要な、試料各点からラマン散乱スペクトルを測定する。

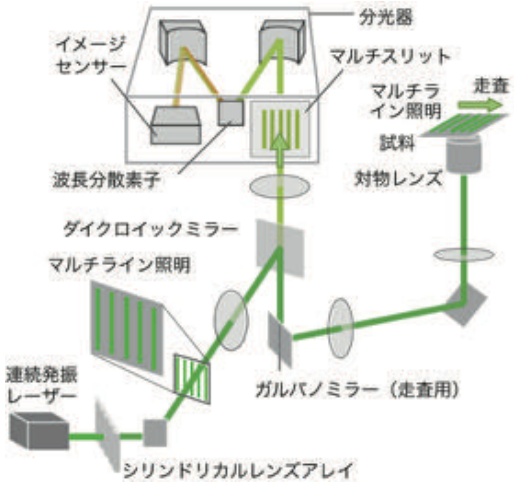



**図2　マルチライン照明を利用したラマン散乱顕微鏡の光学系。**

マルチライン照明によるラマン散乱検出と顕微観察の原理検証のためポリマービーズ試料上へのマルチラインレーザー照明の確認、およびその状態でのラマン散乱スペクトルの検出の確認を行った。図３ａは、直径１μｍのポリスチレンビーズ、および直径 0.8μｍの PMMA ビーズを置いたカバーグラスに作成したマルチライン照明を

与え、同時に透過光源により観察した明視野顕微鏡像を示す。観察視野内において試料界面から反射したレーザー光が確認できる。この状態で分光器のイメージセンサー上で検出されたラマン散乱スペクトルを図３bに示す。図３bの結果から、図１に示したように、試料の各部位からのラマン散乱スペクトルが２次元に配列されていることが確認できる。

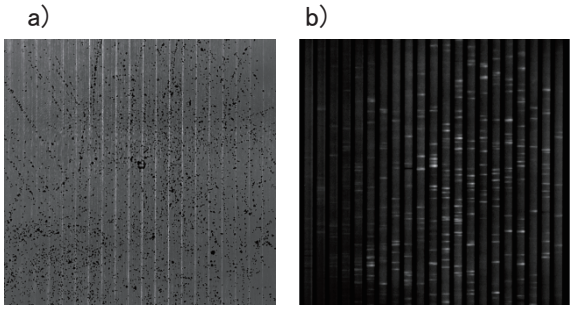



**図３　a)ガラス基板上に置いた直径１μｍのポリスチレンビーズ、および直径0.8μｍのPMMAビーズの明視野観察像。マルチライン焦点により同時に照射されており、ガラス反射面からの照明光の反射光として確認できる。**
**b)マルチライン照明により検出されたラマン散乱スペクトル。イメージセンサー上に2次元的に配置されている。**

図４に、ガルバノミラーにより照明ラインを走査し、各部位において計測したラマン散乱スペクトルを元に構成した顕微観察像を示す。ポリスチレン、およびPMMAに強く表れるラマン散乱強度により画像を構成した。撮像にはNAが0.45、倍率が20倍の対物レンズを用い、合計で2Wのレーザー光により試料を照明した。観察像の画素数および撮像範囲は546×473、および500μｍ×500μｍであり、21本の照明ラインを用いて650秒で測定を終了した。本結果によりマルチライン照明において顕微ラマン像が取得可能であること、また従来法に比べて約20倍の撮像速度の向上が期待できることが確認できた。

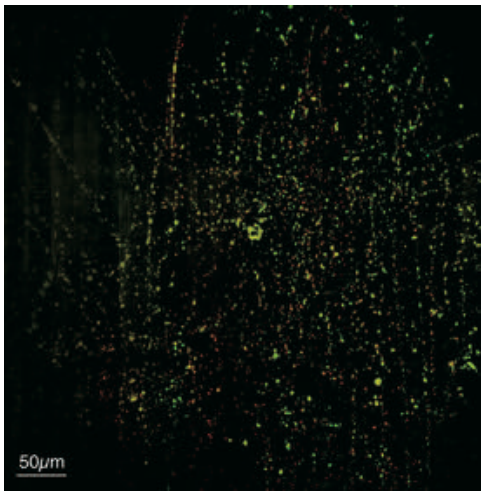



**図４　開発したラマン散乱顕微鏡でのテストサンプルの観察結果。ガラス基板上にあるポリスチレン（直径1μm）、PMMA（直径　0.8μm）をテストサンプルとした。ポリスチレン、およびPMMAに強く表れるラマン散乱強度を、赤、および緑で示した。画素数は546×473。**

## ４．生体試料の観察

開発したマルチライン照明ラマン散乱顕微鏡を用いて、実際に生体試料の観察を行った。図５は、生きたHeLa細胞のラマン散乱観察像であり、CH2 伸縮振動に帰属されるラマン散乱ピークの強度分布を示している。CH2の伸縮振動は脂質分子に比較的多く存在するため、図５の観察像は細胞がもつ脂質分子の空間分布が主にコントラストを作っていると考えられる。この観察では、約900×800 ピクセルの観察像を 200 秒の撮像時間で得ることに成功した。同様の信号対撮像比が得られる条件比較した場合、従来技術で１細胞あたり数分の撮像時間が必要であったが、開発した顕微鏡では１細胞あたり５秒での撮像が可能となった。また、図６は同じ細胞をより低倍率、低開口数の対物レンズを用いて測定した結果である。低開口数のレンズを用いたため一度の露光時間が 10 秒ほどかかるが、約 1000×1000 画素の画像が 10 分程度で撮像されており、200 を超える細胞が観察されている。

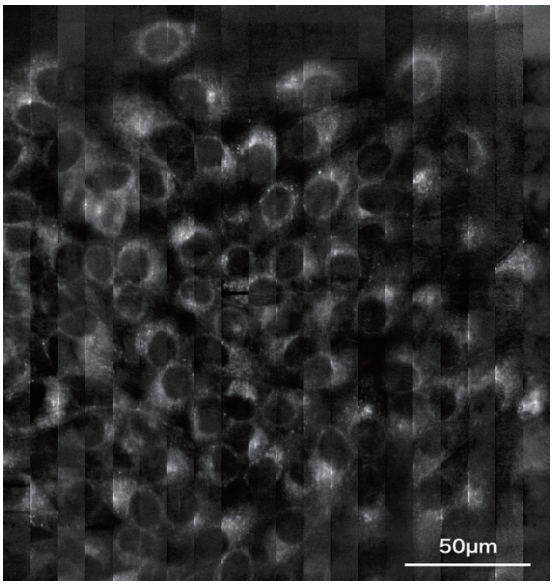



図5　HeLa 細胞のラマン散乱観察像。主に脂質分子に多くみられる CH 2 伸縮振動(2850cm -1)のラマン散乱により画像を構築。照明ライン数は 20、撮像時間は 200 秒であった。撮像領域、および画像の画素数は、それぞれ 240μm×230μm、および 876×800。1 細胞当たり数秒の観察時間に相当。40 倍、NA1.2 の対物レンズを用いて観察。

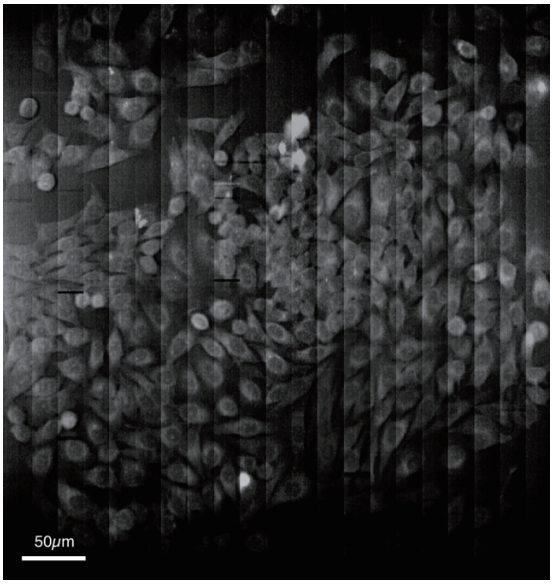



図6　HeLa 細胞のラマン散乱。CH 2 伸縮振動のラマン散乱により画像を構築。照明ライン数は 20、撮像時間は 765 秒であった。撮像領域、および画像の画素数は、それぞれ 500μm×500μm、および 1071×966。20 倍、NA0.45 の対物レンズを用いて観察。

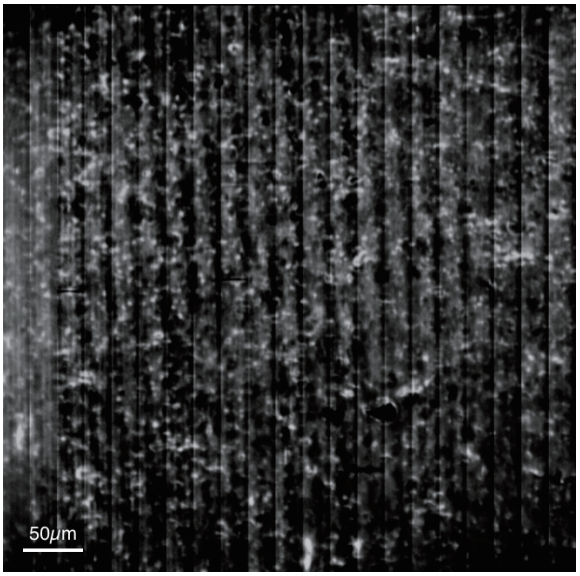



図7　マウス脳組織のラマン観察像。CH 2 伸縮振動(2850cm -1)のラマン散乱により画像を構築。照明ライン数は 21、撮像時間は約 20 分であった。撮像領域、および画像の画素数は、それぞれ 530μm×530μm、および 1071×966。20 倍、NA 0.45 の対物レンズを用いて観察。

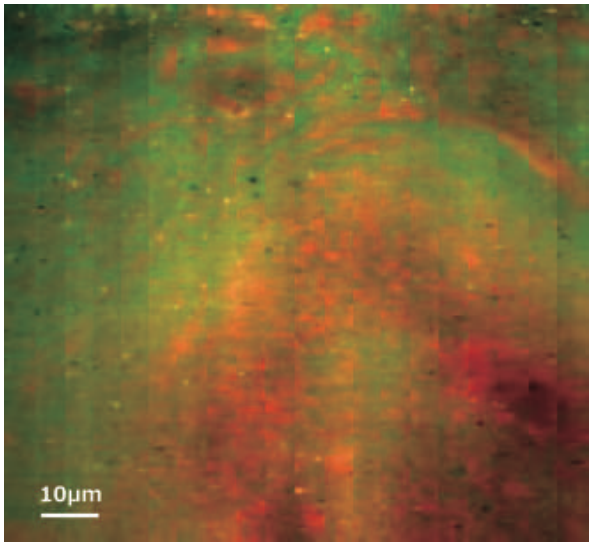



図8　ラット脚部の皮下組織のラマン観察像。CH2 伸縮振動(2840cm -1、赤)、CH3 伸縮振動(2930cm -1、緑)のラマン散乱により画像を構築。照明ライン数は 20、撮像時間は約 3 分であった。撮像領域、および画像の画素数は、それぞれ 530μm×530μm、および 200×240。40 倍、NA1.25 の対物レンズを用いて観察。

生体組織の診断に向け、マルチライン照明ラマン散乱顕微鏡を用いた組織切片の観察も試みた。図７にマウス脳組織の観察像を示す。図７では、CH2 伸縮振動のラマン散乱光により画像を構築した。CH2 伸縮振動は脂質分子に多く含まれるため、図７は脳組織内の脂質の濃度分布を主に示していると考えられる。脳組織内の脂肪蓄積と脳疾患との関連も報告されており、今後、開発した装置を脳疾患の基礎研究に役立てていく。なお、本実験は、大阪大学薬学研究科動物実験委員会（承認番号：動薬 28-1）の承認を得ており、関連法令に加えて、科学的、動物愛護、環境保全、安全確保の観点からも十分に考慮して遂行した。

また図８はマウス皮膚組織をマルチライン照明ラマン散乱顕微鏡により観察した結果である。赤、緑はそれぞれ 2850cm-1、および 2930 cm-1 のラマン散乱光の生じた部位を示しており、それぞれ、脂質分子、およびタンパク質の分布により皮膚の組織構造が観察される。現在、癌モデルマウスを用いて同様の測定を行っており、ラマン散乱により得られた組織の観察像を比較することで、組織内の癌の無標識検出、ラマン散乱を用いた癌診断補助の可能性について検討している。なお、本実験は、京都府立医科大学動物実験委員会の承認を得た計画（承認番号 M29-569）に沿って、京都府立医科大学動物実験規程と関連法令を遵守して行った。

## ５．組織診断に適した検出波数域の選択

本研究で開発したマルチライン照明ラマン散乱顕微鏡では、イメージセンサー上に２次元的にラマン散乱スペクトルを配置することにより撮像速度を向上するため、従来のラマン散乱顕微鏡に比べて、検出されるスペクトル当たりの画素数が少なくなり、測定されるスペクトル情報が少なくなってしまう。この情報量の低下が病理診断等での分析力の低下を招く可能性がある。しかしながら、診断において常に広い波数領域のラマン散乱が必要とは限らず、逆に、病変の特徴を示す波数域に限定して測定と解析を行う方が、より高速かつ正しい診断結果に繋がる可能性がある。

そこで、本研究では、癌細胞および非癌細胞の主成分分析を利用した判別解析を、異なる波数域、波数幅において行うことで、細胞診に最適な波数域の有無を確認した。

図９にラマン散乱顕微鏡により観察した甲状腺癌/甲状腺上皮（非癌）細胞、および乳腺癌/乳腺上皮（非癌）細胞を示す。図９c,f はそれぞれの細胞の細胞質から得られた平均のラマン散乱スペクトルである。測定されたスペクトル形状の違いを主成分分析により解析することにより、癌/非癌の判別を試みた。

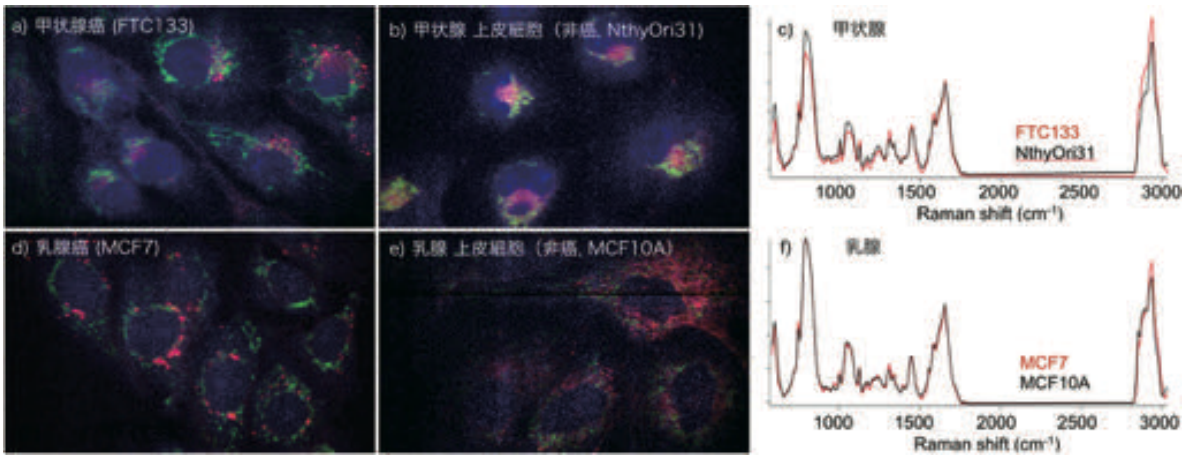



**図９　ラマン散乱顕微鏡により観察した a)甲状腺癌/b)甲状腺上皮（非癌）細胞、および d)乳腺癌/e)乳腺上皮（非癌）細胞。赤、緑、青はそれぞれ脂質（CH2 伸縮振動）、チトクローム *c*、タンパク質（アミドⅠバンド）の分布を主に示している。c)、f)は細胞質の平均スペクトル。**

まず、解析波数領域を指紋領域(700-1700 cm-1)、高波数領域（CH 伸縮振動が見られる領域、 2800-3100 cm-1)のうち、細胞を培養した石英基板のスペクトルを除いた領域を対象に解析を行った。その結果を図 10 に示す。図 10a では甲状腺細胞の測定結果の第 1 および第 2 主成分のローディングベクトルを示しており、それらのスコアプロットを図 10b に示す。この解析結果に線形判別分析を施して分別した結果、高い正確度で癌 /非癌を分別することができた。同様の解析を乳腺細胞の測定結果に適用した結果を図 10c、d に示す。乳腺細胞でも高い正確度で癌 /非癌を分別することができた。

上記と同様、もしくは、より良い結果が、より狭い波数域の解析でも得られるかを確認した。指紋領域、高波数領域において100-200cm-1程度の幅のスペクトルを切り出し、主成分分析と判別分析を試みた。例として図 11 に、波数域 1386-1488cm-1に限定して解析を行った結果を示した。どちらの細胞においても、良好な判別結果が得られている。

異なる波数領域の解析を行った結果を表 1 にまとめた。この解析から、解析を行う波数で結果が大きく異なること、また適切な波数領域を選択すれば、広い領域を解析するよりも良好な結果が得られることが分かる。

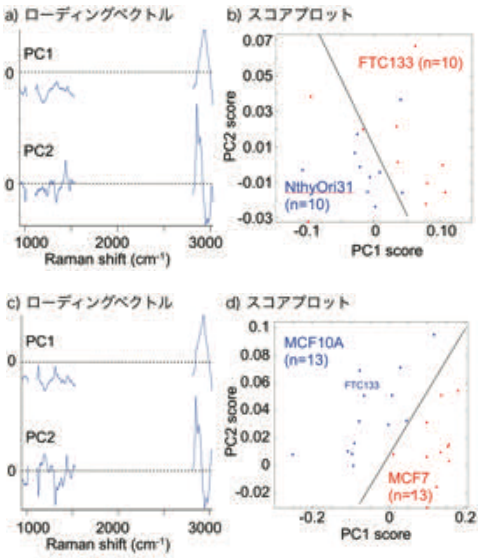



図 10　広い波数域を用いた場合の解析結果。

左記の解析結果から、診断の対象にあわせて適切な波数域を限定して計測し、その結果を解析すれば、十分な診断精度が得られることが示唆された。開発したマルチライン照明ラマン散乱顕微鏡では、200cm-1 程度の幅のラマン散乱スペクトルを取得するが、このスペクトル領域を測定するだけでも十分な診断が期待できる。

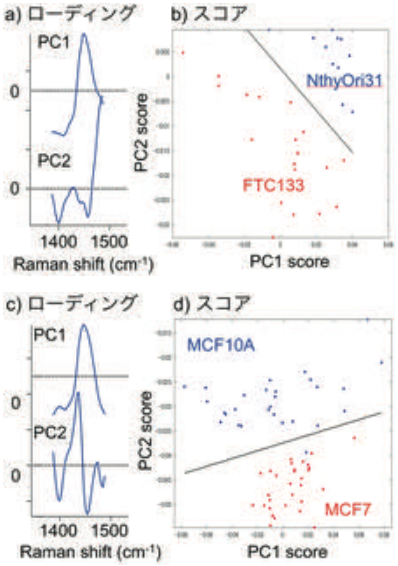



図 11　波数域を限定した場合の解析結果。

表 1 解析波数域とその評価結果

| | 甲状腺 | | | 乳腺 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 波数域 | 感度 | 特異 | 正確 | 感度 | 特異 | 正確 |
| 指紋+高波数 | 84.2 | 81.8 | 83.3 | 96.7 | 92.9 | 94.8 |
| 指紋 | 94.7 | 100 | 96.7 | 96.7 | 85.7 | 91.4 |
| 951-1019 | 78.9 | 36.4 | 63.3 | 80 | 78.6 | 79.3 |
| 1110-1215 | 89.5 | 90.9 | 90 | 90 | 92.9 | 91.4 |
| 1145-1249 | 89.5 | 90.9 | 90 | 96.7 | 89.3 | 91.4 |
| 1180-1284 | 89.5 | 72.7 | 83.3 | 93.3 | 92.9 | 93.1 |
| 1215-1318 | 84.2 | 9.09 | 56.7 | 96.7 | 100 | 98.3 |
| 1249-1352 | 84.2 | 63.6 | 76.7 | 96.7 | 96.4 | 96.6 |
| 1284-1386 | 84.2 | 45.5 | 70 | 96.7 | 96.4 | 96.6 |
| 1318-1420 | 78.9 | 81.8 | 80 | 96.7 | 92.9 | 94.8 |
| 1352-1454 | 84.2 | 81.8 | 83.3 | 100 | 92.9 | 96.6 |
| 1386-1488 | 100 | 100 | 100 | 100 | 96.4 | 98.3 |
| 1420-1521 | 100 | 100 | 100 | 100 | 96.4 | 98.3 |
| 1110-1318 | 89.5 | 81.8 | 86.7 | 96.7 | 96.4 | 96.6 |
| 1145-1352 | 94.7 | 90.9 | 93.3 | 96.7 | 100 | 98.3 |
| 1180-1386 | 100 | 81.8 | 93.3 | 96.7 | 85.7 | 91.4 |
| 1215-1420 | 100 | 81.8 | 93.3 | 96.7 | 85.7 | 89.7 |
| 1249-1454 | 94.7 | 100 | 96.7 | 100 | 96.4 | 98.3 |
| 1284-1488 | 89.5 | 100 | 93.3 | 100 | 96.4 | 98.3 |
| 1318-1521 | 94.7 | 100 | 96.7 | 100 | 92.9 | 96.6 |

## ６．まとめ

本研究では、ラマン散乱による高速イメージングを可能とするために新たにマルチライ照明法を提案し、実際にその照明法を組み込んだラマン散乱顕微鏡を設計、試作することにより、その有用性を検証した。ポリマー試料、および癌細胞、皮膚組織、脳組織の観察を開発したラマン散乱顕微鏡により観察することにより、従来技術に比べて数十倍の高速撮像に成功した。現在は開発したラマン顕微鏡を用いて病変組織の観察と、得られたラマン散乱スペクトルの解析を進めている。現時点では組織観察に 10～20 分程度の時間がかかっている。これは、対物レンズの光損傷を避けるために光強度を 2W に制限し、信号強度を十分に大きくできなかったためである。試料上での光密度は試料を損傷する程度ではなく、レーザー光源の強度も十分にあるため、反射対物レンズ等、光損傷閾値の高いレンズを用いてより高速なラマン観察を行う予定である。

また、高速診断に向けた撮像条件の最適化の検討も行った。具体例として癌細胞の診断を目的とし、ラマン散乱顕微鏡で観察された甲状腺細胞、および乳腺細胞のラマン散乱スペクトルを解析した。その結果、広い波数領域でのラマン散乱スペクトルを用いた解析よりも、波数領域を限定して解析を行った場合の方が、感度、特異度、正確度の全てにおいて有利である結果が示された。この結果は、計測するラマン散乱のスペクトル点数を制限しても、診断結果に悪影響を与えないことが示唆されており、今後、ラマン散乱分光法を用いた病理診断技術の発展に寄与すると期待できる。

## 謝辞

本研究の遂行のために多大なサポートをいただいた公益財団法人中谷医工計測技術振興財団様に心より感謝いたします。また、観察試料の提供をいただいた、田中秀央先生（京都府立医大）、原田義規先生（京都府立医大）、橋本均先生（大阪大学）、笠井淳司先生（大阪大学）、測定およびデータ解析にご協力頂いた熊本康昭先生（京都府立医大）、安藤潤先生（自然科学研究機構）、望月健太郎博士（大阪大学）、前田俊輔君（大阪大学）に感謝いたします。

## 参考文献および発表論文

1) A. F. Palonpon, J. Ando, H. Yamakoshi, K. Dodo, M. Sodeoka, S. Kawata, K. Fujita, "Raman and SERS microscopy for molecular imaging of live cells," Nat. Protocols, 8, 3, 677.692 (2013).

2) M. Okada, N. I. Smith, A. F. Palonpon, H. Endo, S. Kawata, M. Sodeoka, K. Fujita, "Label-free Raman observation of cytochrome c dynamics during apoptosis," Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 109, 1, 28-32 (2012).

3) L.-d. Chiu, T. Ichimura, T. Sekiya, H. Machiyama, T. Watanabe, H. Fujita, T. Ozawa, K. Fujita, “Protein expression guided chemical profiling of living cells by hybrid fluorescence-Raman microscopy,” Sci. Rep. 7: 43569 (2017).

4) 特願 2017-020786

5) K. Mochizuki, S. Maeda, T. Lee, N. I. Smith, K. Fujita, "Acceleration of Raman imaging rate by multi-line illumination," SPIE Photonics West (30 January 2018, San Francisco).

6) 前田俊輔, 望月健太郎, 田沼将人, 熊本康昭, 橋本剛佑，笠井淳司，原田義規，橋本均，田中秀央, Nicholas Isaac Smith, 藤田克昌, "マルチライン照明ラマン顕微鏡を用いた生体試料の高速ラマンイメージング，"第 65 回応用物理学会春季学術講演会（2018 年 3 月 19 日東京).

# 人工 RNA スイッチによる標的生細胞の計測･運命制御技術の開発

研究責任者　京都大学　iPS 細胞研究所
未来生命開拓部門
教　授　　齊藤　博英

## １．はじめに

生体分子や生命システムを新たにデザインし、生命現象の解明と生命を自由に操作するシンセティックバイオロジー(合成生物学)研究が、ヒト細胞の分野へ急速に拡大している。例えば、人工的に構築された遺伝子回路により、すい臓と同等の機能を持つ細胞 [1]やがん細胞を特異的に攻撃する細胞 [2]をデザインすることができるようになってきている。しかしながらこれらのデザインされた細胞は遺伝子工学の技術によりゲノムに外来の遺伝子を導入し改変しており、がん化や外来遺伝子の拡散などへの懸念が存在する。合成生物学の成果をヒト細胞における分化やがん治療に直接応用するためには、ゲノム DNA への組換えの心配のない安全な手法を確立することが必要である。

また、ゲノムへの挿入のリスクへの対処以外に、がん細胞などの細胞を識別し標的細胞でのみ機能するシステムも、複数の細胞が混在する分化過程や *in vivo* の環境下においては必要不可欠である。

これらの問題に対して、ヒト細胞内に存在するマイクロ RNA(miRNA)やタンパク質に依存して遺伝子の発現が制御される mRNA(RNA スイッチ)は、DNA のゲノムへの挿入のリスクがなく、細胞特有の miRNA やタンパク質を指標として細胞を識別可能であり、医療応用に適している [3]。本研究では、標的細胞内で活性化している特有の miRNA を指標として、標的の細胞（未分化細胞やがん細胞など）を死滅させる人工的な RNA スイッチの創出を目指した。さらに、この人工スイッチを利用することで、さまざまな細胞種を識別し、特定の細胞を除去、あるいは純化するシステムの構築を実施した。本技術は、再生医療に資する細胞を作製する技術に役立つことが期待できる。

## ２．RNA のスイッチの原理

RNA スイッチは細胞内に存在する miRNA やタンパク質と相互作用する RNA 配列をもつ人工的にデザインされた mRNA である。この RNA スイッチを DNA の形態、あるいは *in vitro* で転写した合成 mRNA の形態で細胞に導入すると、標的細胞特有のタンパク質や miRNA が RNA スイッチに結合または RNA スイッチを分解し、コードしている出力タンパク質(蛍光タンパク質など)の翻訳量が減少するため、細胞を識別することができる。この手法は、miRNA やタンパク質と相互作用する RNA 配列と出力タンパク質の組み合わせを任意に選ぶことが可能であるため、細胞内

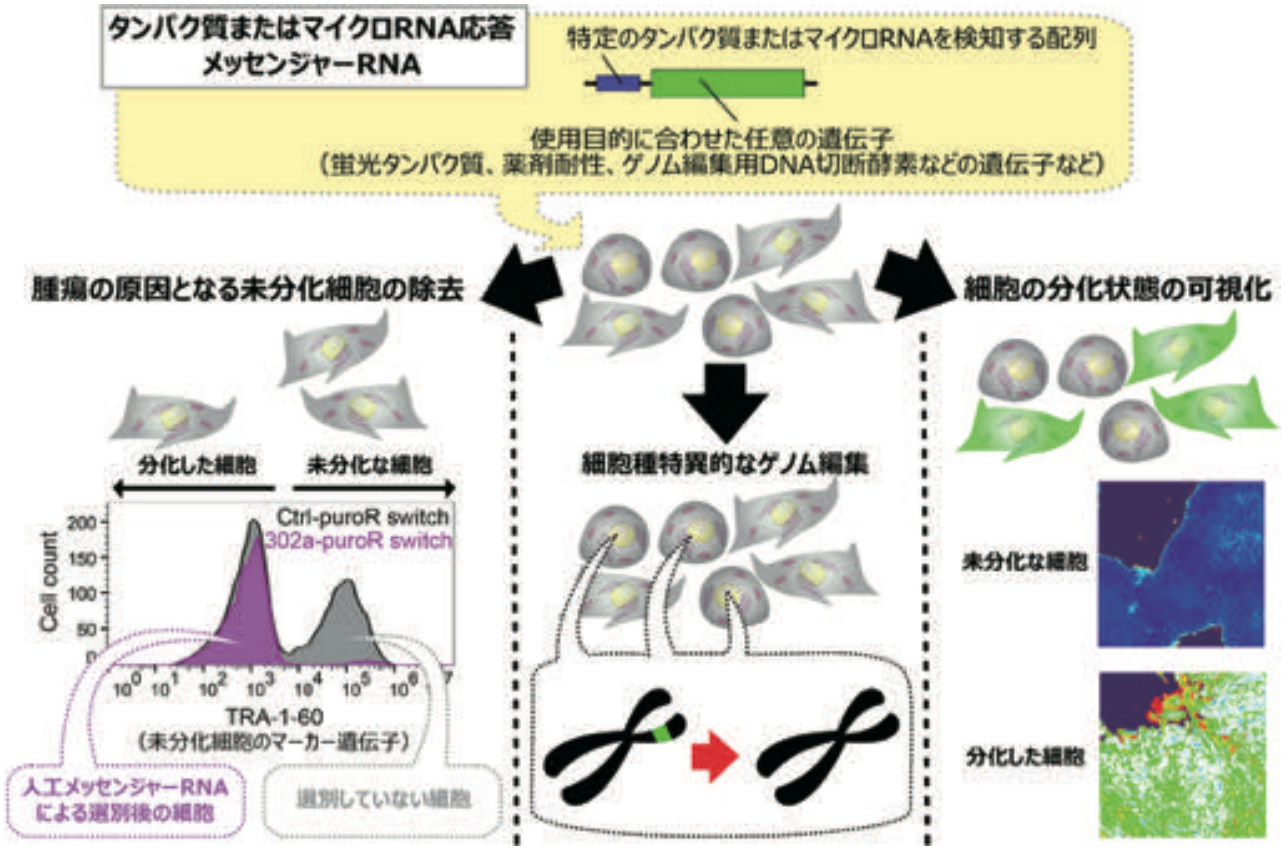



図1　本研究で達成した人工 RNA スイッチによる細胞制御の例

に 2000 種類以上存在するといわれる miRNA(個々の miRNA は miR-24-3p のように番号が付けられている)や RNA と結合するタンパク質の中から特定の分子に対する RNA スイッチを容易に作製することが可能である。加えて、出力タンパク質にも制限はなく、蛍光タンパク質による細胞識別や、細胞死誘導遺伝子 [4]や抗生物質耐性遺伝子による細胞選別、CRISPR/Cas9 システムによる細胞種特異的なゲノム編集など幅広い応用が可能である（図１）。

## ３．実験方法及び成果

### 3.1　miRNA による高精度細胞識別技術の開発

細胞内の miRNA の活性のプロファイルは細胞毎に異なるため、蛍光タンパク質を出力とする miRNA に応答する RNA スイッチをデザインすることで、細胞の種類を可視化、分離することが可能である。しかし、mRNA から発現する蛍光タンパク質の量は同一の細胞種でも個々の細胞の状態や RNA 導入量により幅広い分布をとるため、miRNA 活性の高い細胞と活性の低い細胞の蛍光強度の分布が重なることがあり、精密な分離を行うことが難しい。この問題に対し、我々はスイッチ RNA と同時にリファレンスとなる別の蛍光タンパク質を発現する mRNA を導入した。スイッチ RNA からの蛍光タンパク質 と、リファレンスとなる RNA からの蛍光タンパク質の蛍光の比をとることで個々の細胞の翻訳活性の変動を補正し、細胞の高精度な分離を可能にしてきた [3]。

この手法を発展させると、miRNA の活性が似通った細胞同士であっても、複数の miRNA 応答の RNA スイッチ同士の蛍光比を指標に分離が可能であると考えた（図２）。この考えに基づき、HeLa、293FT、MCF-7 の 3 種類の細胞に、それぞれ異なる蛍光タンパク質(hmAG1、hmKO2、tagBFP)を出力する miR-24-3p、miR-127-3p、

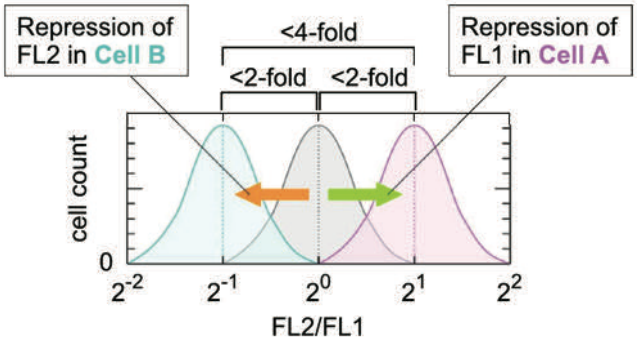



**図2　蛍光の変化が 2 倍程度のスイッチでも同時に導入し、比を取ることで $2^2$ 倍の変化として検出することができる。**

miR-17-5 応答 RNA スイッチを導入し、蛍光をフローサイトメーターで解析した。各々の miRNA スイッチでは細胞分離に十分な蛍光変化が得られないが、蛍光比を指標とすることで活性の似通った細胞を高解像度に分離できることが明らかとなった（図３）[5]。

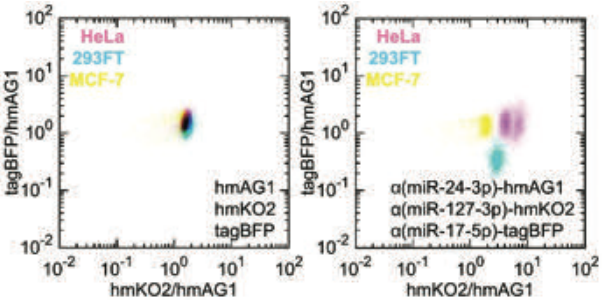



**図3　細胞間で翻訳抑制能にほとんど差がないmiRNA を用いた、3 種類の細胞の分離。左は通常の mRNA で右が複数の miRNA 応答性スイッチを用いた場合。**

これまでの miRNA 応答スイッチは mRNA の形で導入してきたが、mRNA はゲノムへの組換えの危険が低く安全性が高い反面、半減期が短いため細胞内の miRNA の活性の変化、すなわち細胞の変化を継続的に観察することは困難であった。この問題に対し、ゲノムへ組み込むことで細胞分化過程の細胞の変化を長期間継続的に観察可能なシステムも構築した。miRNA の活性を正確に追跡するためには、リファレンスと miRNA に応答する RNA スイッチの転写量が正確に一定であることが重要であるため、1 つのプロモーターから転写されたスイッチとリファレンスのハイブリッド RNA を、細胞内の RNaseP/Z により分割する手法を開発した。この手法を用い、miR-302a-5p（細胞の未分化マーカーとして利用可能な miRNA）の相補配列を導入した RNA スイッチをゲノムに挿入した iPS 細胞を作製し、分化誘導中の蛍光を観察した。細胞をスイッチの蛍光タンパク質とリファレンスの蛍光タンパク質の蛍光強度比で表示することで、細胞が徐々に分化していく過程を 1 細胞レベルで経時的に追跡できた（図４）[6]。

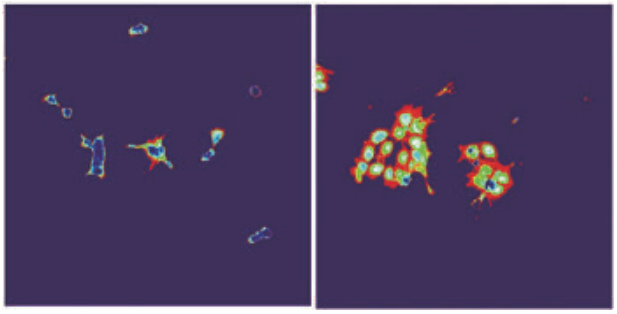


**図4（左)分化前の細胞.（右)分化 14 日目の細胞**

### 3. 2　細胞種特異的な自動的な細胞死誘導

蛍光タンパク質による細胞識別技術は細胞移植の前段階において異常な細胞やがん化した細胞を標識しセルソーターで除去できる。例えば、iPS 細胞から作製した神経細胞をマウスに移植すると、未分化な iPS 細胞が混入した場合、腫瘍が形成される可能性がある。ところが、移植前に miR-302a 応答のスイッチにより miR-302a 活性の高い細胞を除去しマウスに移植すると、 腫瘍を全く形成しなくなることが確認された [7]。

しかし、*in vivo* や組織培養などでは、セルソーターを用いることができない。そこで、スイッチの出力を抗生物質耐性遺伝子(puromycin 耐性遺伝子)に交換することで、標的細胞を死滅できる RNA スイッチを開発した。この RNA スイッチを細胞へ導入し、同時に puromycin を培地に添加した。その結果、miR-302a 活性が高い未分化細

胞では puromycin 耐性遺伝子の発現が抑制され、puromycin で未分化細胞を除去することに成功した（図５）[7]。また、後述する Cas9 をコードする miRNA 応答型 RNA スイッチを用いて、染色体上の Alu 配列を切断することで、薬剤などを用いずに細胞種特異的な細胞死を起こすことにも成功している [8]。

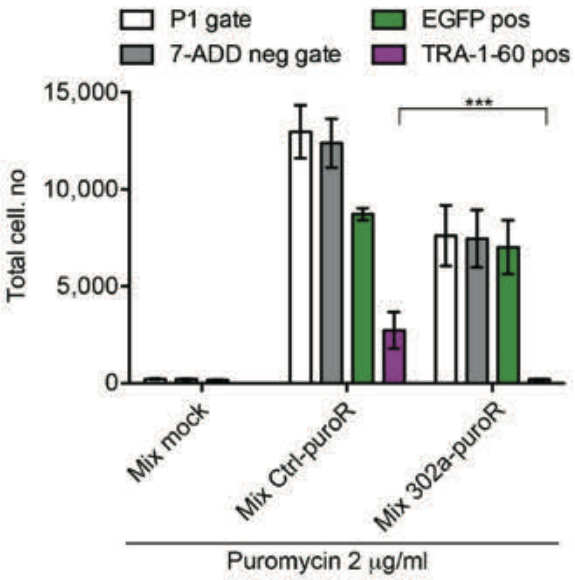



**図５　puromycin 耐性遺伝子をコードする miR-302a 応答スイッチによる iPS 細胞の除去。iPS 細胞の表面マーカーである TRA-1-60 ポジティブの細胞(紫)が除去されていることがわかる。**

### 3.3　内在タンパク質による細胞識別技術の開発

タンパク質は遺伝子の最終生産物であり、miRNA よりも下流で細胞の機能や種類と直結して規定しているため、細胞の種類を識別する指標の候補である。そのため、細胞内のタンパク質を検出して任意のタンパク質を出力する RNA デバイスは細胞の種類を厳密に判定できると考えられる。すでに述べたように、miRNA の相補配列の変わりにタンパク質と相互作用する RNA モチーフを挿入することで、タンパク質に応答する RNA スイッチの作製も可能である。未分化細胞マーカーの１つである Lin28A は let7 ファミリー等の pre-miRNA に結合して miRNA の成熟を制御しており、細胞の分化が進むと発現量が減少することが知られている。そこで、RNA スイッチにある miRNA の相補配列の代わりに、Lin28A に対するアプタマー(特定の分子に結合する RNA 分子)を挿入し、Lin28A を指標として細胞の分化を識別可能かどうか検討した。蛍光タンパク質である hmAG1 をコードした mRNA の 5'UTR にステムにより構造を安定化させた Lin28A に対するアプタマーを挿入し RNA スイッチを作製した。この RNA スイッチを、別の蛍光タンパク質である hmKO2 をコードしたリファレンス RNA とともに iPS 細胞と bFGF を含まない培地で自発的に分化させた細胞に導入したのち、フローサイトメーターで蛍光を測定した。ウェスタンブロッティ

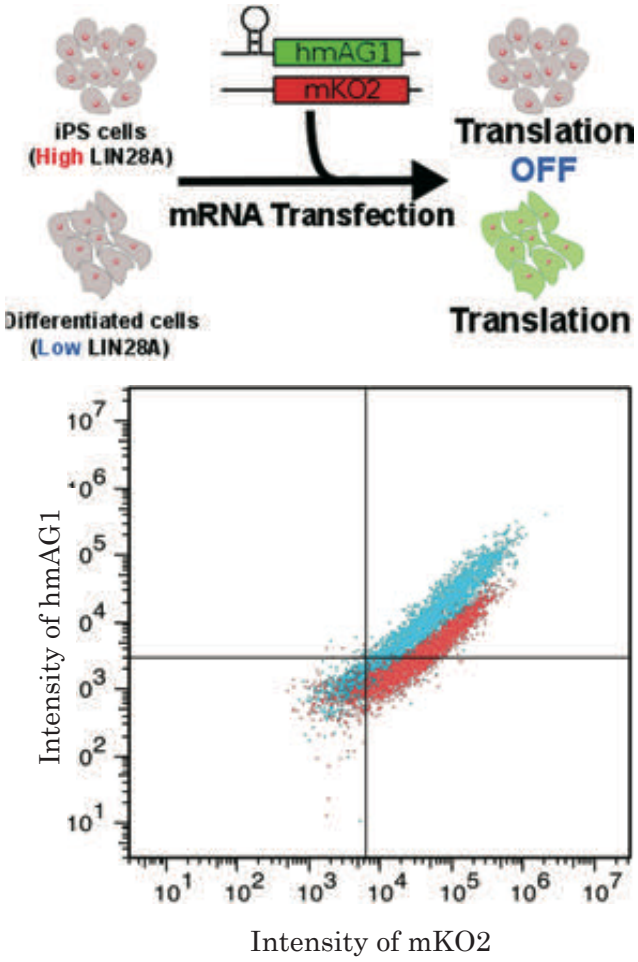



**図６　タンパク質(Lin28A)を指標とした細胞識別。2 次元プロットの赤が iPS 細胞、水色が分化細胞。**

ングにより 14 日間分化させた細胞では Lin28A の発現量の減少が確認され、Lin28A の減少に依存してスイッチからの hmAG1 の発現が増加した。この変化はフローサイトメーターのプロット上で未分化の iPS 細胞と十分に分離できる程度であり、タンパク質を指標として細胞種を識別することに成功した（図６）[9]。

### 3.4　派生関連技術の開発

本研究で確立した RNA スイッチ技術は主に細胞識別と細胞死に用いてきたが、出力遺伝子を Cas9 に変更することで細胞特異的なゲノム編集も可能であると考えた。そこで、GFP を恒常的に発現する HeLa 細胞と iPS 細胞の共培養系に、miR-302a 応答型の Cas9 発現 RNA スイッチと GFP をターゲットとしたガイド RNA をトランスフェクションし、GFP の蛍光で Cas9 の活性を評価した。その結果、Cas9 スイッチ RNA を導入したウェルでは、iPS 細胞は Cas9 の発現が抑えられ GFP が発現し続けた。一方で、HeLa 細胞は Cas9 による GFP のノックアウトが観察され、蛍光を失った細胞が多数観察された（図７）[8]。

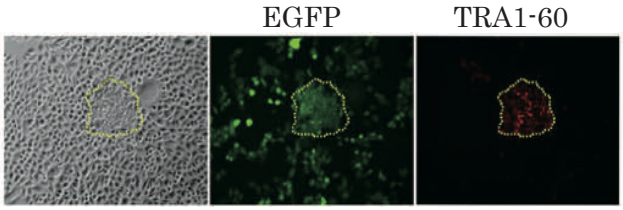



**図7　HeLa 細胞と iPS 細胞の共培養系における細胞特異的 EGFP ノックアウト。破線で囲った領域が iPS 細胞。囲った以外の部分で EGFP がノックアウトされた HeLa 細胞が多数観察された。**

## ４．まとめ

iPS 細胞は神経細胞や心筋細胞など様々な細胞種へと分化する能力を有しており、再生医療や薬効評価では目的の細胞種へと分化させたものを用いる。そのためには、目的の細胞とその他の細胞の判別や、不要な細胞の選択的除去など、細胞の種類を見分けてそれに応じた運命制御を行う技術が必要である。当研究室ではこれを実現するため、細胞種による細胞内環境の差異を検知し、それに基づき異なる反応を返すシステムを開発してきた。

例えば、細胞種特異的マイクロ RNA に応答して導入遺伝子の発現を変化させる DNA やメッセンジャーRNA である。これらは、マイクロ RNA と呼ばれる小分子 RNA の活性が細胞種によって異なることを利用している。こうしたシステムを用いることで、分化状態に応じた蛍光タンパク質発現変化により分化過程を可視化したり、あるいは特定の細胞種でのみゲノムを編集したりすることができる。

マイクロ RNA のみならず、特定のタンパク質を検知して蛍光を変化させるメッセンジャー RNA も開発しており、これもまた標的細胞の選別を可能にする。また、特定のタンパク質存在下で選択的に細胞死を引き起こすペプチド [10]や RNA/タンパク質複合体などの開発にも成功している [11]。

これらの技術を用いた細胞状態の可視化や細胞機能の制御は、分化過程などの生命現象の解明に有用であり、また、不要な細胞の除去は、より安全な細胞移植、より正確な薬効評価の実現に繋がると期待できる。

### 謝辞

本研究は財団法人中谷医工計測技術振興財団より研究助成をいただきました。研究助成及び財団の関係者の皆様に厚くお礼申し上げます。

## 参考文献および発表論文


1. Chen, Z. *et al.*, Synthetic beta cells for fusion-mediated dynamic insulin secretion. *Nature chemical biology* **14** (1), 86-93 (2018).
2. Lim, W. A. & June, C. H., The Principles of Engineering Immune Cells to Treat Cancer. *Cell* **168** (4), 724-740 (2017).
3. Miki, K. *et al.*, Efficient Detection and Purification of Cell Populations Using Synthetic MicroRNA Switches. *Cell Stem Cell* **16**, 699-711 (2015).
4. Wroblewska, L. *et al.*, Mammalian synthetic circuits with RNA binding proteins for RNA-only delivery. *Nat. Biotechnol.* **33**, 839-841 (2015).
5. Endo, K., Hayashi, K. & Saito, H., High-resolution Identification and Separation of Living Cell Types by Multiple microRNA-responsive Synthetic mRNAs. *Sci. Rep.* **6**, 21991 (2016).
6. Nakanishi, H. *et al.*, Monitoring and visualizing microRNA dynamics during live cell differentiation using microRNA-responsive non-viral reporter vectors. *Biomaterials* **128**, 121-135 (2017).
7. Parr, C. J. C. *et al.*, MicroRNA-302 switch to identify and eliminate undifferentiated human pluripotent stem cells. *Sci. Rep.* **6**, 32532 (2016).
8. Hirosawa, M. *et al.*, Cell-type-specific genome editing with a microRNA-responsive CRISPR-Cas9 switch. *Nucleic Acids Res.* **45** (13), e118 (2017).
9. Kawasaki, S., Fujita, Y., Nagaike, T., Tomita, K. & Saito, H., Synthetic mRNA devices that detect endogenous proteins and distinguish mammalian cells. Nucleic Acids Res. 45 (12), e117 (2017).
10. Kuang, Y. *et al.*, Efficient, Selective Removal of Human Pluripotent Stem Cells via Ecto-Alkaline Phosphatase-Mediated Aggregation of Synthetic Peptides. *Cell chemical biology* **24** (6), 685-694.e4 (2017).
11. Shibata, T. *et al.*, Protein-driven RNA nanostructured devices that function in vitro and control mammalian cell fate. *Nat. Commun.* **8** (1), 540 (2017).

# タンパク質分子活性を実時間で計測する埋植型 FRET 用 CMOS センサーの開発

研究責任者　京都大学　大学院医学研究科
病態生物医学分野
教　授　　松田　道行
共同研究者　奈良先端大学院　物質創成科学研究科
光機能素子科学研究室
教　授　　太田　淳

## 1．はじめに

現代生物学を分子生物学が牽引してきたことは衆目の一致する事実である。この過程で様々なタンパク質分子の活性が生化学的手法により計測されてきた。しかし、いまや二次元培養細胞から三次元培養へ、さらには個体レベルへと研究の次元は移りつつあり、イメージングを用いた研究の比重が高まりつつある。この潮流の中でフェルスター共鳴エネルギー移動（Förster resonance energy transfer）の原理に基づくバイオセンサーが細胞内で情報伝達分子活性をイメージングできるツールとして広く使われ始めている（図１）[1]。

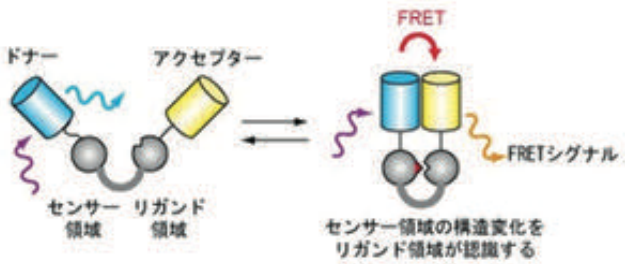



**図１　フェルスター共鳴エネルギー移動の原理に基づくバイオセンサー**

生物学分野で使われるフェルスター共鳴エネルギー移動には二種類あり、蛍光分子をエネルギーのドナーとするものを蛍光共鳴エネルギー移動（fluorescence energy transfer、以下 FRET と略す）、発光分子をドナーとするものを生物発光共鳴エネルギー移動と呼んでいる（Bioluminescence energy transfer、BRET）[2)-6)]。この FRET バイオセンサーと BRET バイオセンサーには一長一短がある。FRET バイオセンサーは顕微鏡で用いることを前提としており、高い解像度を利して、細胞内の様々な分子活性の時空間変化を解析するために広く用いられているが [4),6)]、臓器等の不均一な細胞集団において、広く平均的な情報を集めることは難しい。一方、BRET バイオセンサーはバックグランドがほとんど無く、薬剤スクリーニングなどに用いられるが [2),7),8)]、個々の細胞が発する発光量は小さく、顕微鏡下に細胞個々の多様性などを観察するには向いていない。

これまでの生物学分野の研究では、安定発現ができることやトランスジェニック動物の作製が可能であることを背景に、遺伝子にコードされる FRET バイオセンサーが多く開発されてきた。我々の研究室では、低分子量 GTP 結合タンパク質 [9),10)] やタンパク質リン酸化酵素の FRET バイオセンサー [11)] を多数開発し、それらを発現するマウスを多光子顕微鏡で観察することで、生きたマウ

スの臓器内で分子活性が変化する様子をリアルタイムに観察することに成功している[12)-14)]。

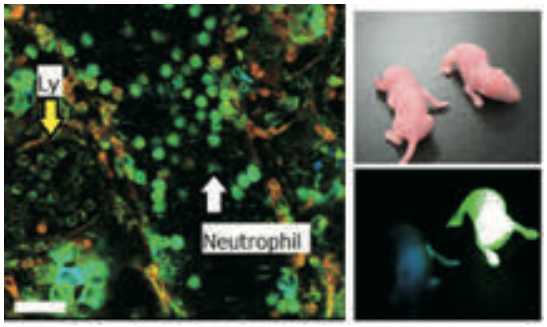



**図2　FRET バイオセンサーを発現するトランスジェニックマウス（右）と、その腸管の多光子顕微鏡画像（左）。**

FRET バイオセンサーと BRET バイオセンサーの構造上の違いは、本質的にはドナー分子の違いだけである。しかし、FRET は、ドナーとアクセプターが近接すると同時に、その両分子の電気双極子の配向に依存するため、単純な入れ替えでは通常はうまくいかない。一方、近年、蛍光タンパク質に発光タンパク質を融合することで、発光タンパク質の量子高率を上昇させる技術が報告されている[15),16)]。我々はこのことに着目して、既存の FRET バイオセンサーを発光センサーに変換する方法を開発した。そして、この発光観察ができるようになったバイオセンサーを観察するための CMOS センサーを開発した。最後に、バイオセンサー発現トランスジェニックマウスにおいて、CMOS を埋植し、代謝制御酵素である AMPK の活性を測定した。

## ２．蛍光・発光ハイブリット型フェルスター共鳴エネルギーバイオセンサーの開発

【目的】FRET バイオセンサーを発光で用いることができるように改変する技術を確立する。

【方法と結果】我々が開発した FRET バイオセンサーは、ドナーにはシアン色蛍光タンパク質、アクセプターには黄色蛍光タンパク質を用いており、センサー領域とリガンド領域の間に非常に長いリンカーを有している（図１）。この FRET バ

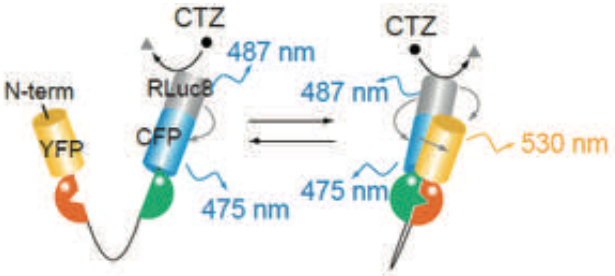



**図3　ハイブリット型バイオセンサー**

イオセンサーを発光で用いることができるようにするために、ウミシイタケルシフェラーゼ(RLuc8)をシアン蛍光タンパク質に融合させた。この hyBRET と命名した融合バイオセンサーは、FRET バイオセンサーとして用いることができるのみならず、セレンテラジン(CTZ)存在下では発光を示し、BRET バイオセンサーとしても用いることができる。図３に示したものはタンパク質リン酸化酵素の活性測定を行う BRET センサーの構造であり、緑で示したリン酸化酵素基質配列部を変えることで、様々なタンパク質リン酸化酵素の活性を測定することができる。図４に示したものは細胞増殖を司る ERK マップキナーゼを培養細胞 HeLa に発現させ、上皮細胞増殖因子（EGF）で刺激したときの ERK 活性の変化を、FRET および BRET モードで顕微鏡下に観察したものである。ドナーとアクセプターそれぞれからの発光量の比を擬似カラーで示し、それを ERK 活性の指標として用いている。図４に示すように、蛍光モード、発光モードのいずれでもほぼ同等の画像が得られている。しかし、詳細に観察すると、BRET の方が明るさが揃っており、FRET の方が明るい細胞と暗い細胞の差が大きい。これは、おそらく、基質である CTZ の濃度が細胞内で十分に高くならないためではないかと考えている。すなわち、バイオセンサーの量に対し、十分な CTZ を供給できないと考えられる。逆の見方をすれば、BRET モードで使う場合は、バイオセンサーの発現量は少なくても十分であるということである。

さらに、多数の細胞について FRET および BRET の効率の相関を解析するときわめて高い

相関を得ることができた（図５）。このことは、ERK 活性を広いダイナミックレンジで、蛍光でも発光でも観察可能であることを示している。我々は、さらに、A キナーゼ、S6 キナーゼ、ストレスキナーゼ JNK、チロシンキナーゼ、低分子量 G タンパク質などについても同様の方法で、既存の FRET バイオセンサーを発光モードで使うことが可能であることを見出した。

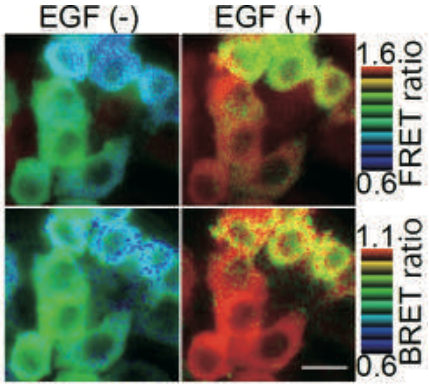



図4　ERK バイオセンサーを発現する HeLa 細胞。蛍光観察（FRET）と発光観察（BRET）像

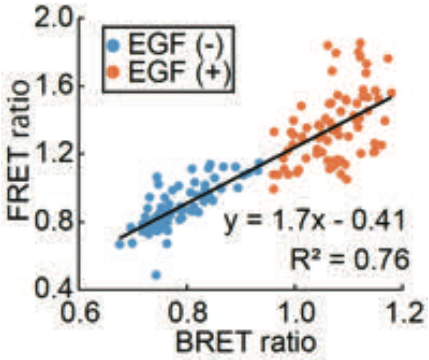



図5　ERK バイオセンサーを発現する HeLa 細胞の、FRET と BRET 値の相関

## ３．FRET および BRET を検出する CMOS の開発

まず、FRET シグナルを検出するために、図６に示すような CMOS イメージングセンサーを作製した。画素の上に、緑/青フィルター、励起光吸収フィルターをのせ、さらに FOP と干渉フィルターを用いて励起光のセンサーへの漏れこみを防いだ。FRET バイオセンサーの励起には 405 nm の LED と 400-425 nm のバンドパスフィルターを使用した。このデバイスを用いて ERK のバイオセンサーを発現しているトランスジェニックマウスの観察を行った。実験においては、励起光は光ファイバーを用いて、側面から導入した。MEK 阻害剤投与による ERK 活性の低下を検出することに成功した（図７）。

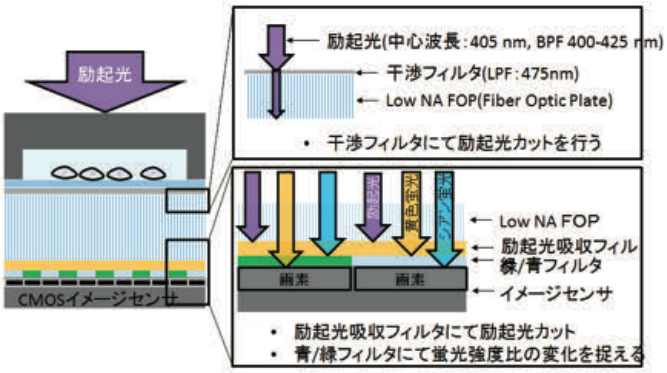



図6　FRET 検出用イメージングセンサー

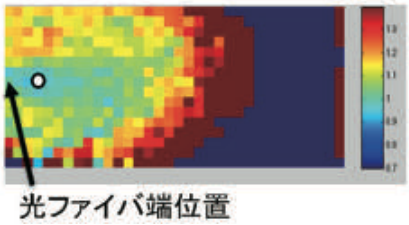



図7　イメージングセンサーによる大腿筋での ERK シグナル検出。投与直後からの変化率分布（約 20 分後）を示す。

## ４．マウスを用いた代謝調節機構の実時間計測—多光子顕微鏡観察

【目的】代謝調節機構のマスターレギュレーターである AMP 依存性リン酸化酵素（AMPK）の活性を測定する FRET バイオセンサーを作製し、それを発現するマウスを CMOS で観察する。

【方法と結果】まず、AMPK の活性を測定する FRET バイオセンサーを作製し、培養細胞でその性能を検討した。既報にある AMPK のバイオセンサー（AMPKAR）[17]のリンカーを EV リンカーに変更することで、感度を大幅に上昇させることができた（図８、AMPKAR-EV）[18]。

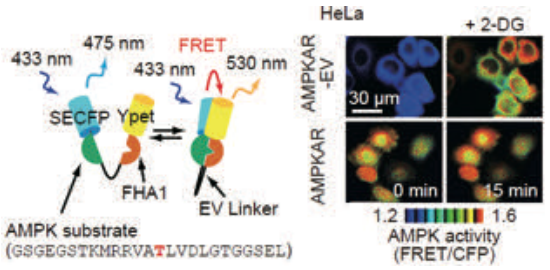



**図8　AMPK バイオセンサーの構造（左）と HeLa 細胞での性能比較**

次に、この FRET バイオセンサーをマウスに発現し、マウスの筋肉で AMPK 活性が測定できるかを確認した。ガス麻酔下にマウスの大腿筋を露出し、倒立型多光子顕微鏡で観察した。ついで、ドーピングにも使われる AMPK 活性化剤である AICAR を静脈注射した。すると、20 分以内にほぼすべて筋線維で AMPK の活性化が観察できた（図 9）。

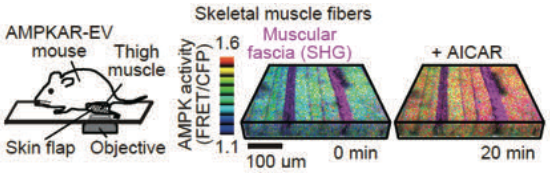



**図9　マウス大腿筋での AMPK 活性変化の多光子顕微鏡観察**

## 5．マウスを用いた代謝調節機構の実時間計測—CMOS イメージングデバイスによる観察

次に、この AMPKAR-EV をすでに述べた方法で発光用のバイオセンサーに改変し、マウスに発現させた。マウス大腿部に CMOS センサーを埋植し、AICAR 刺激前後での AMPK 活性変化を観察した。CMOS センサーについては、フィルタの構成を変更し、3 種類を 4 行ずつ 12 行 1 セットで配置した。

- cyan 用：青フィルタ
- yellow 用：黄＋緑フィルタ（透過帯 510~570nm 程度）
- dark 用:上記 2 色＋赤を重ね合わせ

さらに、dark の画素も交互に配置することで感度等の不均一性の影響を低減した（図 10 左）。

まず、CTZ の静脈内注射により十分な発光を検出できることを確認した。つぎに、yellow/cyan の比をとることで AMPK 活性を測定した。約 2 時間後に、AICAR を投与したところ、AMPK 活性の上昇を検出することができた（図 10 右）。今回は、麻酔下で実験を行ったが、今後、覚醒時にも同様の実験を行い、運動等が及ぼす AMPK 活性の変化をリアルタイム観測できる系を確立する。

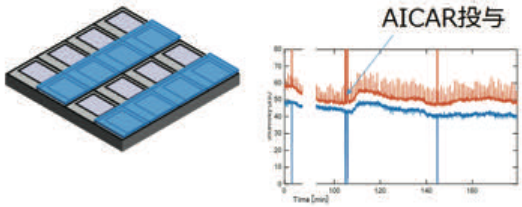



**図10　発光用マウス CMOS イメージングデバイスによる大腿筋での AMPK 活性変化の観察　黄色、青色は二箇所の同時計測結果。**

## 6．まとめ

- 細胞増殖シグナルおよび代謝系シグナルの変化を蛍光共鳴エネルギー移動および生物発光共鳴エネルギー移動で検出可能なマウスを作製した。
- 蛍光共鳴エネルギー移動および生物発光共鳴エネルギーを検出する CMOS イメージングデバイスを開発した。
- 今後、覚醒時マウスで細胞増殖シグナルおよび代謝シグナルの変化を CMOS イメージングデバイスで検出する系を確立する。


## 謝辞

本研究の一部は、公益財団法人中谷医工計測技術振興財団の H27 年度特別研究助成により行われました。ここに深く感謝いたします。また、発光バイオセンサーの開発は大阪大学・永井健治教授、東京大学・岡田康志教授との、マウスの開発は理研・隅山健太チームリーダーとの共同研究です。AMPK マウスの研究は大学院生の小長谷有美と寺井健太准教授が、発光バイオセンサーの開発は小松直樹助教が主として実験を行いました。

参考文献および発表論文


1 Aoki, K., Kamioka, Y. & Matsuda, M. Fluorescence resonance energy transfer imaging of cell signaling from in vitro to in vivo: Basis of biosensor construction, live imaging, and image processing. *Dev. Growth Differ.* **55**, 515-522, (2013). doi:10.1111/dgd.12039

2 Pfleger, K. D. & Eidne, K. A. Illuminating insights into protein-protein interactions using bioluminescence resonance energy transfer (BRET). *Nat.Methods* **3**, 165-174, (2006).

3 Palmer, A. E., Qin, Y., Park, J. G. & McCombs, J. E. Design and application of genetically encoded biosensors. *Trends Biotechnol.* **29**, 144-152, (2011). doi:10.1016/j.tibtech.2010.12.004

4 Oldach, L. & Zhang, J. Genetically encoded fluorescent biosensors for live-cell visualization of protein phosphorylation. *Chem. Biol.* **21**, 186-197, (2014). doi:10.1016/j.chembiol.2013.12.012

5 Enterina, J. R., Wu, L. & Campbell, R. E. Emerging fluorescent protein technologies. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **27**, 10-17, (2015). doi:10.1016/j.cbpa.2015.05.001

6 Miyawaki, A. & Niino, Y. Molecular spies for bioimaging--fluorescent protein-based probes. *Mol. Cell* **58**, 632-643, (2015). doi:10.1016/j.molcel.2015.03.002

7 Rodriguez, E. A., Tran, G. N., Gross, L. A., Crisp, J. L., Shu, X., Lin, J. Y. & Tsien, R. Y. A far-red fluorescent protein evolved from a cyanobacterial phycobiliprotein. *Nat Methods* **13**, 763-769, (2016). doi:10.1038/nmeth.3935

8 Xu, X., Soutto, M., Xie, Q., Servick, S., Subramanian, C., von Arnim, A. G. & Johnson, C. H. Imaging protein interactions with bioluminescence resonance energy transfer (BRET) in plant and mammalian cells and tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **104**, 10264-10269, (2007). doi:10.1073/pnas.0701987104

9 Mochizuki, N., Yamashita, S., Kurokawa, K., Ohba, Y., Nagai, T., Miyawaki, A. & Matsuda, M. Spacio-temporal images of growth factor-induced activation of Ras and Rap1. *Nature (London)* **411**, 1065-1068, (2001).

10 Kitano, M., Nakaya, M., Nakamura, T., Nagata, S. & Matsuda, M. Imaging of Rab5 activity identifies essential regulators for phagosome maturation. *Nature (London)* **453**, 241-245, (2008).

11 Komatsu, N., Aoki, K., Yamada, M., Yukinaga, H., Fujita, Y., Kamioka, Y. & Matsuda, M. Development of an optimized backbone of FRET biosensors for kinases and GTPases. *Mol. Biol. Cell* **22**, 4647-4656, (2011).

12 Kamioka, Y., Sumiyama, K., Mizuno, R., Sakai, Y., Hirata, E., Kiyokawa, E. & Matsuda, M. Live imaging of protein kinase activities in transgenic mice expressing FRET biosensors. *Cell Struct. Funct.* **37**, 65-73, (2012). doi:10.1247/csf.11045

13 Mizuno, R., Kamioka, Y., Kabashima, K., Imajo, M., Sumiyama, K., Nakasho, E., Ito, T., Hamazaki, Y., Okuchi, Y., Sakai, Y., Kiyokawa, E. & Matsuda, M. In vivo imaging reveals PKA regulation of ERK activity during neutrophil recruitment to inflamed intestines. *J. Exp. Med.* **211**, 1123-1136, (2014). doi:10.1084/jem.20132112

14 Hiratsuka, T., Fujita, Y., Naoki, H., Aoki, K.,

Kamioka, Y. & Matsuda, M. Intercellular propagation of extracellular signal-regulated kinase activation revealed by in vivo imaging of mouse skin. *eLife* **4**, e05178, (2015). doi:10.7554/eLife.05178

15 Saito, K., Chang, Y. F., Horikawa, K., Hatsugai, N., Higuchi, Y., Hashida, M., Yoshida, Y., Matsuda, T., Arai, Y. & Nagai, T. Luminescent proteins for high-speed single-cell and whole-body imaging. *Nat Commun* **3**, 1262, (2012). doi:10.1038/ncomms2248

16 Aper, S. J., Dierickx, P. & Merkx, M. Dual Readout BRET/FRET Sensors for Measuring Intracellular Zinc. *ACS chemical biology* **11**, 2854-2864, (2016). doi:10.1021/acschembio.6b00453

17 Tsou, P., Zheng, B., Hsu, C. H., Sasaki, A. T. & Cantley, L. C. A fluorescent reporter of AMPK activity and cellular energy stress. *Cell metabolism* **13**, 476-486, (2011). doi:10.1016/j.cmet.2011.03.006

18 Konagaya, Y., Terai, K., Hirao, Y., Takakura, K., Imajo, M., Kamioka, Y., Sasaoka, N., Kakizuka, A., Sumiyama, K., Asano, T. & Matsuda, M. A Highly Sensitive FRET Biosensor for AMPK Exhibits Heterogeneous AMPK Responses among Cells and Organs. *Cell Rep.* **21**, 2628-2638, (2017). doi:10.1016/j.celrep.2017.10.113

# 蛋白質相互作用に基づく細胞内薬物動態解析のための
# 多細胞蛍光相関分光装置の開発研究

研究責任者　北海道大学　大学院先端生命科学研究院
先端細胞機能科学分野
教　授　　金城　政孝

## １．はじめに

蛍光相関分光法（FCS、Fluorescence Correlation Spectroscopy）は単一分子レベルの検出感度を有する先端的顕微鏡法の一つであり、共焦点光学系を利用して、蛍光強度の揺らぎから分子の大きさと、分子数を推定する測定方法である（図１）[1)-3)]。また、その発展形である、蛍光相互相関分光法（FCCS, Fluorescence Cross Correlation Spectroscopy）は異なる２色の蛍光色素を利用し、その蛍光シグナルの時空間的同時性を検出するため単１分子感度で生細胞における分子間相互作用を高感度・短時間に検出することが可能である（図２）[4-6)]。

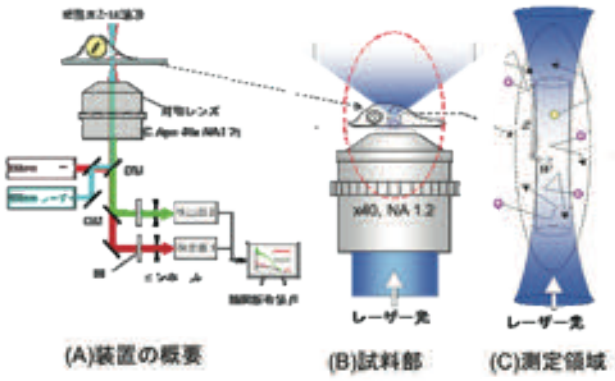



図１　蛍光相関分光測定概略図

我々は蛋白質相互作用を定量的に測定できるFCS/FCCS の研究開発とその細胞生物学的応用を進めてきた。その中で転写因子の一つである、哺乳類細胞内における P50/P65 タンパク質の結

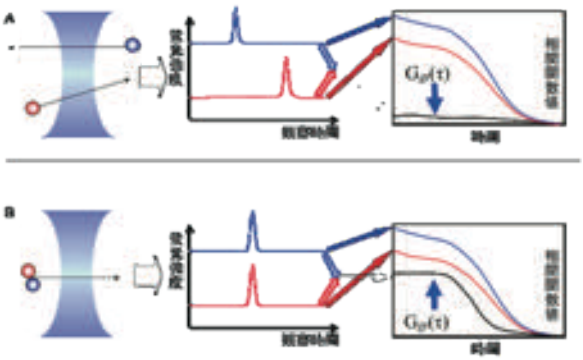


図２　蛍光強度の揺らぎと相互相関関数
2種類の蛍光分子の動きと　観察される蛍光強度変化。
（A）2種類の蛍光色素に相互作用がないと赤と青のシグナルに同時性はなく、そのために低い相互相関関数となる
（B）2種類の蛍光色素になんらかの相互作用があると赤と青の同時シグナル変化が検出され、赤色蛍光、青色蛍光の自己相関関数と、二つの掛け合わせである相互相関関数が求められる

合定数（*Kd*）の決定[7]や単１細胞内におけるステロイドホルモン受容体の一つであるグルココルチコイド受容体（GR）と DNA 相互作用の検出などを行ってきた[8]。特に近年 FCS を用いることで、グルココルチコイド受容体 GFP 標識体（GFP-GR）を用いて、そのモノマーおよびホモダイマーの濃度、およびホモダイマー形成時の解離定数（*Kd*）の決定法を確立し、実際に GR の２量体形成の *Kd* が 107±19 nM であることを報告した[9]。また FCCS を用いて、生細胞内での GR の２量体化形成の *Kd* の算出に成功し新たな細胞内での GR の核移行モデルの提唱を行うことができた[10]。

しかし、FCS/FCCS の大きな弱点は顕微鏡下の微小領域一点でしか測定できないことである。特に細胞測定での基本的な問題点として、細胞内や核内の移行反応を見ようとしても、一回の測定で１細胞中の特定の１点でしか測定できないことである。本申請では、これらの弱点を克服し多細胞、多点測定可能な多点蛍光相互相関分光法の開発とそれを応用した薬物動態スクリーニング法の確立を目指した。

これまで一点測定であった FCCS スクリーニング[11]を多細胞に対応させるために多点同時測定 FCCS の構築を行い、細胞内の任意の場所における分子複合体の形成・タンパク質相互作用等をいち早く検出し、薬物動態や機能性分子の挙動と細胞機能を結びつけることが可能な新規のシステムの構築を目指した。そのために FCCS 検出装置の高度化を進め、生細胞内の分子間相互作用の検出効率を上げ、医工計測技術分野への新たな展開を試みた。

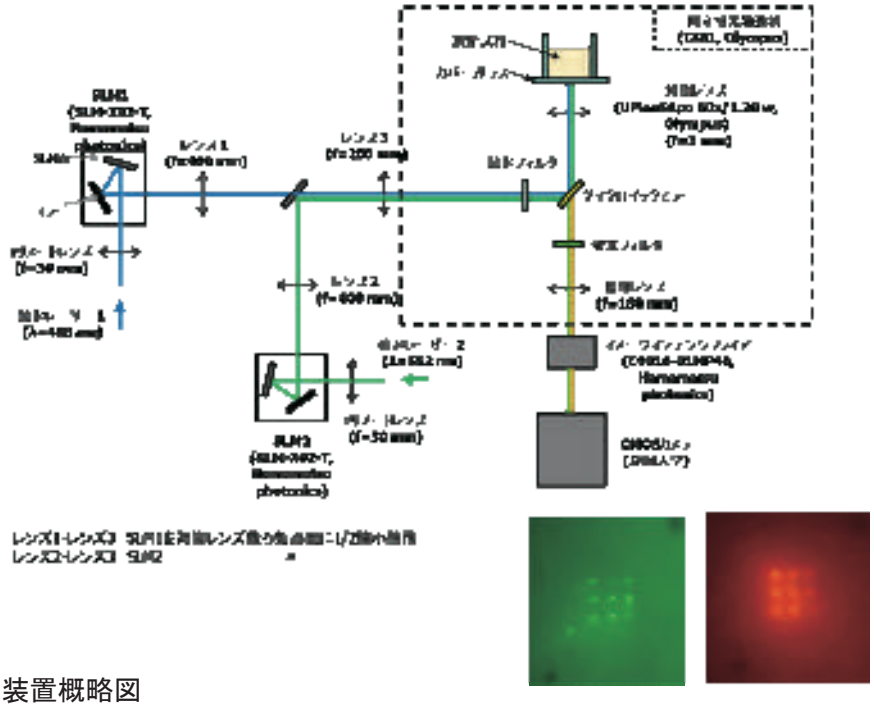


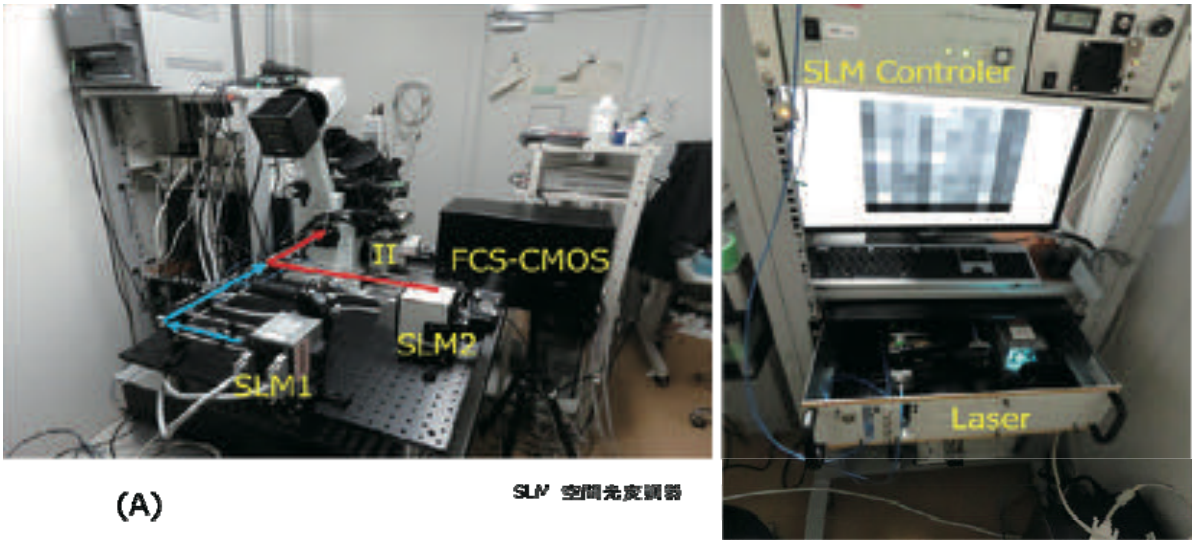
図3　装置概略図

励起レーザーは、488nm と 552nm を設置した。それぞれ空間光変長期（SLM1、2）で多点照射となり蛍光顕微鏡の視野内の試料を励起する。蛍光発光は対物レンズを通過後、イメージングインテシファイア(II)で強度を上げたのちに（CMOS）の各画素に導かれる。

488 励起、552 励起の 3x3 点励起画像をそれぞれ挿入図に示した。

## ２．装置の構築

本研究の特色は、多細胞・多点蛍光相互相関装置（Multi-Cellular Multi-Point（MCMP）-FCCS）の試作とそれを利用し多数の生細胞内での同時分子間相互作用解析である。MCMP-FCCS 装置の光学系としては空間光変調器（SLM）による励起レーザー光の複数細胞への多点同時集光照射と共焦点光学系の検出系としての高感度 CMOS カメラ（検出器）で構築される。本申請では２波長励起のための新規レーザー並びに SLM を購入し設置した。2 色の蛍光色素からの蛍光を分岐しそれぞれのシグナル強度の揺らぎを検出するシステムを構築した（図３）。実際に結像面における２色（488nm 励起、552nm 励起）レーザーパータンを図３に示した。ここでは 3x3 点のパターンであるが最大 10x12、120 点まで可能とした。また装置の写真を図４に示した。




(A)　　SLM 空間光変調器　　(B)

図4　装置の写真

(A)装置に外観と光路図、SLM1 と SLM2 を通過する励起光を示す。蛍光顕微鏡を通過後、イメージングインテシファイア(II)でシグナルを増強した後に検出器 FCS-CMOS に導入される。

(B)検出器からシグナルはそのまま解析装置で表示される。同じラックの場所に励起用レーザー、SLM 制御装置もセットされている。

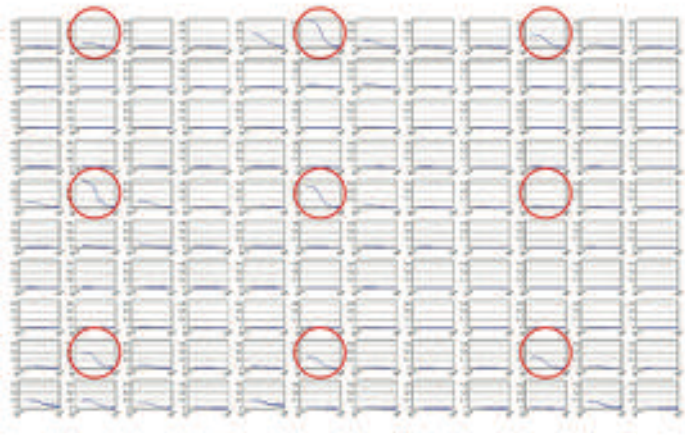


図5　488nm 励起蛍光多点 FCS 測定

## ３．測定結果

### 3.1　多点測定による２色蛍光相関測定

まず、120 点の測定点から 3 x 3 点を選んで、2 波長励起による、相関測定が可能か検証を行った。励起波長は 488nm と 552nm、実際に測定した試料は、まず蛍光ビーズを測定した。

用いた試料は FluoSpheres Carboxylate-Modified Microspheres、0.1μm、yellow-green fluorescent (505/515)を 500 倍に希釈して利用した。レーザー強度は、焦点面にて 7.46 μW であった。図５に測定された相関関数を示す。

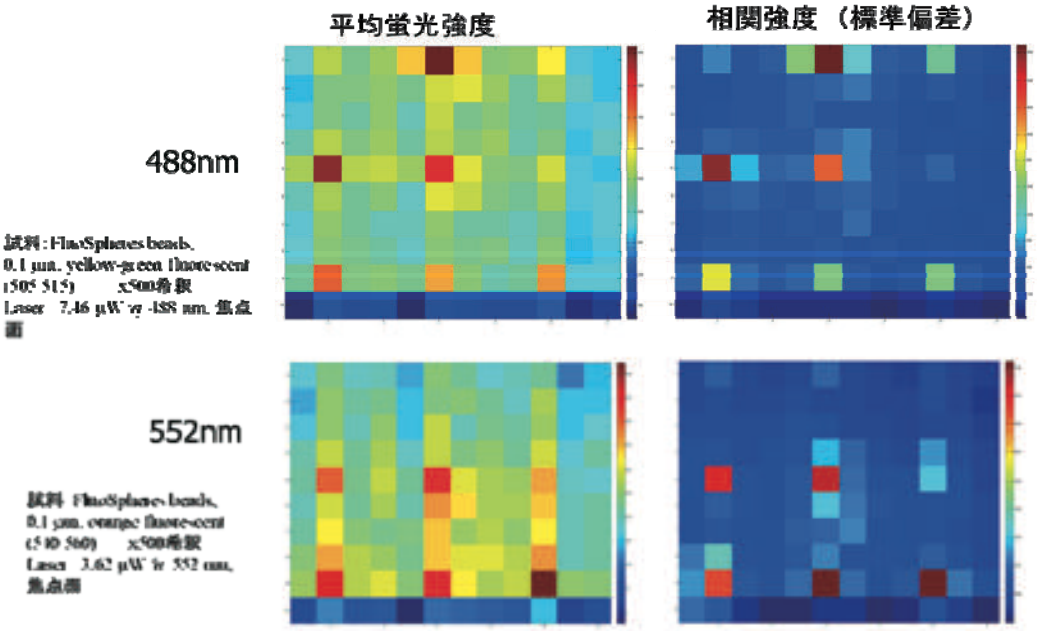



図6　2 次元イメージング解析

赤丸で囲ったところには明確な相関関数が観察された。それ以外はほぼフラットな形状となり、実際の蛍光強度が観察されなかったことがわかる。赤丸以外の一部にも相関関数が観察されたところもあったことから、クロストークが存在することが分かる。将来、改善する必要がある。

次に、観察された相関関数を定量的に評価するために、各測定点における、平均蛍光強度と、測定された蛍光強度の偏差値をプロットした 2 次元イメージング図を作成した（図 6）。

図 6 には、それぞれ、488 励起蛍光発光と、552 励起蛍光発光の結果を示した。それぞれの試料は、488 励起蛍光試料：FluoSpheres beads、0.1 mm、yellow-green fluorescent (505/515)x500 倍希釈。552 励起蛍光試料：FluoSpheres beads、0.1μm、orange fluorescent (540/560)を x500 倍希釈して用いた。蛍光強度の強い場所と、蛍光強度の揺らぎが大きい、すなわち標準偏差の大きい位置の一致がわかる。蛍光の揺らぎの標準偏差は相関強度を示すものであり、相関強度は分子数に逆比例するため、分子数計測が可能であることを示したことが分かる。

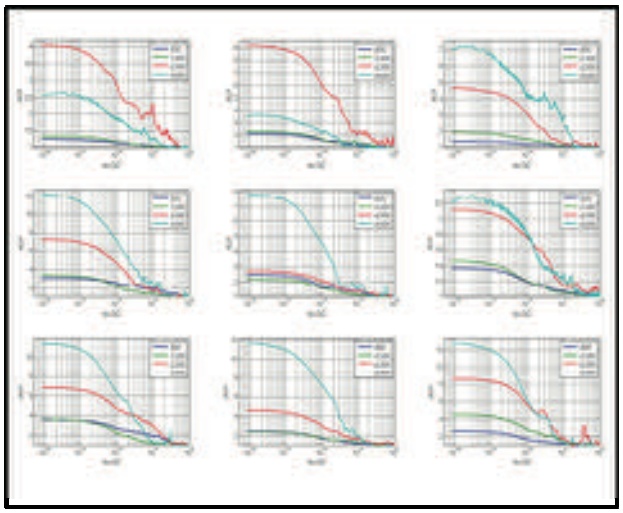


図7　粒子数の変化

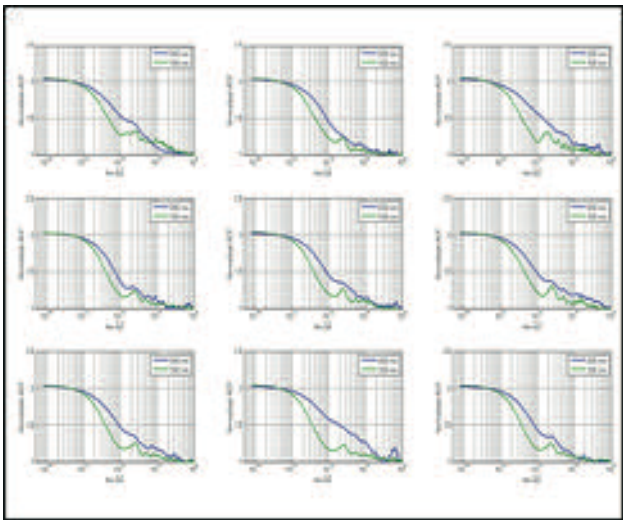


図8　粒子サイズの変化

### 3.2　多点測定による、濃度変化と粒子サイズの検出

構築した多点相関装置にて蛍光粒子の検出が可能とわかったので、次に、粒子数の変化と、粒子サイズの検出を試みた。

用いた試料は、試料：FluoSpheres beads、orange fluorescent (540/560)0.1 μm、を 1/500、1/1000、1/2000、1/4000 に希釈して特定した（図７）。また、粒子サイズの変化測定では、試料：FluoSpheres beads、0.1、0.2μm、orange fluorescent (540/560)を用いて測定比較を行った（図８）。

粒子数の変化（図７）では、希釈に依存して測定視野内の分子数が減少するに従って、相関関数の強度が上昇したことが、各測定点で示された。

また、粒子サイズ変化（図８）では、サイズに依存して、相関関数の右方向へのシフト、従って、相関時間の上昇が各測定点にて、確認された。

### 3.3　120 点 FCS 同時測定

構築した多点 FCS 測定装置の各ピクセルが十分に機能していることを確認した後に、120 点の測定点を全部使用して相関測定を行った。測定試料は：FluoSpheres beads、0.1μm、orange fluorescent (540/560)x200 希釈を用いて行った。測定結果を、図９に示す。120 点の非常に明確な相関関数が測定できたことが分かる。各相関関数の強度はすべて同じではないが、十分な強度があったことが示された。

図9　120 点同時 FCS 測定

### 3.4　多点同時測定による流速の解析

120 点多点同時 FCS 測定が可能となったので、次に同時測定の利点を確認するために、空間相互相関を用いて流速と方向の解析に応用した[12]。測定装置の顕微鏡ステージ上にカバーグラスを利用してマイクロ流路（図 10）を設置し、シリンジポンプを利用して流速を一定に保ちながら蛍光ビーズの FCS 測定を行った。実際の流路の外観を図 10 に示す。流速は 0.1、から 6.4mL / 時間

図10　多点同時 FCS 測定上にセットしたマイクロ流路

まで、数段階に変化させた。次に、各測定点の相互相関差を計算し、その差分をプラス方向が流れの方向として差分の量を流速としてプロットしたのが図 11（A）である。流速方向(ここでは上から下)に流れの方向としてプロットすることができたことが分かる。次に全部の相関関数の平均を求めて、相互相関関数として示したのが図 11（B）であり、その相相関関数を規格化して比較し易くしたのが図 11（C）となる。流速の早さに従って相関関数のピークが、左(短時間側)にシフトしていることが分かる。すなわち、流速が早くなるにつれて、各点を通過するビーズの移動時間(運ばれる時間)が短くなっていることを示すことができた。ここでは示していないが、流速と移動距離から計算した移動時間は、測定された時間とほぼ一致した。

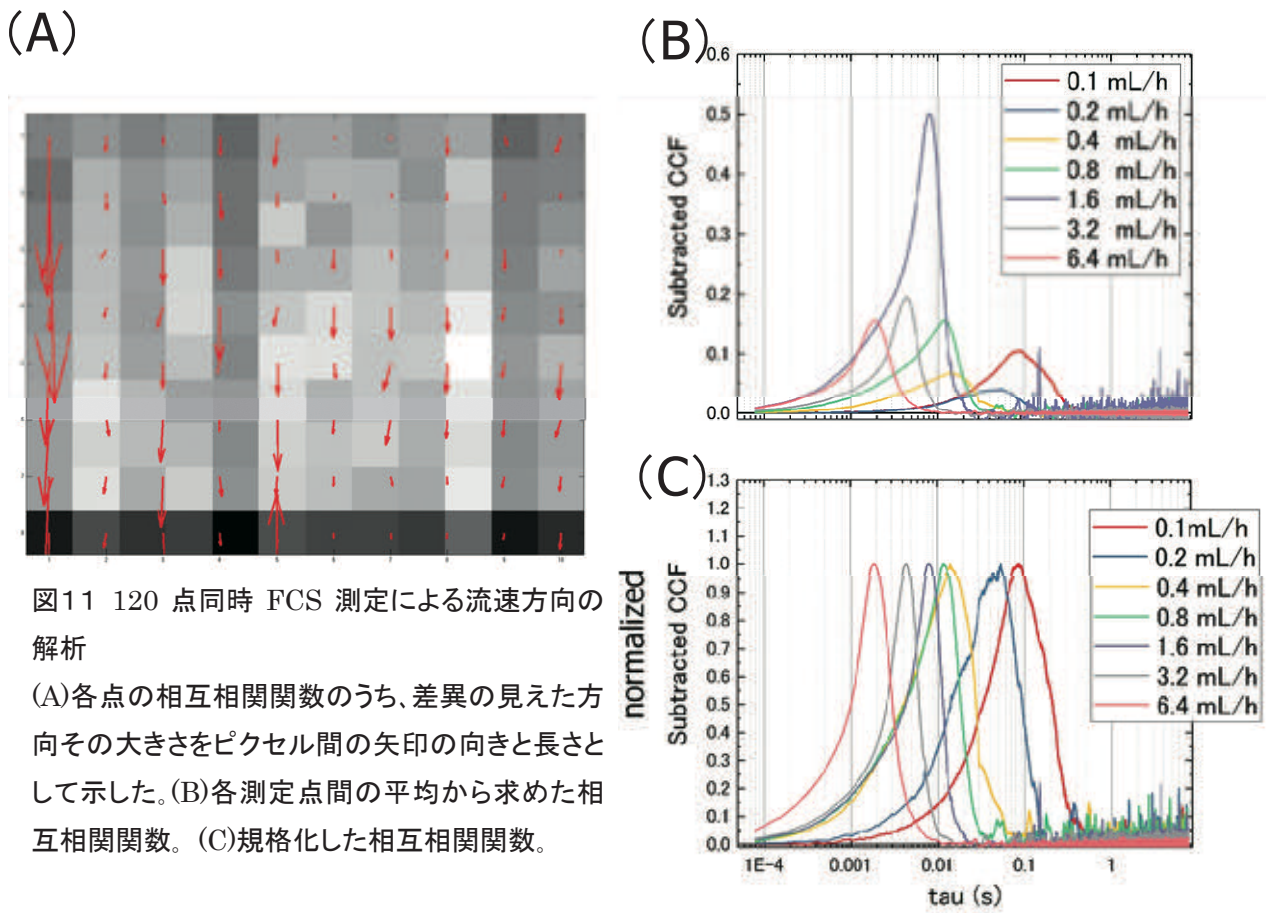



**図11　120 点同時 FCS 測定による流速方向の解析**
**(A)各点の相互相関関数のうち、差異の見えた方向その大きさをピクセル間の矢印の向きと長さとして示した。(B)各測定点間の平均から求めた相互相関関数。(C)規格化した相互相関関数。**

## 4．まとめ

本研究では、空間光変調器（SLM)を利用することで多点 FCS 測定装置を構築し、2 波長測定を行った。これまでの点計測 FCS から面計測 FCS(FCS イメージング)へ拡張することが可能であることを示し、完全同時測定の利点を活かして、各測定点間の空間相互相関解析から粒子の流れの方向とその流速計測に成功し、分子動態解析が可能であることを示すことができた。

今後の課題としては実際の生細胞内の任意の場所におけるタンパク質複合体形成や相互作用等の検出を行うことである。本研究の中で検出器がまだ十分でないことや、蛍光標識に用いた蛍光性タンパク質の安定性・強度が十分でないことが判明した。今後の研究指針を得たものと考えている。

光を用いたバイオイメージングの手法は今後も発展するものと考えられるが、検出器の開発、色素や蛍光プローブの開発はともに重要な要素である。同じく重要なことは生物学的に面白い発

見を目指すことであろう。今後ともそれら三位一体を堅持して研究を進めて行きたい。


## 謝辞

本研究に頂いたご支援・ご指導に感謝申し上げます。特に中谷医工計測技術振興財団には格段のご支援をいただきました。ここに深く感謝申し上げます。


## 参考文献


1. Eigen, M. & Rigler, R. Sorting single molecules - application to diagnostics and evolutionary biotechnology. ***Proc Natl Acad Sci U S A*** 91(13), 5740–5747 (1994).
2. Foldes-Papp, Z. & Kinjo, M. Fluorescence correlation spectroscopy in nucleic acid analysis. in *FLUORESCENCE CORRELATION SPECTROSCOPY: Theory and Applications* 65 25–64 (2001).
3. 金城政孝 & 山本条太郎. 8, 1細胞生物学における光ゆらぎ測定：蛍光相関分光法. in 光散乱法の基礎と応用 287–316 (講談社,2014).
4. Saito, K., Wada, I., Tamura, M. & Kinjo, M. Direct detection of caspase-3 activation in single live cells by cross-correlation analysis. ***Biochem Biophys Res Commun*** 324(2), 849–854 (2004).
5. Bacia, K. & Schwille, P. Practical guidelines for dual-color fluorescence cross-correlation spectroscopy. ***Nat. Protoc.*** 2(11), 2842–2856 (2007).
6. 佐々木章 & 金城政孝. 蛍光相互相関分光法を駆使した生細胞内の分子状態解析. **生化学** 84(12), 1024–1027 (2012).
7. Tiwari, M., Mikuni, S., Muto, H. & Kinjo, M. Determination of dissociation constant of the NFκB p50/p65 heterodimer using fluorescence cross-correlation spectroscopy in the living cell. ***Biochem. Biophys. Res. Commun.*** 436(3), 430–435 (2013).
8. Mikuni, S., Tamura, M. & Kinjo, M. Analysis of intranuclear binding process of glucocorticoid receptor using fluorescence correlation spectroscopy. ***FEBS Lett.*** 581(3), 389–393 (2007).
9. Oasa, S., Sasaki, A., Yamamoto, J., Mikuni, S. & Kinjo, M. Homodimerization of glucocorticoid receptor from single cells investigated using fluorescence correlation spectroscopy and microwells. ***FEBS Lett.*** 589(17), 2171–2178 (2015).
10. Tiwari, M., Oasa, S., Yamamoto, J., Mikuni, S. & Kinjo, M. A Quantitative Study of Internal and External Interactions of Homodimeric Glucocorticoid Receptor Using Fluorescence Cross-Correlation Spectroscopy in a Live Cell. ***Sci. Rep.*** 7(1), 1–16 (2017).
11. Mikuni, S., Kodama, K., Sasaki, A., Kohira, N., Maki, H., Munetomo, M., Maenaka, K. & Kinjo, M. Screening for FtsZ dimerization inhibitors using fluorescence cross-correlation spectroscopy and surface resonance plasmon analysis. ***PLoS One*** 10(7), 1–15 (2015).
12. Brinkmeier, M., Dorre, K., Stephan, J. & Eigen, M. Two beam cross correlation: A method to characterize transport phenomena in micrometer-sized structures. ***Anal Chem*** 71(3), 609–616 (1999).

# 高性能なクエンチ解消原理に基づく免疫センサーの選択法に関する研究

研究責任者　東京工業大学　資源化学研究所
（現　東京工業大学 科学技術創成研究院 化学生命科学研究所）
教　授　　上田　宏

## １．はじめに

抗体は、さまざまなターゲットを特異的かつ高感度に検出する事が可能な天然の認識素子である（図１）。この性質を利用した抗体を用いた検出法（ELISA 法をはじめとする免疫測定法）は、臨床診断における体液や環境中のサンプルに含まれる測定対象の高感度かつ比較的簡便な検出法として、現在大変ポピュラーな方法である [1]。しかし同時に、数度の反応と洗浄、さらに検出に時間と手間を必要とするのも事実であり、研究者や臨床検査の関係者はともかく、一般人が気軽に使える分析法とは言いにくい面もあった。

## ２．Quenchbody の発見

筆者らは、この問題を解決する方法の１つとして、もう 20 年近く前になるが、サンプルと混合し、光を当てるだけで抗原測定が可能な検出法を、抗原結合による $V_H$-$V_L$ の結合の安定化を測定するオープンサンドイッチ(OS)原理 [2]に基づいて構築した。OS 原理は、特に低分子抗原が抗体可変領域に結合するとその安定性が顕著に高まる現象を利用した免疫測定原理である。これを光学的に行うために利用できないかと考えたのは、蛍光色素間のエネルギー移動（FRET ： Förster resonance energy transfer）である（図２）[3]。

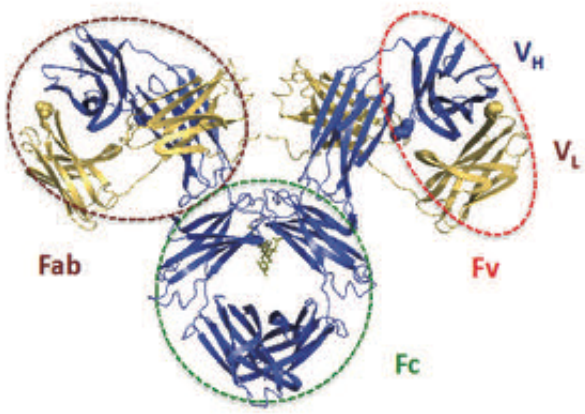



図１　IgG 抗体とその断片の構造
（PDB 1MCO より）

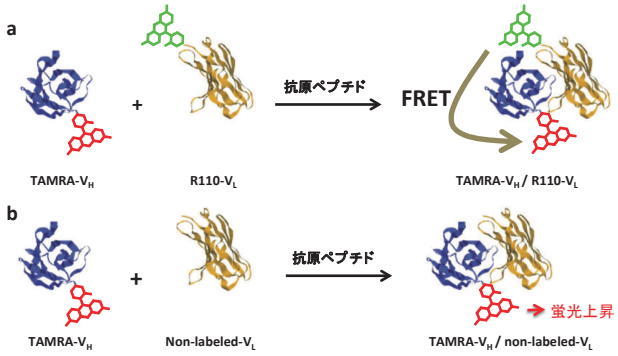



図2　オープンサンドイッチ蛍光免疫測定法（上）と発見された現象（下）の模式図。

この際、$V_H$ と $V_L$ をそれぞれ緑と赤の蛍光色素で結合能を損なわないように修飾し、両者を混ぜて水色の光で励起し、それぞれの蛍光波長で蛍光を測定することで、サンプルと混ぜるだけの（ホモジニアスな）抗原検出が実現できた。ちなみにこの下線部分は決定的に重要であり、実際これを市販の蛍光試薬を用いて再現性良くアミノ末端特異的に行うのは反応時の pH 調整を行ってもかなり難しかった。そこで最近、芳坂らによる無細胞タンパク質合成系を用いた、翻訳反応時に蛍光修飾アミノ酸を取り込ませる方法[4]を適用した所、ほぼ完璧に N 末端近傍特異的な蛍光修飾を行うことができるようになった。

しかし、その際行った比較実験で、$V_H$ 断片だけをその N 末端近傍をリンカーを介して赤の蛍光色素(TAMRA)で標識し、非標識の $V_L$ 断片と混合したところ、なぜか TAMRA の蛍光強度が抗原濃度依存的に増大する現象が見出された。さらにだめ押しとなる結果として、N 末端近傍を TAMRA 標識した一本鎖抗体(ScFv：$V_H$-$V_L$ を柔軟なリンカーで結合させたもの)を用いたところ、この効果がさらに顕著に観察された。

すなわち抗原(骨疾患マーカーであるオステオカルシン BGP の C 末ペプチド BGP-C7)添加により、TAMRA の蛍光強度が最大 5.6 倍に向上した（図 3c）。

この際用いた励起光は緑色、色素は TAMRA だけなので、この蛍光変化が FRET によるものとは考えられない。その後の変異導入などの検討により、この蛍光変化は抗体 $V_H$、$V_L$ 中にあるトリプトファン(Trp)からの、光誘起電子移動による色素の消光(クエンチ)であることが判明した。よってこれより我々はこのような性質を持つ蛍光標識抗体断片をクエンチ抗体(Quenchbody、Q-body)と呼ぶことにした[5]。ではなぜ抗原が結合すると、クエンチが解除されるのであろうか？これは OS 法の原理を考えると分かりやすい。すなわち、抗原がないときには $V_H$ と $V_L$ は弱く結合しており、リンカーに結合させた色素が内部に入り、近傍の Trp と相互作用しうる。しかし抗原が結合すると $V_H$-$V_L$ 間の結合が強まり、色素は外部に押し出されて蛍光するのであろう。このような色素の動きが実際にあることは、色素を検出する ELISA と蛍光偏光法により証明された[6]。

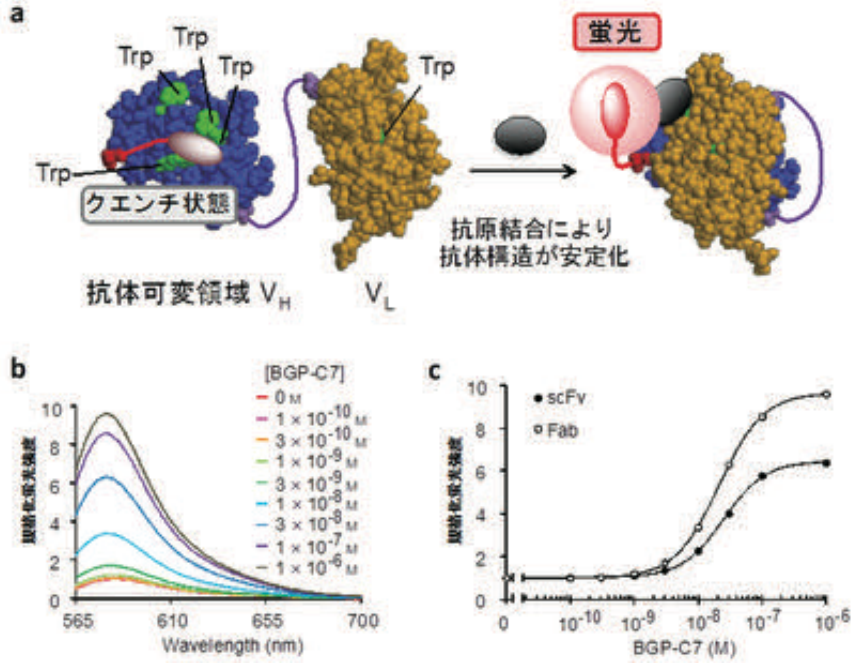


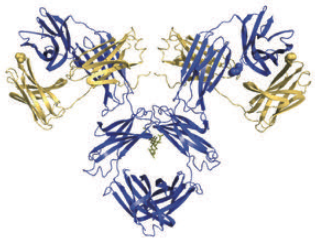

図3　Q-body の蛍光応答。(a) scFv 型 Q-body の動作原理 (b) Fab 型 BGP Q-body の抗原依存的蛍光スペクトル変化 (c) scFv 型と Fab 型 Q-body の蛍光応答の比較

その後、抗体 $V_H$、 $V_L$ 断片中の Trp 残基の位置はほぼ保存されており、違法薬物などの低分子からタンパク質まで様々な抗原を認識する多くの抗体で Q-body を構築できることがわかった。また、BGP 認識 Q-body では 50%血漿中でもリン酸緩衝液中とほぼ同じ検量線が得られ、さらに、scFv のみならずより天然抗体に近い構造の Fab 断片でも確かめられた [7]。その際、興味深いことに、ScFv より Fab の方が、Q-body としてより優れた応答を示した（図３b、 c)。おそらく、安定性の高い Fab ではクエンチ状態がより安定化されるのであろう。また Fab の場合、修飾位置は基本的に $V_H$ あるいは $V_L$ の N 末端側が良いが、両方に修飾した場合により高い応答が得られることも多かった。これは色素間の相互作用に由来するクエンチを利用できるためと考えられる。また、超可変領域でない、抗原結合に関与しないループ(CDR4 とも呼ばれる)を修飾した場合に最適な応答が得られた例もある [8]。また色素として TAMRA 以外にも、色調の異なる数種の主にローダミン系色素が利用できる事が確かめられている [9]。また、やや導入に敷居の高い無細胞発現系を使わずとも、大腸菌で組み換え体として発現、精製した ScFv、 Fab を用いて Q-body を作製することも可能である [10]。その場合には、N 末のタグ中にシステイン(Cys)を入れておき、市販の色素マレイミドで標識すればよい。

### ３．今回の提案内容とその成果

しかし、現状では上記のいずれの方法によっても、Q-body を作製するためには一回抗体遺伝子をクローニングして遺伝子組換え法により色素修飾のための配列を組み込み、さらにタンパク質を発現精製して用意する必要がある。つまり Q-body の構築には相当の手間と時間、さらにコストがかかる問題があるとも言える。特にそうやって作った Q-body が必ずしも期待した程の応答を示さない場合、抗体そのものを変更して最初から同じ作業を繰り返す必要があった。

そこで我々は今回、抗体を従来より迅速簡便な操作で Q-body 化する方法を開発し、それによって構築にかかる手間と時間を低減することを試みた。このために、抗体 Fab 領域結合タンパク質を蛍光プローブ化し、これを結合させ Q-body 化する方法２種類と、可変領域に光架橋可能な蛍光プローブ分子を用いる方法の計３種類の方法を



- 従来，Q-body構築には抗体遺伝子クローニングが必須
- 遺伝子組み換えなしに，**Q-body**に適した抗体を迅速に選択できないか？

1. 抗体H鎖結合タンパク(PAxPG)の利用
2. 抗体L鎖結合タンパク(Protein M)の利用
3. 光クロスリンク法の利用
4. Q-bodyに適した抗体の選択

図4　従来の問題と本研究の目的

開発した。さらに、これらを用いて Q-body に適した抗体産生細胞を選択することを試みた（図4）。

### 3.1　抗体 H 鎖結合タンパクの構築と利用

抗体の検出精製に幅広く用いられる抗体結合タンパクとして *Staphylococcus aureus* 由来の Protein A (PA) と *Streptococcus sp.* 由来の Protein G (PG)がよく知られている。いずれも主に抗体の抗原結合部位とは遠い Fc 領域に結合するが、実は弱いながらもいずれも Fab 領域、すなわち $V_H$ と $C_H1$ に対し PA と PG の各ドメインがそれぞれ特異的に結合する。そこで、これら二つのドメインを適当なリンカーを介して結合させれば、より高い結合能と特異性で Fab 領域に結合するタンパク質を作れると考え、最終的に $(DDAKK)_4$ というリンカー配列を持ちマウスヒトキメラ Fab に対し *K*a: 4.0 x $10^8$ /M (*K*d: 25 nM)で結合する PA*x4*PG を作製した [11]。

そこでこの PA*x4*PG をもとに Q-body 様の蛍光変化を示すプローブの作製を試みた。図5に示すように、PAx4PG のN末側に二種類の長さの異なる柔軟なリンカーを介して修飾用の Cys を付加したコンストラクトを作製し、発現精製後に蛍光色素 TAMRA-C2-maleimide で修飾・精製した。

抗体 Fab 断片としては、以前 Q-body 用に構築した抗 BGP（マウス・ヒトキメラ）と、汎用性を調べるため市販の組み換えヒト型抗ビメンチン Fab (Morphosys)を、抗原としては BGP-C7 ペプチドとヒトビメンチン蛋白質（間葉系細胞の中間径フィラメントの主成分）をそれぞれ用いた。

0.05% Tween20 を含む PBS (PBST)中で最初に測定したプローブ(50 nM)のみの蛍光値を 1 とし、終濃度 200 nM の Fab と 1 μM の抗原を順に、それぞれの蛍光値が落ち着いてから添加した。

これらの結果を図 6 に示す。(A)(B)では BGP ペプチド、(C)(D)ではビメンチンの検出結果を、また(A)(C)では短い色素−PA 間リンカー(L2)、(B)(D)では長いリンカー(L5)つきプローブの蛍光変化の時間変化を示している。いずれの場合も、Fab 添加によるクエンチと、さらに抗原を添加した場合の脱クエンチが認められるが、L2 に比べ L5 リンカーつきプローブにおいてより高いクエンチが観察された。これは、PA の N 末が抗体 $V_H$ の N 末よりは $V_H/V_L$ 間の抗原結合部位からの距離が長いため、従来の Q-body では必要のなかったリンカーの付加が必須であり、またある程度長くないと効果がない事を意味している。

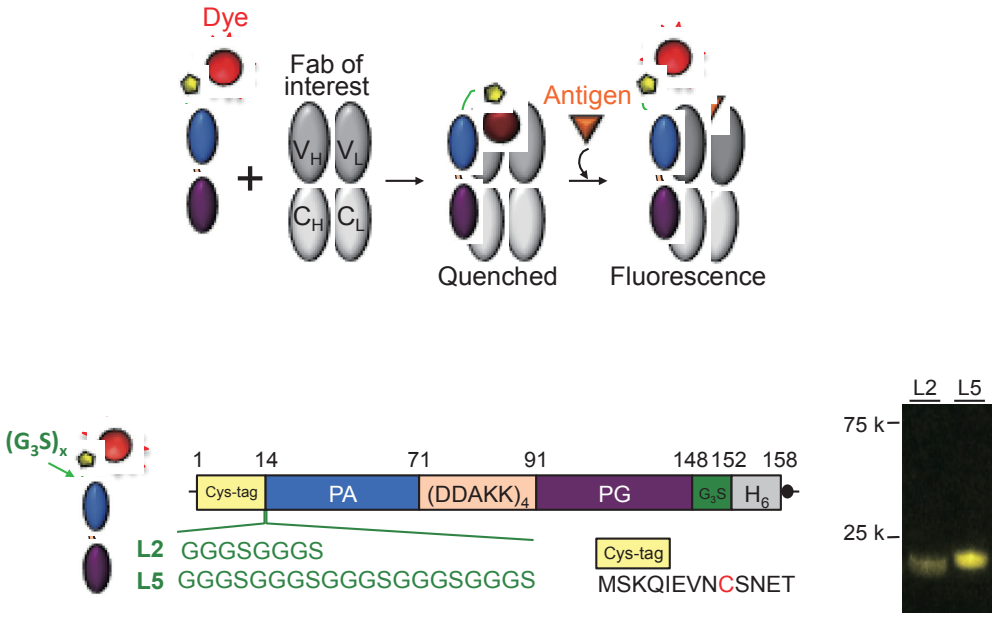



図5　Fab 断片 H 鎖(Fd 断片)結合タンパク質の蛍光プローブ化

ただし得られた脱クエンチの絶対値は数%であり、抗原未添加時との差は有意であったものの抗原定量法としてはやや物足りない結果であった。そこで最近、このプローブ中の二つのリンカー配列を、より剛直な構造を持つものに変更した改良プローブを作製した所、抗 BGP Fab による最大クエンチ率 48%、BGP-C7 による最大クエンチ解除率 38%、$EC_{50}$ 約 10 nM という値を得た（未発表データ）。ただしなぜか過剰量の Fab 添加によりクエンチ率が低下してしまい最大クエンチを与える Fab 濃度域が狭いことから、今後、さらなる改良を予定している。

### 3.2　抗体 L 鎖結合タンパク質の利用

最近、多発性骨髄腫の患者血漿中から、マイコプラズマ由来の新規抗体結合タンパク質 Protein M が発見された [12]。Protein M は数 nM の *K*d でヒト・マウスを含む多くの種由来の L 鎖と、クラス（κ / λ）を選ばず結合すること、分子量が約 50 k と大きくその C 末端近傍が抗原結合部位に近接するため抗原抗体反応を妨害することが、これまで報告された他の結合タンパク質とかなり異なっている。

我々は、この Protein M の強く多くの L 鎖に結合する性質を低分子認識抗体の Q-body 化に利用できないかと考え、前項と同様に蛍光プローブ化を試みた。前述の通り、Fab との複合体の X 線結晶構造から Protein M の C 末が Fab の抗原結合部位とかなり近い（~2 nm）ことが予想されたため、修飾部位は Protein M の C 末に $(SG_3)_2C$ を付加することとし、N 末側には蛋白質安定化のため Cys 残基を変異によって除いたチオレドキシン TrxΔC-$His_6$ を付加した発現ベクターを構築した（図 7）。

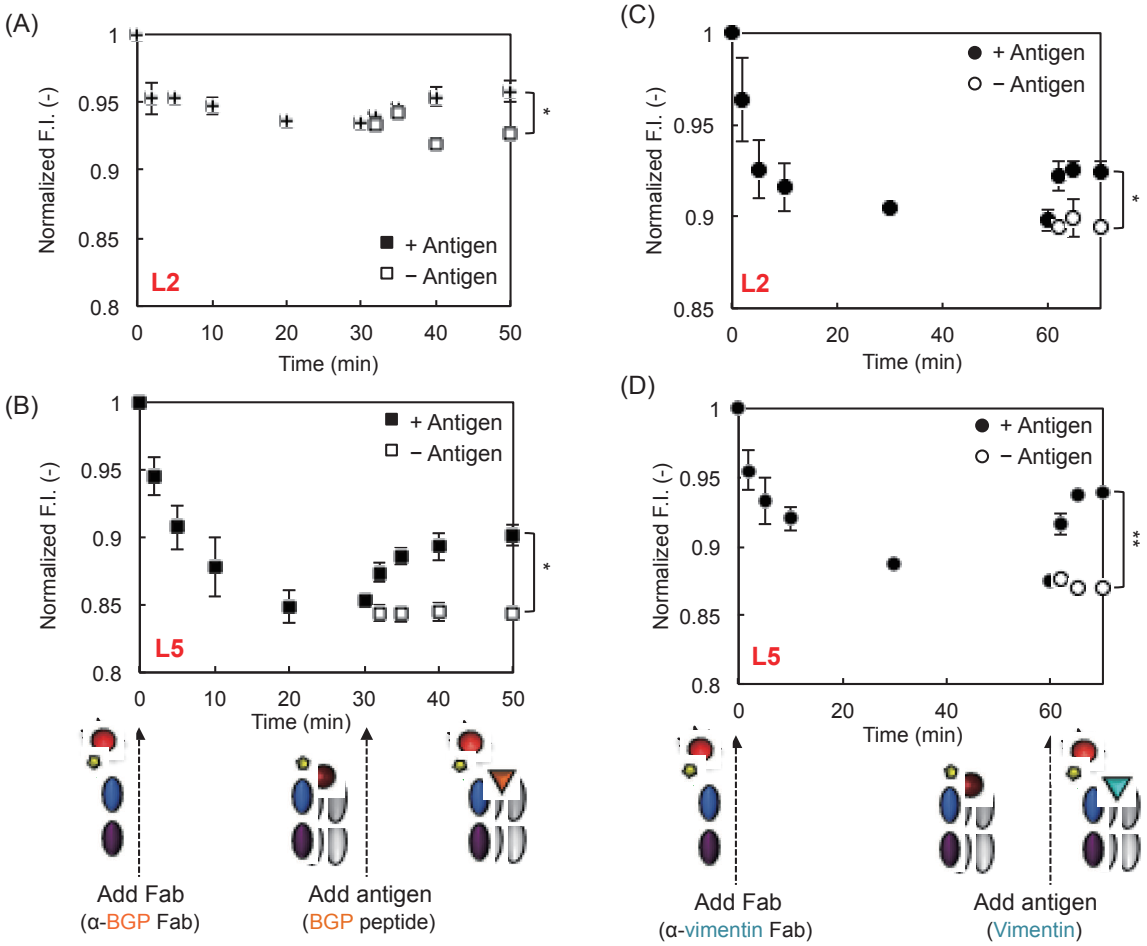



図6　PAxPG の抗体 Fab によるクエンチと抗原による脱クエンチ（成果 10 より引用）

これを大腸菌 SHuffle T7 Express LysY にて発現・精製した後、蛍光色素 TAMRA-C6 マレイミドを用いて C 末端をラベル化、ゲルろ過と金属アフィニティ精製によりフリーの色素をほぼ完全に除去した。このサンプル(PM probe)を用いて、前項同様の蛍光測定を行ったところ、5 nM の PM probe に抗 BGP Fab を 15 nM 程度加えることで最大 37%のクエンチが観察され、この複合体に抗原 BGP-C7 を添加した所抗原濃度依存的に脱クエンチが起き、最大 105%の蛍光増大を示した（図７）。また、組み換え Fab の材料として用いた抗 BGP IgG (KTM219)を Fab のかわりに用いた場合にも、Fab と同様のクエンチと脱クエンチが観察された（データ省略）。すなわち、PM probe を低分子認識抗体と混合し、そのクエンチならびに抗原による脱クエンチを観察することで、抗体を極めて簡便に Q-body 化しうる事が示された [13]。

またこの手法により高い応答を示す抗体があれば、従来法に従いその抗体遺伝子をクローン化して Q-body を作製することで、より高い応答を示す事が期待できる。すなわち本手法により、Q-body 化に適した抗体を簡便にスクリーニングできる可能性が示唆されたと言える。

### 3.3　可変領域の光架橋による Q-body 化

以上の抗体結合タンパク質を用いる方法は、簡便である一方、現状では得られる応答がやや限られる課題もある。そこで異なるアプローチとして光化学修飾法による天然抗体の Q-body 化を試みた。抗体可変領域にある特異的修飾可能な部位としては 2 個のアミノ末端 [14]の他に、核酸結合部位 (nucleotide binding site、NBS)と呼ばれる $V_H/V_L$ 界面の抗原結合部位近傍の芳香族アミノ酸からなる結合ポケットが知られている（図８A、B）。この部位に、アデニン、グアニン、トリプトファン、さらにインドール酪酸 [15] 等の複素環が特異的に結合するとともに、結合状態で UV-C を照射することで近傍の芳香族アミノ酸とクロスリンクが起き、共有結合させることが可能となる。

そこで我々は九州大学新藤充教授らとの共同研究により、NBS と相互作用するインドール酪酸と、蛍光色素 TAMRA を C8 リンカーで結合させたプローブ TAMRA-C8-IBA を合成し、これと抗 BGP ScFv を混合し 254 nm の UV を適量(1 J/cm²)照射した。その産物の蛍光を SDS-PAGE で分析した所、UV を照射した時のみ ScFv とほぼ等しい分子量約 30 k の蛍光バンドが見られた

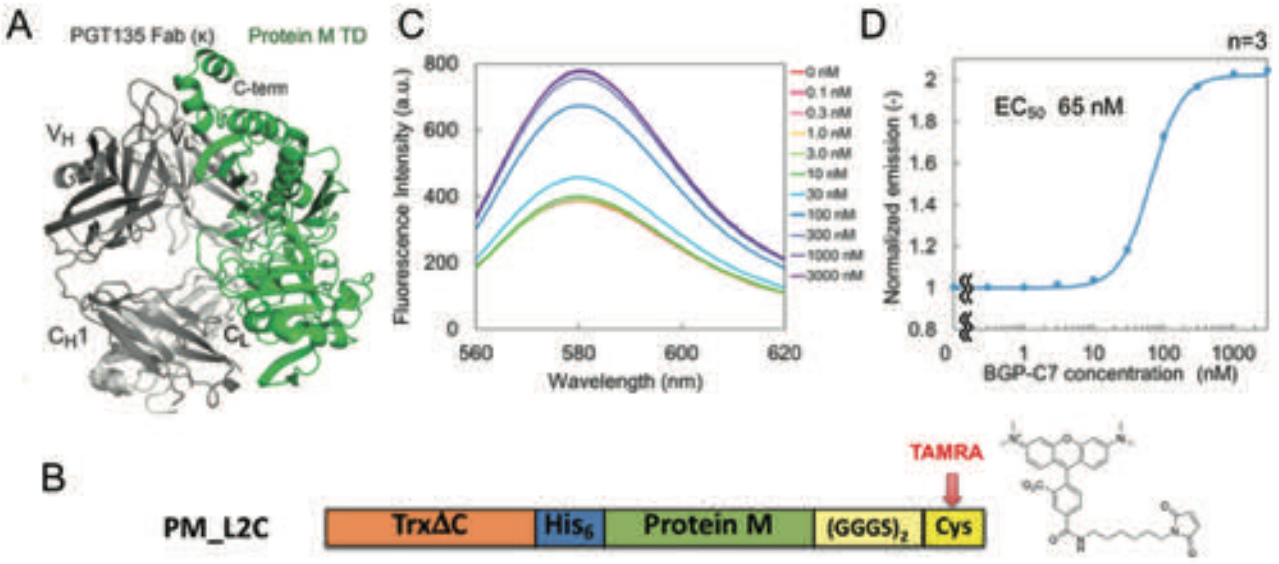



図7　PM probe (A) Fab-PM 複合体の結晶構造 [12]。(B) PM probe 遺伝子。C 末の Cys を TAMRA で修飾する。(C) 抗原濃度異存的な脱クエンチを示す蛍光スペクトル。(D) 蛍光強度の抗原濃度依存性

ことから、光化学修飾が成功したものと考えた（図８C、D）。そこで複合体を含む ScFv を Flag tag を用いて精製し、その蛍光強度を抗原 BGP-C7 を加えながら測定した。

この結果、抗原濃度依存的な最大約９倍の蛍光強度増大が観察され、本法により蛋白質レベルで Q-body を構築可能な事が示された（図８E、F）。驚くべき事に、この最大応答は従来法で調製した ScFv のそれを上回っており、より抗原結合部位に近い部位に蛍光色素を付加した効果である可能性がある。

また本法が他の抗体でも実施可能かどうかを調べるため、同様のクロスリンクを市販のウサギ抗ヒト血清アルブミン(HSA)ポリクローナル抗体でも行った。この結果、ScFv 同様に IgG においても TAMRA-C8-IBA の光化学修飾に成功し、最大 1.8 倍の抗原 HSA 依存的な蛍光強度増大が観察された（成果５、データ省略）。ただしこの時の光化学反応の効率は低く、反応に使われなかった TAMRA-C8-IBA も完全に除去するには至っていない。今後は化合物の構造を工夫して NBS との親和性と反応効率を向上させ、さらに洗浄法を改良して未反応色素をより効率よく除去することで、多くの抗体でより高い蛍光応答が得られるものと期待される。

### 3. 4　Q-body に適した抗体の選択

以上で構築した方法をもとに、Q-body 化に適した抗体を効率よく選択するための材料として、二種の抗体産生ハイブリドーマの作製とセルソーター上での Q-body の蛍光選択を可能にするための蛍光プローブ構築を行った（図９）。

ハイブリドーマ作製における対象抗原としては、血中バイオマーカーとしても用いられる低分子量蛋白質 Insulin と Cortisol を選び、それぞれそのままあるいは conjugate の形で二匹のマウスを免疫し、常法に従い細胞融合法によりハイブリドーマを作製し、クローン化を行った。その後の ELISA スクリーニングにより、各数種の陽性クローンを得る事が出来た。

後者のプローブとしては、IgG でも利用可能な PM probe を材料に、C 末側に EGFP を付加することで 488 nm のレーザーで励起し緑と赤の蛍光強度比の変化としてクエンチ・脱クエンチを評価できる FRET プローブの構築を試みた。

この結果、抗 BGP Fab と結合させることで抗原 BGP-C7 に応答して２波長で蛍光強度が変化するプローブを作製することができた。今後、このプローブを PEG オレイル化[16]し、ハイブリドーマ細胞膜上に固定化することで、細胞ごとに個々の抗体の蛍光応答を調べる予定である。

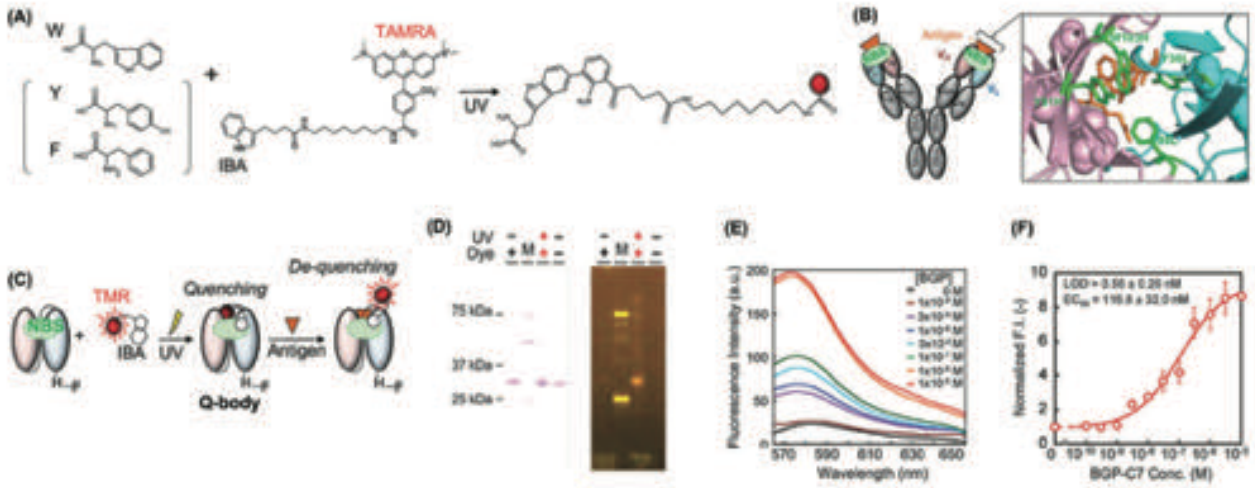



図8　核酸結合部位 NBS の光化学修飾による Q-body 作製。(A) NBS 中の芳香族アミノ酸と IBA との反応の模式図。(B) NBS の構造。(C) 実験のスキーム。(D) 反応後の SDS-PAGE (E)蛍光のスペクトルと(F)抗原濃度依存性。成果 5 より引用。

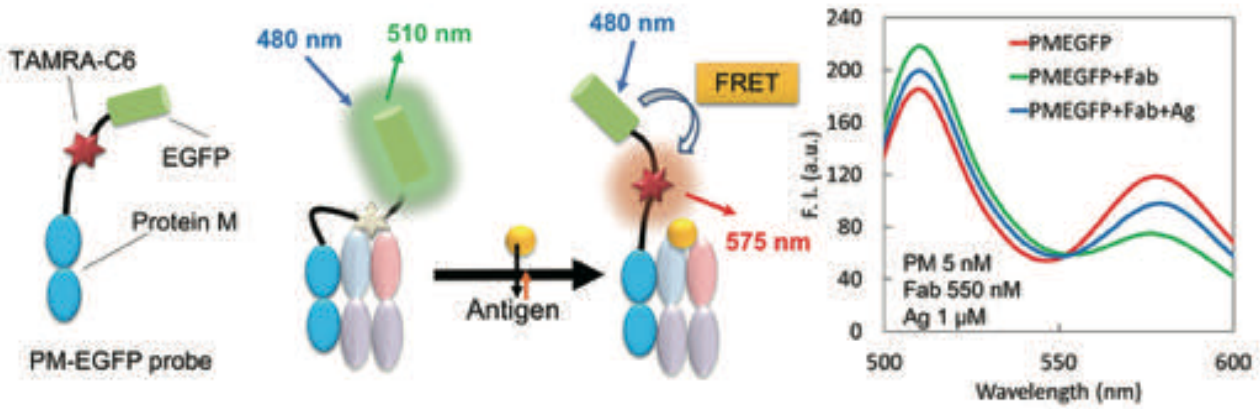



図9　PM-EGFP probe. PM probe への EGFP の融合により，セルソーターの Cyan レーザーでの励起と二色検出が可能になる。溶液中での抗 BGP Fab と BGP-C7 添加によるスペクトル変化を示す。

## 4．まとめ

以上、最終目的である Q-body に適した抗体のセルソーターによるスクリーニング結果を得るまでには至らなかったが、そのための手法開発と材料取得についてはほぼ目標を達成した。この間分かった事として、現状の細胞融合効率では、一匹のマウス由来脾臓細胞から得られるハイブリドーマの数はそれ程多くなく、実際にはそれぞれの細胞培養上清を用いて抗体を磁気ビーズなどで簡便精製し、個々に蛍光測定を行うことでも当面の目的は達せられる可能性が高い。ただしより多数のクローンを効率よくスクリーニングできる手法を作る事で、将来的に細胞表層提示した抗体のアフィニティ成熟と蛍光応答の最大化が同時に可能になると期待されることから、引き続きより良い手法の開発を目指したい。また、今回の研究により天然抗体の Q-body 化に関して多くの指針が得られたことは、今後の Q-body のより広い応用に向けて大いに役立つものと確信している。

## 謝辞

本研究の大部分は、公益財団法人中谷医工計測技術振興財団の平成 27 年度第 32 回技術開発研究助成【特別研究】の支援を受けて実施されました。また光化学修飾法による Q-body 構築では九州大学先導化学研究所新藤充教授、松本健司助教（現徳島文理大学）に、その他の仕事においても共著者の皆さん、研究室のスタッフ、学生の皆さんに大変お世話になりました。ここに厚く御礼申し上げます。

## 参考文献および発表論文

・参考文献

1) H. Ueda, K. Tsumoto, K. Kubota, E. Suzuki, T. Nagamune, H. Nishimura, P.A. Schueler, G. Winter, I. Kumagai and W.C. Mahoney "Open sandwich ELISA: A novel immunoassay based on the interchain interaction of antibody variable region" *Nat. Biotechnol.* **14**, 1714-8 (1996).

2) H. Ueda "Open sandwich immunoassay: a novel immunoassay approach based on the interchain interaction of an antibody variable region" *J. Biosci. Bioeng.* **94**, 614-9 (2002).

3) 生物化学的測定研究会編：免疫測定法～基礎から先端まで、講談社 (2014).

4) T. Hohsaka, D. Kajihara, Y. Ashizuka, H. Murakami and M. Sisido "Efficient incorporation of nonnatural amino acids with large aromatic groups into

streptavidin in in vitro protein synthesizing systems" *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 34-40 (1999).

5) R. Abe, H. Ohashi, I. Iijima, M. Ihara, H. Takagi, T. Hohsaka and H. Ueda "“Quenchbodies” : quench-based antibody probes that show antigen-dependent fluorescence" *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 17386-94 (2011).

6) H. Ohashi, T. Matsumoto, H.-J. Jeong, J. Dong, R. Abe and H. Ueda "Insight into the working mechanism of Quenchbody: Transition of the dye around antibody variable region that fluoresces upon antigen binding" *Bioconj. Chem.* **27**, 2248-53 (2016).

7) R. Abe, H.-J. Jeong, D. Arakawa, J. Dong, H. Ohashi, R. Kaigome, F. Saiki, K. Yamane, H. Takagi and H. Ueda "Ultra Q-bodies : quench-based antibody probes that utilize dye-dye interactions with enhanced antigen-dependent fluorescence" *Sci. Rep.* **4**, 4640 (2014).

8) H.-J. Jeong and H. Ueda "Strategy for making a superior Quenchbody to proteins: effect of the fluorophore position" *Sensors* **14**, 13285-97 (2014).

9) H.-J. Jeong, Y. Ohmuro-Matsuyama, H. Ohashi, F. Ohsawa, Y. Tatsu, M. Inagaki and H. Ueda "Detection of vimentin serine phosphorylation by multicolor Quenchbodies" *Biosens. Bioelectron.* **40**, 17-23 (2013).

10) H.-J. Jeong, T. Kawamura, J. Dong and H. Ueda "Q-bodies from recombinant single-chain Fv fragment with better yield and expanded palette of fluorophores" *ACS Sens.* **1**, 88-94 (2016).

11) J. Dong, T. Kojima, H. Ohashi and H. Ueda "Optimal fusion of antibody binding domains resulted in higher affinity and wider specificity" *J. Biosci. Bioeng.* **120**, 504-9 (2015).

12) R.K. Grover et al., " A structurally distinct human Mycoplasma protein that generically blocks antigen-antibody union" *Science* 343, 656-60 (2014).

13) 三宅ら，化学工学会第 82 年会要旨集 PB207 (2017).

14) J. Dong, H.-J. Jeong, H. Ueda, "Preparation of Quenchbodies by protein transamination reaction" *J. Biosci. Bioeng.*, **122,** 125-30 (2016).

15) N. J. Alves, B. Bilgicer et al., " Selective photocrosslinking of functional ligands to antibodies via the conserved nucleotide binding site" *Biomaterials*, **34**, 5700–10 (2013).

16) A. Kida, S. Kuroda et al., "Cell surface-Fluorescence Immunosorbent Assay for real-time detection of hybridomas with efficient antibody secretion at the single-cell level" *Anal. Chem.*, **85,** 1753-9 (2013).

・発表論文

1) S. Zhao, J. Dong, H.-J. Jeong, K. Okumura and H. Ueda "Rapid detection of the neonicotinoid insecticide imidacloprid using a quenchbody assay" *Anal. Bioanal. Chem.* (2018). Doi: 10.1007/s00216-018-1074-y.

2) J. Dong, R. Fujita, T. Zako and H. Ueda "Construction of Quenchbodies to detect and image amyloid β oligomers" *Anal. Biochem.* **550**, 61-7 (2018).

3) J. Su, D. Jinhua, T. Kitaguchi, Y. Ohmuro-Matsuyama and H. Ueda "Noncompetitive homogeneous immuno-

detection of small molecules based on beta-glucuronidase complementation " *Analyst* **143**, 2096-101 (2018).

4) Y. Ohmuro-Matsuyama and H. Ueda "Homogeneous noncompetitive luminescent immunodetection of small molecules by ternary protein fragment complementation" *Anal. Chem.* **90**, 3001-4 (2018).

5) H.-J. Jeong, K. Matsumoto, S. Itayama, K. Kodama, R. Abe, J. Dong, M. Shindo and H. Ueda "Construction of dye-stapled Quenchbody by photochemical crosslinking to antibody nucleotide-binding site" *Chem. Commun.* **53**, 10200-3 (2017).

6) H.-J. Jeong, T. Kawamura, M. Iida, Y. Kawahigashi, M. Takigawa, Y. Ohmuro-Matsuyama, C.-I. Chung, J. Dong, M. Kondoh and H. Ueda "Development of a Quenchbody for the detection and imaging of the cancer-related tight-junction-associated membrane protein claudin" *Anal. Chem.* **89**, 10783-9 (2017).

7) J. Dong, M. Shichiri, C.-I. Chung, T. Shibata, K. Uchida, Y. Hagihara, Y. Yoshida and H. Ueda "An Open Sandwich immunoassay for detection of 13(R,S)-Hydroxy-9(E),11(E)-octadecadienoic acid" *Analyst* **142**, 787 - 93 (2017).

8) C.-I. Chung, R. Makino, Y. Ohmuro-Matsuyama and H. Ueda "Development of a fluorescent protein-antibody FRET probe for the detection and imaging of osteocalcin" *J. Biosci. Bioeng.* **123**, 272 - 6 (2017).

9) H. Ohashi, T. Matsumoto, H.-J. Jeong, J. Dong, R. Abe and H. Ueda "Insight into the working mechanism of Quenchbody: Transition of the dye around antibody variable region that fluoresces upon antigen binding" *Bioconj. Chem.* **27**, 2248-53 (2016).

10) H.-J. Jeong, T. Kojima, J. Dong, H. Ohashi and H. Ueda "One-pot construction of Quenchbodies using antibody-binding proteins" *Anal. Methods* **8**, 7774 - 9 (2016).

・総説

1) Jinhua Dong and Hiroshi Ueda "Open sandwich immunoassay and its applications" in *Advances in Medicine and Biology*,**125**. (ed. L.V. Berhardt) pp. 123-159 (Nova Science Publishers Inc., New York; 2017).

2) H. Iwai, M. Kojima-Misaizu, J. Dong and H. Ueda "Creation of antigen-dependent ß-lactamase fusion protein tethered by circularly permuted antibody variable domains" *Methods Mol. Biol.* **1596**, 149-165 (2017).

3) J. Dong and H. Ueda "ELISA-type assays of trace biomarkers using microfluidic methods" *WIREs Nanomed. Nanobiotechnol.*, e1457 (2017).

4) 上田 宏, 董 金華, 鄭 熙陳, 阿部 亮二 "ネオバイオ分子としての Q-body" 生物工学 **94**, 489-91 (2016).

5) 上田 宏 "抗原結合により光る抗体 Q-body の創出" 細胞 **48**, 23-27 (2016).

・受賞

1) 董 金華, 鄭 熙陳, 上田 宏. 第 25 回生物工学論文賞 “Preparation of Quenchbodies by protein transamination reaction”(2017).

2) 北口 哲也, 上田 宏, ″抗体センサーの共同開発を基軸とした国際貢献″竹田国際貢献賞 (2017)

# 平成 28 年度（第 33 回）
# 開発研究助成　研究成果報告

生体組織深部の構造・機能解析を目的とした高空間分解能マルチモーダル顕微鏡の開発

（名古屋大学工学研究所　助教　山中　真仁）

細胞膜機能解明のための液中観察可能な先端増強超解像ラマン顕微鏡の開発

（大阪大学大学院工学研究科　教授　バルマ　プラブハット）

人工核酸プローブを用いた RNA メチル化効率定量法の開発

（大阪大学大学院医学系研究科　教授　河原　行郎）

超低侵襲かつ高感度な生体埋植用蛍光イメージングデバイスの開発

（奈良先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科　助教　笹川　清隆）

生体組織非侵襲計測のためのテラヘルツ波分光・偏光分光複合化技術の開発

（東京大学大学院工学系研究科　教授　牛田　多加志）

CdTe 成長層を用いた医療用高感度大面積 X 線画像検出器アレイの開発

（名古屋工業大学大学院工学研究科　教授　Niraula Madan）

カーボンナノチューブの近赤外アップコンバージョン蛍光を用いた生体イメージング

（京都大学エネルギー理工学研究所　准教授　宮内　雄平）

蛍光バイオセンサーを用いた分岐鎖アミノ酸の生細胞内イメージング

（京都大学大学院生命科学研究科　准教授　今村　博臣）

染色体工学技術を用いた薬物代謝酵素誘導を経時評価可能なシステムの開発

（鳥取大学染色体工学研究センター　准教授　香月　康宏）

好中球の NETs 成分の解析による血栓性疾患の早期検出法の開発

（姫路獨協大学薬学部　教授　通山　由美）

改良 FRET プローブを利用した、次世代細胞張力計測技術の開発

（東京大学大学院総合文化研究科　教授　道上　達男）

Dynamic Culture System で培養される受精卵のシグナル伝達解析

（岡山理科大学工学部　准教授　松浦　宏治）

$^{19}$F MR プローブによる超微量生体物質計測法の開発

（京都大学大学院工学研究科　准教授　田中　一生）

力学環境負荷および細胞牽引力計測が可能ながん細胞遊走解析システムの開発

（北海道大学大学院工学研究院　教授　大橋　俊朗）

注１　顔写真は研究責任者です。　　注２　所属等は助成研究実施時または執筆された当時のものです。

# 生体組織深部の構造・機能解析を目的とした高空間分解能マルチモーダル顕微鏡の開発

研究責任者　名古屋大学　工学研究所
電子工学専攻
助　教　　山中　真仁

## 1. はじめに

生体試料内部で生じる現象を明らかにするには、生体内部の構造や動態を可視化することが重要である。現在、光学イメージング技術は、生きた試料内部を非侵襲に観察できることから、生命科学の研究に盛んに利用されている。これまでに多光子励起蛍光顕微鏡 [1]、ラマン顕微鏡 [2]、光コヒーレンストモグラフィ（Optical Coherence Tomography: OCT）[3]などといった様々な光学イメージング技術が開発されてきており、脳などの生体組織の内部構造や生命現象を高解像に可視化することが出来てきている。さらに、2014 年のノーベル化学賞を受賞した超解像蛍光顕微鏡技術 [4,5]や超短パルス光と通信技術を応用した超高速光学イメージング技術 [6]のように従来の光学イメージングの限界を超えた技術も盛んに開発されており、その生命科学応用がますます広がりを見せている。

近年、我々の研究グループでは、生体試料内部を高感度に可視化が出来る光コヒーレンス顕微鏡（Optical Coherence Microscopy: OCM）[7]に着目し、従来の限界を超えたイメージング深度を目指した研究開発を進めている。OCM とは OCT と共焦点顕微鏡を組み合わせた光学イメージング技術であり、OCT の低コヒーレンス干渉計測と共焦点計測を併用することで、生体試料内部を高感度、ラベルフリー、かつ高空間分解能で可視化できる技術である。

OCM などの生体観察を目的とした光学イメージング技術において、非侵襲性や空間分解能も重要な要素であるが、生体試料の如何に深部までを可視化出来るかという点も非常に重要なポイントである。このイメージング深度を向上する取り組みとして Focal modulation 法や多光子顕微鏡など様々なものがあるが、そのうちの一つが“生体試料中の光減衰が小さい波長を利用する”である。光学イメージング技術で生体試料のより深部を観察する際には、主に波長 800-1300 nm 帯の近赤外域の波長の光が利用される。この波長域は生体の透過率が高いことから、生体の窓などと呼ばれ様々な光学イメージングに利用されてきた。OCM においてもこの生体の窓の波長帯はその開発当初から積極的に利用されてきた。OCM は 1994 年に Fujimoto らの研究グループから報告された技術であり、波長 800nm の近赤外波長帯が主に利用されていた [7]。その後、多光子顕微鏡などの他のイメージング技術と同様に、イメージング深度を向上させるために、光散乱係数が波長 800nm 帯よりも小さい波長 1000 または 1300nm 帯を利用した技術が報告されるようになった [8-12]。

近年では、波長 1300nm 帯が生体深部イメージングに適している波長帯として認識されるようになっており、例えば、多光子励起蛍光顕微鏡以外にも、波長 1300nm 帯を用いた OCM によってマウス脳表面から 1.3mm 程度深部の 3 次元構造を高空間分解能イメージングを行った例が報告されている[11]。また、波長 1300nm 帯は OCT にも盛んに利用されており、マウス脳深部の構造の可視化などに利用されている[12]。しかしながら、これらの波長域を用いた場合でも、生体観察におけるイメージング深度は制限を受けている。その主な要因は、生体試料に起因する光散乱や水による光吸収による光減衰である。上述のように現在波長 1300nm 帯の利用が深部イメージングの主流になっているが、近年、イメージング深度を向上させるために波長 1700 nm 帯が注目され始めている。水の吸収係数は近赤外の波長域では波長が長くなるほど大きくなる。しかし、波長 1700nm 帯において水の吸収係数の極小値が存在する（図１）。光散乱係数は波長が長くなるほど小さくなるため、観察対象が不透明かつ高散乱体で、なおかつ眼球のような水が非常に多いものでなければ波長 1700nm 帯を利用することでイメージングが可能な深度が向上できるのではと期待されるようになっている。この波長 1700 nm 帯を用いた深部イメージング技術（OCT、OCM、多光子励起蛍光顕微鏡）については、我々の研究グループ以外にも複数の研究グループが研究開発に取り組んでおり、その有用性が実験的に示され始めている。我々の研究グループでは、波長 1700nm 帯スーパーコンティニューム（Supercontinuum: SC）光源を開発し、この波長帯における超高分解能 OCT を初めて実現してきた[13)-15)]。さらに、これまでに、OCT の 3 次元高空間分解を向上するために、波長 1700nm 帯光源を利用した時間領域方式 OCM の開発に取り組み、波長 1700nm 帯を用いた OCT や OCM において最も高い 3 次元空間分解能を達成してきた。さらに、同じ測定感度の条件下では、波長 1300nm 帯 OCM より波長 1700nm 帯 OCM の方がマウス脳イメージングにおいて大きなイメージング深度を実現できることを示してきた[16]。

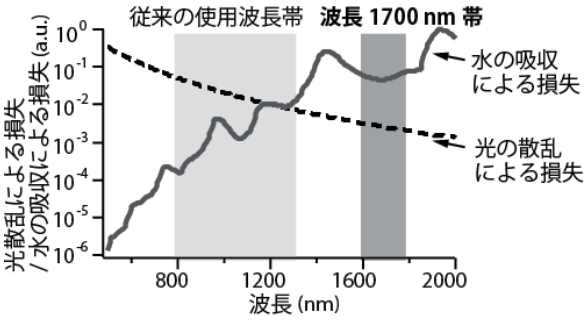



**図1　近赤外波長域における光散乱係数と水の光吸収係数**

このように我々の研究グループでは、波長 1700nm 帯を利用した OCM イメージング技術の開発を進め、これまでに成果を挙げてきた。しかしながら、これまで開発してきた波長 1700nm 帯 OCM は干渉信号計測に時間領域方式を利用していたために、その 3 次元イメージング速度は生体の動態を観察するには不十分であった（XY 平面のピクセル数が 512×512 の場合、およそ 1 セットのデータ取得時間が 40 分程度）。それに加え干渉信号検出感度が比較的低いという課題もあった。また、OCM における生体試料イメージングでは、生体試料に光を照射した際に試料からの反射や散乱光を検出するため、試料中の屈折率の異なる構造体は観察可能であるが、その組成情報などまでを可視化することは困難であった。そのため、本研究では、まず波長 1700nm 帯 OCM のイメージング速度と干渉信号検出感度を向上させるために、信号検出に分光器と高速ラインスキャンカメラを利用するスペクトル領域方式の波長 1700nm 帯 OCM の開発を行った。また、そしてこれまでに開発を進めてきた超短パルスファイバーレーザー光源を改良、利用して、試料の組成情報の可視化も同時に行うマルチモーダルイメージング技術への発展を目指し、多光子励起蛍光顕微鏡イメージングまたは希土類添加ナノ粒子を用いた蛍光イメージングの導入にも取り組んだ。

## ２．波長 1700nm 帯スペクトル領域方式光コヒーレンス顕微鏡

波長 1700nm 帯スペクトル領域方式 OCM では、我々の研究グループで開発した波長 1700nm 帯 SC 光源を利用した。OCM における信号計測は干渉計測を利用しているため、高い奥行き方向空間分解能を得るためには、波長が広帯域な光源を利用することが重要である。また、光源ノイズが大きいと OCM 信号検出感度が低下してしまうため、光源ノイズが低い光源を利用することも重要である。我々の SC 光源では、エルビウム（Er）添加ファイバーを用いた超短パルスファイバーレーザーを種光として用いている。この種光を Er 添加ファイバーを用いた光増幅器で増幅した後に、大口径フォトニック結晶ファイバーを用いて超短パルスの分散補償を行った。その後、分散補償を行った超短パルス光を偏波保持ファイバーに入射させ、ファイバー中のラマン散乱効果で生じるソリトン自己周波数シフトにより中心波長 1700nm 帯の超短パルスを生成した。その波長 1700nm 帯超短パルス光を高非線形ファイバーに入射させ、非線形光学効果によりスペクトル幅が 380nm の広帯域な波長 1700nm 帯光を生成した（図２a）。我々の SC 光生成では一般的な SC 光生成とはことなり、ファイバー中での自己位相変調のみを利用して SC 光生成を行っており、光源ノイズを低く保てるという特長を有している。今回生成し、OCM に利用した広帯域光の出力は 30 mW であった。

我々の開発した波長 1700 nm 帯スペクトル領域方式 OCM を図２b に示す。開発した OCM では、干渉計測に広帯域ファイバーカップラーを用いた低コヒーレンスマイケルソン干渉計を利用している。プローブアームはレーザー走査型顕微鏡用光学系で構成されており、2 軸ガルバノスキャナーで X-Y 走査を行う。試料への SC 光の集光には、波長 1700 nm 帯においても十分な透過率が確保できる対物レンズを利用した。プローブアームとリファレンスアーム間の波長分散差は、リファレンスアームに設置した光学ガラスによって補償した。スペクトル領域方式の場合、前述の通り、干渉信号検出には分光器とラインスキャンカメラを利用する。本研究で使用する SC 光の中心波長は 1700nm、波長幅（半値全幅）は 380 nm である。本研究では広帯域なスペクトルを余すこと無く、なおかつ十分な波長分解能で検出するため、光学設計ソフトウェア Zemax を利用し、収差の少ない分光器を設計、開発した。その結果、波長分解能 0.9nm で SC 光のほぼ全域を検出可能な分光器の開発に成功した。使用したラインスキャンカメラのカメラレートは 47kHz であった。時間領域方式 OCM の際の光路長走査速度が 100Hz であったことを考えると、本研究で開発するスペクトル領域方式を用いることで 16 回程度平均化を行ったとしてもこれまでより 30 倍程度高速に 3 次元画像が取得できる。

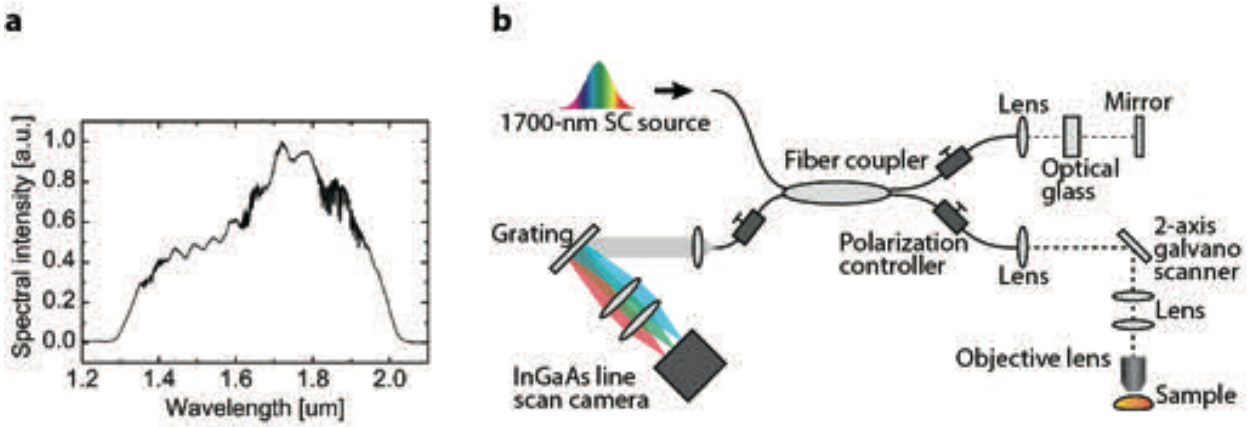



図2 (a)波長 1700nm 帯の SC 光源のスペクトルと(b)開発した波長 1700nm 帯スペクトル領域方式光コヒーレンス顕微鏡の光学系

また、一般的にスペクトル領域方式では、分光器で検出したスペクトル領域の信号をフーリエ変換することで干渉波形（OCM 信号）を得る。このため、サンプルアームとリファレンスアームの光路長差がゼロの位置を中心に奥行方向に対象の位置に実際の OCM 信号と同様のゴースト信号が出る。このアーチファクトと実際の OCM 信号と重なってしまうと実際の構造を観察しているのか、アーチファクトを観察しているのかが判別つかなくなる。このため、一般的なスペクトル領域方式の場合、光路長差がゼロの位置（ゼロディレイライン）を観察試料外にセットして試料観察を行うことでアーチファクトとの重なりが出ないようにしている。しかし、我々の開発したスペクトル領域方式 OCM では高空間分解能を得るために広帯域光全域を検出できるように設計した影響で波長分解能がそれほど高くなく、ゼロディレイラインから 600–800μm 程度離れただけで信号検出感度が 10dB 程度低下してしまうという状態であった。本研究ではこの問題を解決するために、アーチファクトを除去し、信号検出感度が高いゼロディレイライン位置を試料内部にセットできるフルレンジ法を使用した [9]。このフルレンジ法はアーチファクトを除去できるだけでなく、信号検出感度の向上にも有効である。

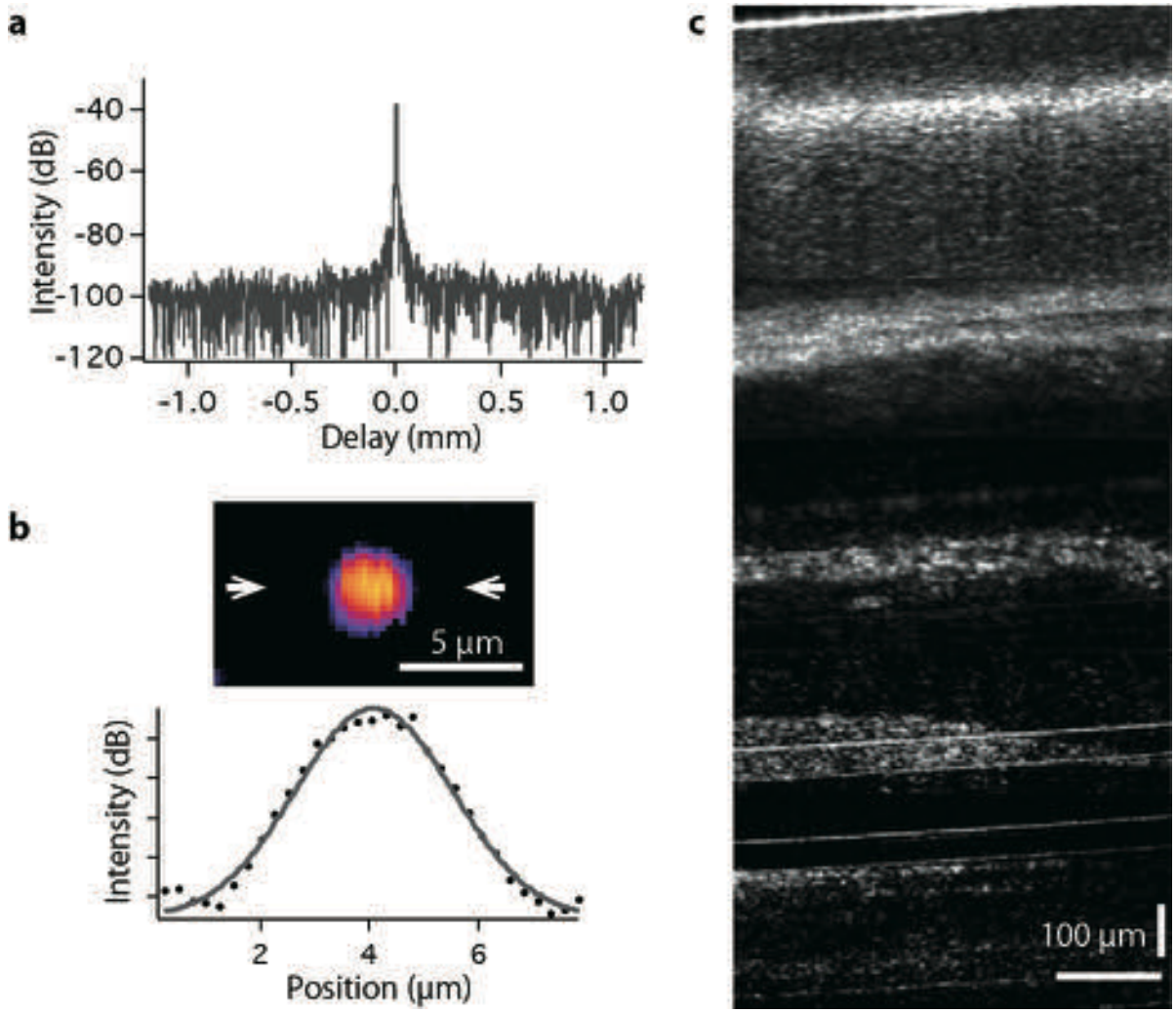



図3 (a)開発した OCM で測定した干渉波形（38dB 減衰後）、(b)直径 200nm のポリスチレンビーズの OCM 像（X-Y 平面）と強度プロファイル、(c)マウス脳の OCM 像（X-Z 平面）

開発したOCMの深さ方向（Z軸方向）の空間分解能および信号検出感度を測定するために、対物レンズの集光位置にミラーを配置し、干渉波形を測定した（図３a）。この測定では、検出器の光飽和を避けるためにサンプルアーム中の光路中に往復で38 dBの信号減衰をするNDフィルターを配置した。その結果、開発したOCMの深さ方向の空間分解能は生体試料中（屈折率を 1.38 と仮定）では3.8 μmが得られるという結果が得られた。また、信号測定感度は 100dB であった。時間領域方式OCMの信号測定感度は93dBであったため、本研究で開発したスペクトル領域方式OCMで7dBの信号測定感度の向上が実現できた。このように、本研究では他研究グループの波長1300nm帯OCMと比較しても遜色ないレベルまで信号測定感度を向上できた。

観察面内方向（X-Y方向）の空間分解能を評価するために､ゼラチン中に分散させた直径200nmのポリスチレンビーズを観察した。そのイメージング結果と強度ラインプロファイルを図 3b に示す。この結果から、観察面内方向におよそ3.4μmの空間分解能が得られていることが確認できた。今回の測定では対物レンズに入射させるビーム径などが最適化されていなかった。このため、観察面内方向空間分解能が今後光学系を最適化することでより高い面内方向空間分解能を得ることが期待できる。

開発したOCMで実際に生体試料を観察した際に得られるイメージング深度を評価するために、マウス脳の観察を行った。本実験では、業者から購入したマウス脳（マウスから採取後数日経過）を使用した。観察を行う際には、マウス脳をリン酸緩衝生理食塩水に浸し、大脳皮質側から観察を行った。Z方向の断層像をOCMで観察した結果を図３c に示す。この結果から、今回開発したOCM ではマウス脳表層から 1.8mm 程度まで観察することに成功しており、海馬上部と思われる部位までを可視化出来ていることが確認できた。今回の測定ではマウス脳内部で広帯域光が受ける分散を補償していない。このため、深部では各波長成分の位相がズレているため、干渉波形の半値全幅が波長幅とスペクトル波形で決まる理論値より大幅に大きくなり、深さ方向の空間分解能が低下していることが予想される。さらに、干渉波形の半値全幅が理論値よりも大幅に大きくなっている場合、干渉波系のピーク強度も低下するため信号検出感度も低下していることが予想される。これらの点に関しては、リファレンスもしくはサンプルアームに追加の光学ガラスを挿入することである深さにおける深さ方向の空間分解能と信号検出感度を改善できることを、本年度に我々の研究グループの OCT を用いた研究にて明らかにすることが出来た。この方法をOCMにも利用すれば、より深部の観察ができるようになると期待できる。また、今回の実験では収差によるレーザー集光スポットのボケに起因する空間分解能の低下および信号検出効率の低下の抑制については一切行っていない。近年、波面補償光学を用いた集光スポットボケ抑制技術が蛍光顕微鏡や OCT にて多数報告されている。この技術を用いることでさらなるイメージング深度向上も期待できる。

### ３．多光子励起蛍光発光測定および希土類添加ナノ粒子の蛍光イメージング

本研究では、マルチモーダルイメージング技術を実現するために、OCM 技術の高速化や高感度化だけでなく、同波長帯を用いた蛍光イメージングの導入についても取り組んだ。取り組んだ内容は主に２点で、同波長帯の超短パルスレーザーを用いた多光子励起蛍光発光と希土類添加ナノ粒子のアップコンバージョン蛍光発光の利用についての検討である。

同波長帯の超短パルスレーザーを用いた多光子励起蛍光発光については、我々の研究グループでOCT用として開発してきた波長1600nm帯超短パルスレーザー光源を改良し、利用した。蛍光色素DyLight830-B2（吸収極大844nm / 発光極

大 875nm）の水溶液にレーザー光を集光し、蛍光スペクトルを測定した結果を図４に示す。図４に示すとおり、OCT 用として開発してきた超短パルスレーザー光源を用いて２光子励起による発光が得られることを確認できた。今回の測定では低 NA の対物レンズを用い、キュベット中の蛍光溶液を励起していたため、比較的高いレーザーパワーでの測定となっているが、高 NA 対物レンズを用いることで更に低レーザーパワーで２光子励起ができると期待できる。また、対物レンズなどの光学部品で生じる分散の補償も今回は行っていない。分散補償などを行うことで、更に２光子励起に必要なレーザーパワーを抑えることができると考えられる。

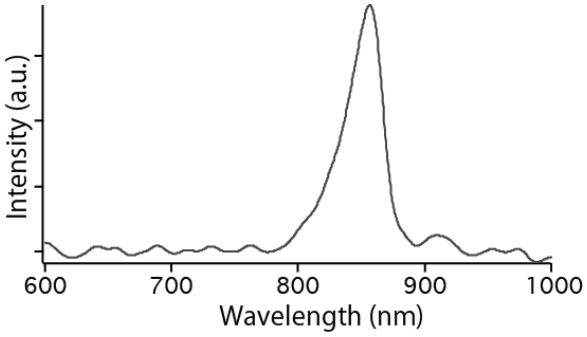



**図4　２光子励起蛍光発光スペクトル**

上述の通り、本研究では蛍光色素の２光子励起の利用の検討と並行して、希土類添加ナノ粒子のアップコンバージョン蛍光発光の利用の検討も行った。希土類添加ナノ粒子とは $Y_2O_3$ や $NaYF_4$ といった母材に希土類のイットリビウム（Yb）、エルビウム（Er）、ツリウム（Tm）などを添加したナノ粒子のことで、近赤外波長で励起した際に励起光の波長より短い可視光から近赤外波長域で発光する特長を持っている（アップコンバージョン発光）。近年、我々は波長 1560nm 帯で Er 添加ナノ粒子を励起することで、蛍光イメージングに利用できるほどの蛍光発光が得られることを確認している。このアップコンバージョン発光は CW レーザーでも十分励起でるものであり、本研究で開発しているスペクトル領域方式 OCM で使用している光源でも十分に蛍光発光が得られると考えられる。実際に、HeLa 細胞に導入した直径 60 nm の Er 添加ナノ粒子の蛍光イメージングを行った結果を図５に示す。この結果に示すように、細胞に導入可能な粒径のナノ粒子で蛍光イメージングを行えることを確認できた。

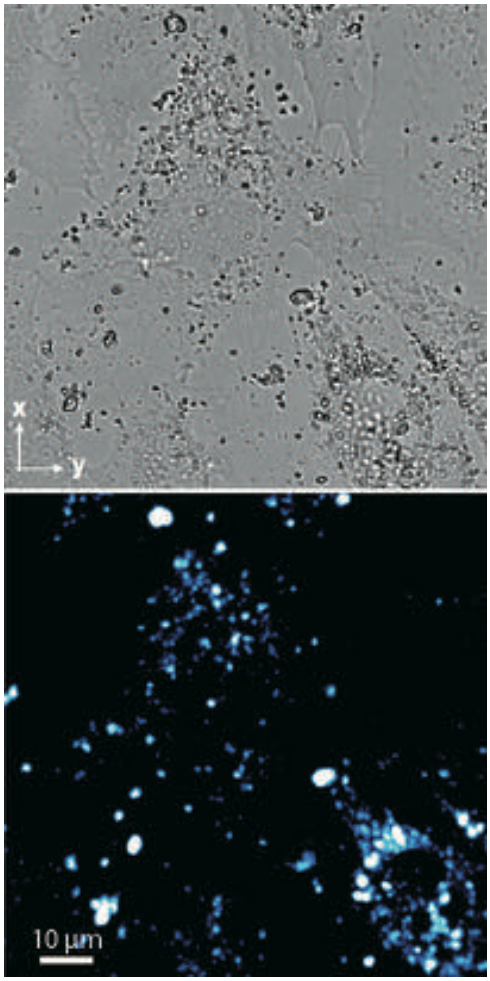



**図5　希土類添加ナノ粒子を導入した HeLa 細胞の明視野像（上）と蛍光像（下）**

## ４．まとめ

本研究では、生体組織内部の構造と組成情報を可視化する高空間分解能マルチモーダル顕微鏡の開発を目指し研究開発を進めた。波長 1700nm 帯スペクトル領域方式光コヒーレンス顕微鏡では光コヒーレンス顕微鏡の高速化および高感度化を達成し、マウス脳表層から 1.8mm 程度内部の海馬付近までを可視化することに成功した。組

成情報を可視化するために検討した蛍光イメージングでは、光コヒーレンス顕微鏡に用いることが出来る超短パルスレーザー光源を用いることで市販の蛍光色素の２光子励起蛍光や希土類ナノ粒子のアップコンバージョン発光イメージングが行えることを確認でき、今後のさらなる研究展開に期待が持てる結果が得られたと考えられる。

## 謝辞

本研究の一部は、公益財団法人 中谷医工計測技術振興財団の開発研究助成（平成 28 年度）により行われました。ここに深く感謝の意を表明いたします。

## 参考文献および発表論文

参考文献

1) F. Helmchen & W. Denk, *Nat. Methods* **2**, 932-940 (2005)
2) K. Hamada, K. Fujita, N. I. Smith, M. Kobayashi, Y. Inouye, & S. Kawata, *J. Biomed. Opt.* **13**, 044027 (2008)
3) D. Haung, E. A. Swanson, C. P. Lin, J. S. Schuman, W. G. Stinson, W. Chang, M. R. Hee, T. Flotte, K. Gregory, C. A. Puliafito, & J. G. Fujimoto, *Science* **254**, 1178-1181 (1991)
4) S. W. Hell & J. Wichmann, *Opt. Lett.* **19**, 780-782 (1994)
5) E. Betzig, G. H. Patterson, R. Sougrat, O. W. Lindwasser, S. Olenych, J. S. Bonifacino, M. W. Davidson, J. Lippincott-Schwartz, & H. F. Hess, *Science*. **313** (5793): 1642–1645
6) K. Goda, K. K. Tsia, & B. Jalali, *Nature* **458**, 1145–1149 (2009).
7) J. A. Izatt, M. R. Hee, G. M. Owen, E. A. Swanson, & J. G. Fujimoto, *Opt. Lett.* 19 (8), 590-592 (1994)
8) A. Unterhuber, B. Považay, B. Hermann, H. Sattmann, A. Chavez-Pirson, & W. Drexler, *Opt. Express* **13,** 3252–3258 (2005).
9) S. Makita, T. Fabritius, & Y. Yasuno, *Opt. Express* **16,** 8406–8420 (2008).
10) B. Považay, B. Hermann, A. Unterhuber, B. Hofer, H. Sattmann, F. Zeiler, J. E. Morgan, C. Falkner-Radler, C. Glittenberg, S. Blinder, & W. Drexler, *J. Biomed. Opt.* **14,** 041211 (2007).
11) V. J. Srinivasan, H. Radhakrishnan, J. Y. Jiang, S. Barry & A. E. Cable, *Opt. Express* **20,** 2220–2239 (2012).
12) W. J. Choi & R. K. Wang, *J. Biomed. Opt*. **20,** 106004 (2015).
13) S. Ishida, N. Nishizawa, T. Ohta, & K. Itoh, *Appl. Phys. Express* **4,** 052501 (2011).
14) S. Ishida, & N. Nishizawa, Biomed. *Opt. Express* **3,** 282–294 (2012).
15) H. Kawagoe, S. Ishida, M. Aramaki, Y. Sakakibara, E. Omoda, H. Kataura, & N. Nishizawa, Biomed. *Opt. Express* **5,** 932–943 (2014).
16) M. Yamanaka, T. Teranishi, H. Kawagoe, & N. Nishizawa, *Sci. Rep.* **6**, 31715 (2016)

学会発表

1) [Invited] M. Yamanaka, H. Kawagoe, T. Teranishi, & N. Nishizawa, "Optical coherence tomography and microscopy in optical windowⅢ (1600-1870 nm) for high-resolution deep-tissue imaging," PCG 2017, 2-2s-2, (Sands Expo and Convention Center, Singapore, July 31-Aug 4, 2017)
2) M. Yamanaka, H. Kawagoe, N. Nishizawa, High-resolution deep-tissue imaging by optical coherence microscopy in 1700-nm spectral window, The 24th Congress of the International Commission for Optics (Tokyo, Japan, 21-25. Aug. 2017), W1C-03

# 細胞膜機能解明のための液中観察可能な先端増強超解像ラマン顕微鏡の開発

究責任者　大阪大学大学院工学研究科　精密科学・応用物列学専攻
教　授　　バルマ　プラブハット

## １．はじめに

細胞膜は細胞同上を隔てる単なる仕切りではなく、細胞外からの情報伝達を担う受容体や、チャネルとして働く膜タンパク質などを抱える生命活動に不可欠なプラットフォームである。加えて、多くのウィルスや薬物も細胞膜を足掛かりとして作用するため、細胞膜上のこれらの現象を単分子レベルで解明することは、創薬科学の発展にも大きく貢献する。

一方で、例えばタンパク質の反応場として機能する脂質ラフトや各種タンパク質はナノスケールかつランダムに分布しており、これらを同じスケールで観察することは未だ困難であるため、細胞膜と生体分子がどのように相互作用して機能するのかは、ほとんど解明されていないのが現状である。細胞膜の分析が進まない原因の一つとしては、細胞膜がリン酸と長鎖脂肪酸から成る非常に単純な構造であることが挙げられる。例えば、タンパク質であればアミノ酸配列から生化学的に分析するといった確立された技術が存在するが、細胞膜はその構造の単純さ故に従来の生化学的手法が通用しない。現在は、冷凍法や界面活性剤で特定の脂質を可溶化させる手法が主に用いられているが、処理過程で細胞膜の形状や分布が変化し得る侵襲的な手法であるため、強力なエビデンスが得られない。蛍光測定もしばしば用いられる手法であるが、これも細胞膜構造の単純さ故に特定の脂質にのみ蛍光プローブを染色するのが困難という課題がある。また、あくまでも蛍光プローブを観察する間接的な手法であること、光の回折限界により空間分解能が数 100nm の制限されることなどが課題としてある。特別な処理や染色を必要としない、非染色・非侵襲でありのままの細胞膜をナノスケール観察できる技術を開発できれば、細胞膜の機能解明に大きく貢献できる。

## ２．内容

本研究では、細胞膜をありのままにナノ観察するため、液中環境で動作する先端増強ラマン散乱 (tip-enhanced Raman scattering: TERS) 顕微鏡の開発を目指した（図 1）[1),2)]。TERS 顕微鏡は、金属探針先端の局在電場（近接場光）によりナノ空間分解解能でラマンイメージングが可能な唯一の技術であり、単分子レベルの分解能も報告されている [3)]。非染色かつ非侵襲に分子振動情報から分子構造を同定できる極めて強力な分析法である。実際に、乾燥した脂質二重膜で様々な脂質の分布をナノスケールで分析することに成功しており [4)]、細胞膜観察に適した高い分析能を有し

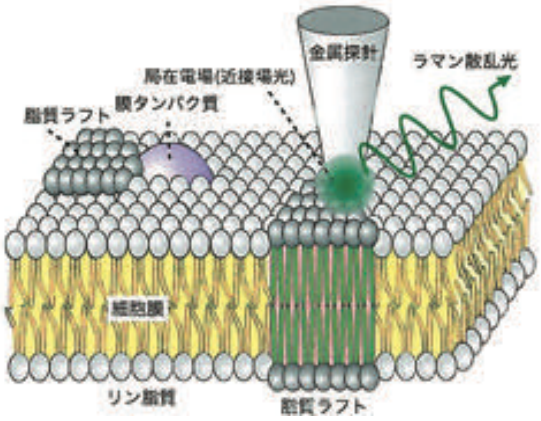



図1　TERS 顕微鏡による細胞膜ナノ分析

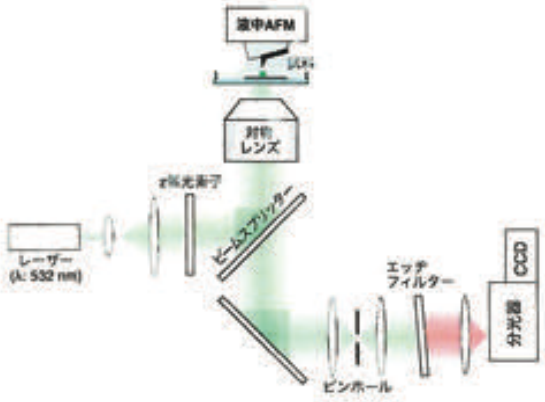



図2　TERS 顕微鏡光学系

ていると考えられる。

しかし、実用レベルの TERS 顕微鏡は大気中観察しかできないのが現状である。ありのままの細胞観察を TERS 顕微鏡で実現するためにも、液中観察可能な TERS 顕微鏡が不可欠である。以下に液中 TERS 顕微鏡開発における成果をのべる。

## ３．成果

まずは、液中環境下でも精密に全属探針を位置制御できる液中原子間力顕微鏡を搭載した TERS 顕微鏡の光学系構築から行った。図２に簡略化した実験系を示す。波長 532nm の入射レーザーを、z 偏光素子用いてラジアル偏光にした後、対物レンズで集光することによって、z 偏光を探針先端で誘起した [5]。これによって、近接場光を効率的に試料に照射することが可能となる。検出系には、ピンホールを導入しノイズを大幅に低減できるようにした。近接場光によって発生したラマン散乱光は、エッヂフィルター・分光器を通って EM-CCD で検出される。実際の細胞膜観察を行う場合には、細胞の凹凸を考慮し対物レンズを上下に制御できる系が必要と考えられるが、まずは凹凸のない脂質二重膜の観察に注力した。

その他に、TERS顕微鏡において重要な要素となるのが、近接場光を発生させる金属探針で、ある。近接場光の強度や分布（空間分解能）は金属探針先端の形状に依存するため、精度よく所望の検出感度と分解能を得られる金属探針作製技術が求められる。金属探針を鋭くすれば、空間分解能は向上するが、照明できるエリアが狭くなるため感度は低下する。つまり、それぞれはトレードオフの関係にあるため、バランスを考え細胞膜観察に適した検出感度と分解能で測定できる金属探針作製法が重要である。

そこで、電子ビームデポジション法とスパッタリング技術を用いた新しい金属探針作製技術を開発した。フェロセン昇華雰囲気下で、探針先端に電子ビームを照射すると、フェロセンが析出し直径 10nm 以下のアモルファスカーボンの探針が作製される（図３(a)、(b)）。この探針をスパッタリング法で金属コーティングすることによって、ナノロッド形状の光アンテナを探針先端に作製できる（図３(c)）。従来用いられてきたような真空蒸着去によるランダムな金属粒子の吸着に依存しないため、極めて高い再現性で光アンテナを探針先端に作製することが可能である。また、図３(d)に示すように、電磁場計算によってナノロッド形状で強い増強場が得られることも確認できた。電子ビームの照射時間でロッドの長さ、スパッタリング時間で太さを制御できるため、必要に応じて分解能と増強度を調整可能である。図３(e)は、ロッドの長さと太さに対する増強度を示しており、特定の長さでプラズモン共鳴による高強度光場が発生していることが分かる。また、想定通り太い方が増強度は高いが、それに反して空間分解能は低下することが確認できた。

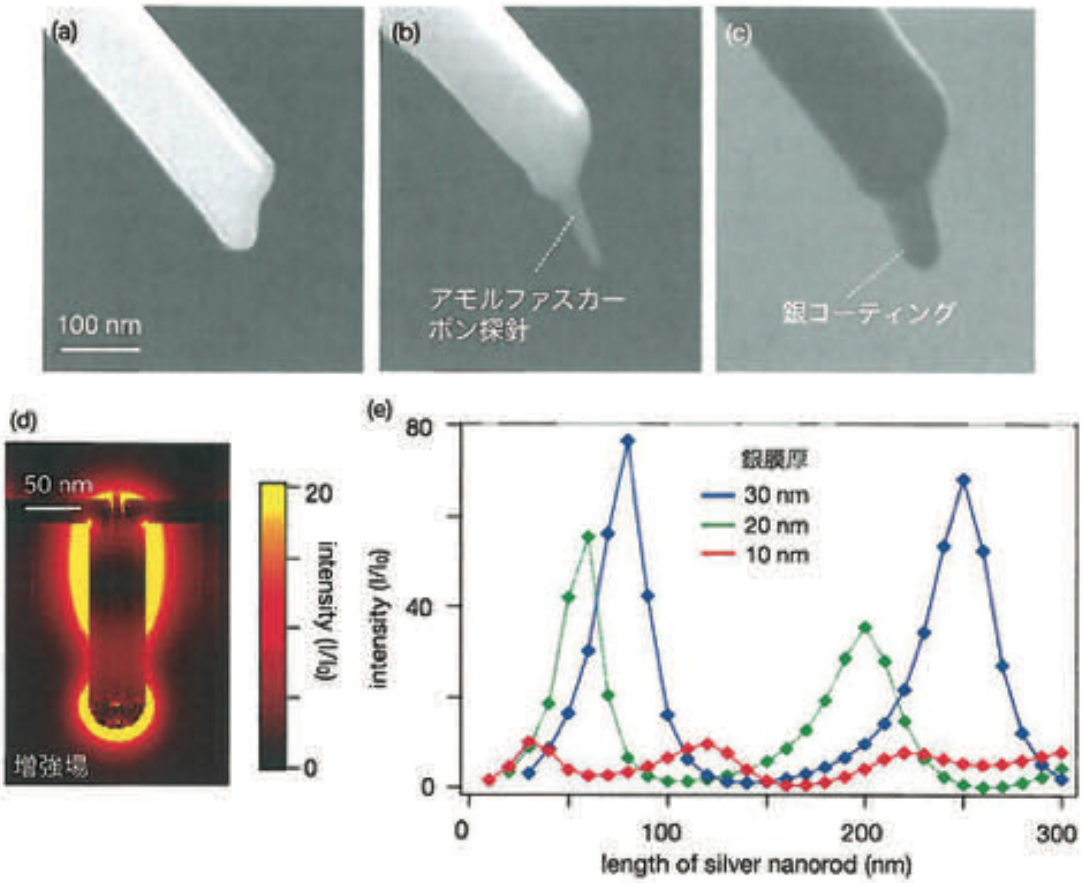



**図3（a）カンチレバー探針の電子顕微鏡像（b）電子ビーム電子デポジションで作製したアモルファスカーボンで探針の電子顕微鏡像（c）銀スパッタリングによって作製した銀ナノロッド状構造の電子顕微鏡像（d）電磁場計算によって計算した提案する金属探針の周辺電場分布（e）増強場強度のロッド長さ・太さ依存性**

探針は高価であるため、金属探針のリサイクル法についても合わせて検討した。銀探針の場合は、硝酸に 1 時間浸した後、overnight でプラズマエッチングすることによって、図 4 のようにリサイクルできることを見出した。リサイクル後に再度金属探針を作製できることも確認できている。これは硝酸によって銀を溶解した後、プラズマエッチングでカーボン探針やその他の残留物を除去できたためだと考える。硝酸のみ、もしくはプラズマエッチングのみの場合ではリサイクルすることはできなかった。金探針の場合は、硝酸を王水に置き換えることによってリサイクル可能であることも確認できている。

さらに、液中測定において重要となるのは、金属探針の保護技術である。溶液中では様々な物質が容易に金属探針に吸着し、ラマン散乱を発するため、これが大きなノイズとなってしまう。これに対しては、銀を用いた場合に塩化イオンを含む溶液中で観察すれば吸着を防げることを見出した。具体的には、ノイズのラマンシグナルを発する液中の物質が吸着した金属探針を 100mM の塩化ナトリウム溶液中に浸すと、このノイズが除去されることを確認した。これは塩化イオンの銀に対する強い親和性のため、吸着していた他の物質が除去されるためだと考えられる。また、塩化ナトリウム 100mM という濃度は、ちょうど生理条件にも近いため、生体試料の活性にも影響を与えないということも本手法の優れた点だと考える。

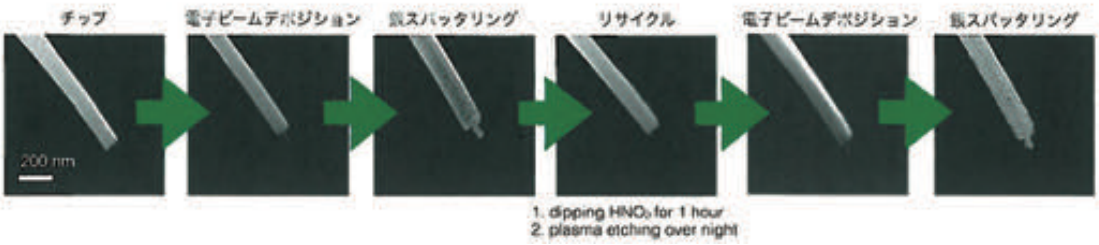



図4　金属探針リサイクルプロセスの電子顕微鏡像

以上の技術開発を応用して、実際に液中での光学ナノイメージングに取り組んだ。まずは、シグナルの強い、蛍光物質の測定を行った。図５(a)に示すように、直径 40nm の蛍光ビーズを液中で高空間分解能で可視化することに成功した。さらに、生体試料である DNA の観察にも成功し、生体試料への有効性を示すことにも成功した。また、蛍光はシグナルが強いため、それぞれ秒オーダーの 3.5 秒と 10 秒で、高速撮像することに成功した。動く生体試料に対するダイナミクスイメージングの可能性も示唆する結果である。

液中での動作性を確認できたため、次に液中 TERS 測定を行った。テスト試料として、まずカーボンナノチューブを用い、回折限界を超えた空間分解能でカーボンナノチューブの G-band モードを液中 TERS イメージングできることを確認した。また、図６に示すように、液中で脂質二重膜（DOPC）に金属探針を接触させて、ラマンスペクトルを検出することにも成功した。DOPC とその他のスフィンゴ脂質やコレステロールはラマンスペクトルの形状から容易に識別可能であり、細胞膜の非染色・非侵襲なナノスケール TERS イメージングへ大きく近づく重要な成果であると考えている。未だ測定安定性や再現性、撮像速度など様々な課題があるが、金属探針構造や光学系を今後さらに最適化していくことによって、細胞膜機能解明に貢献できるナノ観察技術を創出したい。

## ４．まとめ

本研究では、細胞膜機能の解明に貢献する液中 TERS 顕微鏡の開発に取り組んだ。液中原子間力顕微鏡を組み込んだ TERS 顕微鏡を試作し、液中での動作性を確認した。金属探針作製においても、空間分解能と増強度の自在な制御を目指し新しい作製法を見出した。加えて、従来法よりも作製再現性の極めて高い技術を実現できた。リサイクル法も確立できたため、汎用性の高い探針作製法になると考える。これらの技術開発を通して、実際の液中光学ナノイメージングへと発展させた。

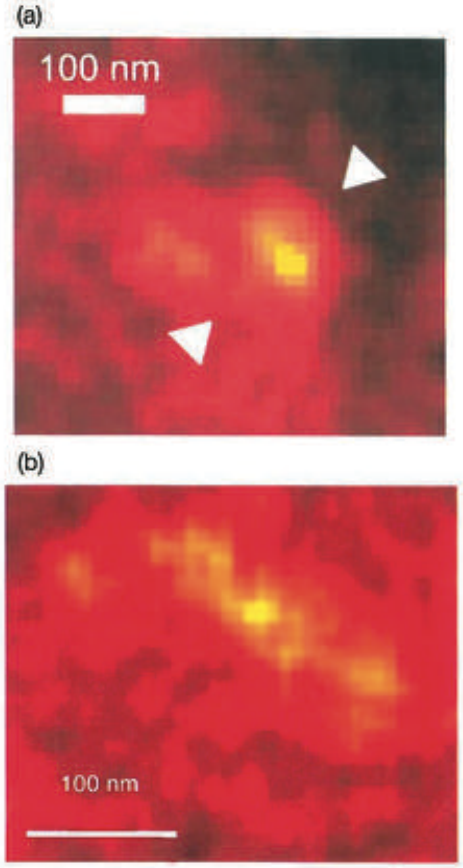



図５（a）構築した光学系で撮像した蛍光ビーズの超解像蛍光像及び(b)DNA の超解像蛍光像

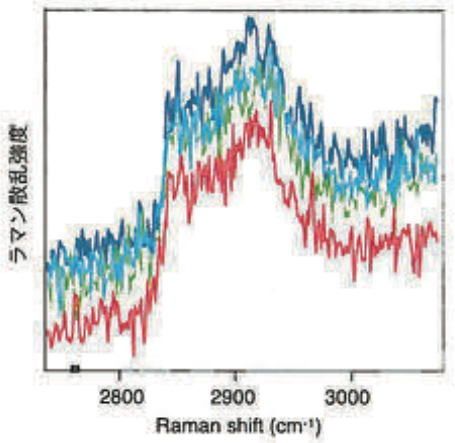



図6　金属探針を脂質二重膜にアプローチして取得したラマンスペクトル

蛍光ビーズと蛍光染色 DNA の回析限界を超えた空間分解能で液中高速イメージングすることに成功した。動く生体試料のダイナミクス分析への展開も見込める成果である。また、液中ラマン測定として、カーボンナノチューブの TERS イメージングにも成功し、脂質二重膜においても TERS 顕微鏡を用いて有効性を示す成果を得ることができた。今後さらに開発を続け汎用性を高めることによって、真に細胞膜を可視化する非染色・非侵襲なナノ観察技術へと昇華できると期待する。


## 謝辞

本研究の一部は、公益財団法人中谷医工計測技術振興財団の技術開発研究助成により行われました。ここに厚く御礼申し上げます。


## 参考文献および発表論文


1) Satoshi Kawata, Yasushi Inouye, and Prabhat Verma “Plasmonics for near-field nano-imaging and superlensing", *NaturePhotonics*, 3,388・394(2009).

2) Prabhat Verma, “Tip-enhanced Raman Spectroscopy: Technique an Recent Advances”, *Chem icalReviews*, 117, 6447 (20I7).

3) R. Zhang et al., *Nature,* 498, 82-86, (2013).

4) M. Paulite, C.Blum, T. Schmid, L. Opilik, K. Eyer, G.C. Walker and R. Zenobi, *A* C'S *Nano,* 7, 911 (2013)

5) N. Hayazawa et al., *Applied Physics Letters,* 85, 6239-6241 (2004).

# 人工核酸プローブを用いたRNAメチル化効率定量法の開発

研究責任者　大阪大学　大学院医学系研究科
神経遺伝子学講座
教　授　　河原　行郎

## 1. はじめに

遺伝情報の伝達や制御において中核的な役割を果たす核酸RNAには100を超える様々な修飾が施されていることが知られている[1]。これらの修飾はRNAの機能、局在、安定性などに影響を与え、RNAの運命を決定付ける。その中でもアデノシンのN6位のメチル化修飾によって生じる*N*6-methyladenosine（m6A、図1）はRNA修飾の中でも特に多く生じていることが知られている[2]。古典的には、ヒト18S rRNAの1832番目のA（A1832）[3]や大腸菌23S rRNAの1618番目のA（A1618）[4]と2030番目のA（A2030）[6]が100%安定的にメチル化されていることが知られている[3-7]。大腸菌23S rRNA A1618とA2030におけるメチル基転移酵素はそれぞれYbiNとYhiRであり[4,5]、YhiR酵素欠損株（ΔyhiR）は明らかな異常を呈さないが[5]、YbiN酵素の欠損株（ΔyhiN）は増殖遅延を引き起こす[4]。

一方、同定手段が質量分析法などに限定されてきたことから、発現量の少ないmRNAにはどの程度含まれているのか長年に渡って不明であった。こうした状況の中、抗m6A抗体によるm6A含有RNAの免疫沈降と次世代シーケンサーを組み合わせた網羅的解析手法が開発され、ヒトmRNAに約80,000箇所のm6A部位が同定されるに至った[8-10]。これらRNA修飾は、RNAの半減期を規定するなどの情報を付加しており、epitranscriptomeと総称されるようになった[11]。

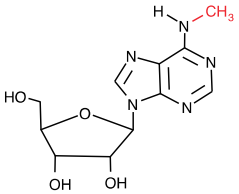



**図1　*N*6-methyladenosine（m6A）の構造。アデノシンのN6位が水素基からメチル基（赤色）に置換されている。**

m6Aのメチル化効率のダイナミックな制御を読み解き、その生理的意義を明らかにするためには、部位特異的なメチル化効率測定法の開発が必須である。しかし、m6Aは、薬剤や酵素処理をしても塩基置換が生じないことから検出が難しく、これまで測定法は質量分析法に限定され、簡便で高精度な定量手法の確立が望まれてきた。こうした中、Golovinaらは、DNAプローブを用いたm6Aの検出を試みた。その結果、メチル化RNAへのDNAプローブの結合効率は、非メチル化RNAへの結合効率に比べ、有意に低いことを見出した[12,13]。しかし、m6Aを含むRNAとAを含むRNAとの間で、DNAプローブの融解温度Tmの差が小さく、安定的にメチル化効率を定量することはできなかった。

本研究では、部位特異的 $m^6A$ メチル化効率測定法の適応範囲や測定精度を上げるため、DNA プローブ中に人工核酸アナログである 2', 4'-BNA$^{NC}$ (2'-O, 4'-C-aminomethylene bridged nucleic acid、以下 BNA、図２)を含む核酸プローブを用いた手法を開発した（以下、デュアル BNA プローブ法)。BNA は LNA (Locked nucleic acid) と比較して、より高い二重鎖結合能を持ち、標的 RNA との一塩基のミスマッチをより高感度に検出できる [14]。そこで、BNA を RNA 修飾の検出にも利用できるのではないかと考え検討したところ、DNA プローブよりも BNA プローブを用いた方が、メチル化 RNA と非メチル化 RNA への結合効率の差が拡大することを発見し、この原理を利用したメチル化効率測定法を確立したので報告する。

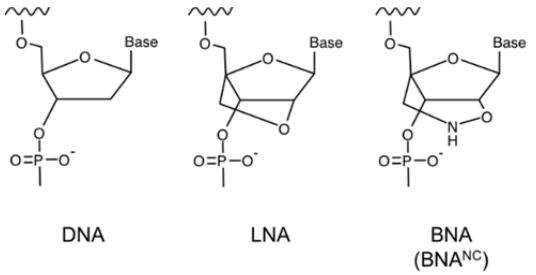
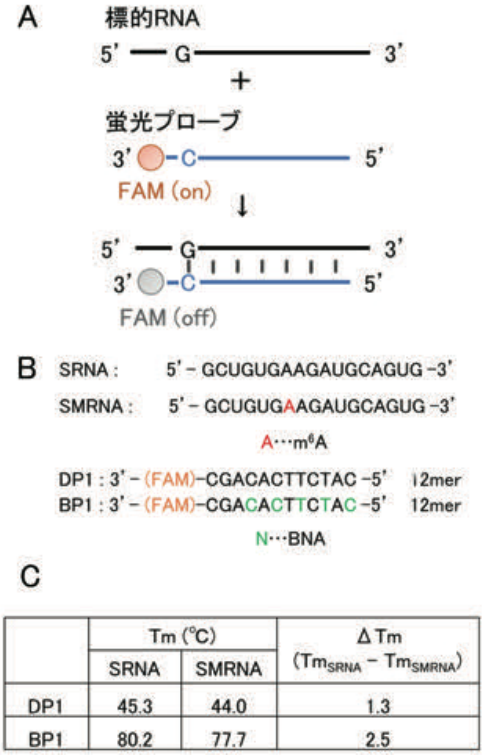



図2　DNA、LNA、BNA (BNA$^{NC}$)の構造

## ２．結果

### 2. 1　BNA プローブは DNA プローブよりも感度高く $m^6A$ を含む標的 RNA を識別する

3'末端塩基がシトシン(C)である DNA オリゴヌクレオチドの 3'側に蛍光物質 FAM を付加した蛍光プローブは、標的 RNA に結合すると、プローブの 3'末端シトシンと RNA 上のグアニン残基との結合により蛍光が消退する性質がある (図３A)。このため、反応温度を変えながら蛍光強度を測定することで標的 RNA との融解温度 Tm を測定することができる。大腸菌 23S rRNA A2030 部位付近の配列を参考にし、17 塩基長の合成 RNA である SRNA、また $m^6A$ を含む SMRNA を合成した（図３B)。また蛍光プローブとして DNA のみで構成される 12 塩基長の DNA プローブ DP1 と




| | Tm (℃) | | ΔTm ($Tm_{SRNA}$ − $Tm_{SMRNA}$) |
|---|---|---|---|
| | SRNA | SMRNA | |
| DP1 | 45.3 | 44.0 | 1.3 |
| BP1 | 80.2 | 77.7 | 2.5 |

図3　標的 RNA から蛍光シングルプローブが解離する融解温度 Tm の測定

A.3'末端塩基がシトシン（C)である DNA オリゴヌクレオチドの 3'側に蛍光物質 FAM を付加した蛍光プローブは、標的 RNA に結合すると、プローブの 3'末端シトシンと RNA 上のグアニン残基との結合により蛍光が消退する。

B.標的 RNA として、大腸菌 23S rRNA A2030 部位周辺の配列（17 塩基長)である SRNA ($m^6A$ を含まない)と SMRNA ($m^6A$ (赤色)を含む)を合成した。DNA プローブ DP1 及び BNA プローブ BP1 は 3'末端に蛍光物質 FAM が付加されており、また BP1 は 5 塩基の BNA (緑色)を含んでいる。

C.DP1、BP1 を用いた時の SRNA または SMRNA に対する Tm 値および SRNA と SMRNA2 間の融解温度の差 ΔTm 値。

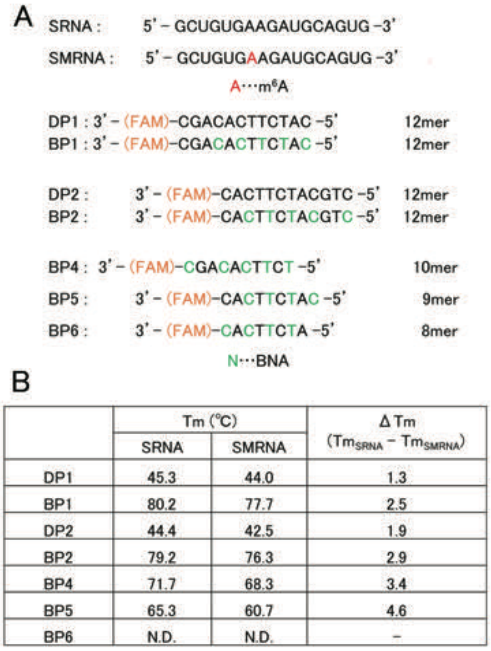
BNA を含む BNA プローブ BP1 を合成した（図３B)。これらを混合して、温度を徐々に上げて行くことで FAM に由来する蛍光強度 (RFU:Relative Fluorescence Units) を測定し、-d(RFU)/dt が最小値をとる温度を融解温度 Tm とした。DP1 を用いた時の Tm 値 ($Tm_{SRNA}$=45.3℃、$Tm_{SMRNA}$=44.0℃)と比較して、BP1 を用いた時の Tm 値($Tm_{SRNA}$ =80.2℃、$Tm_{SMRNA}$=77.7℃)は 30℃以上高く、BNA プロー

ブの標的 RNA との結合性が非常に高いことが確認された（図３C）。また、SRNA と SMRNA 間の融解温度の差 ΔTm（$Tm_{SRNA}$ - $Tm_{SMRNA}$）が 1.3℃（DP1)から 2.5 ℃(BP1)へと 1℃以上広がることが判明し、BNA プローブの方が DNA プローブと比較し、$m^6A$ を含む RNA と含まない RNA への結合効率の差異が広がることが分かった（図３C）。

次にプローブの長さや、FAM と $m^6A$ との距離が Tm に与える影響について解析することとした。まず、長さは変えずに、FAM と $m^6A$ との距離を 3 塩基分短くした DNA プローブ DP2 と BNA プローブ BP2 を合成し、DP1、BP1 と同様に SRNA 及び SMRNA に対する Tm 値を測定した（図 4A、B）。その結果、DP2、BP2 は DP1、BP1 と比較して、Tm 値が 1℃前後低下した一方で、ΔTm が 0.5℃程度広がることが確認された（図４B）。一方、プローブの長さを 12 から短くした BP4(10 塩基長)、BP5（9 塩基長)、BP6(8 塩基長)についても Tm 値を測定した（図４A、B）。その結果、プローブ長が短くなるに比例して結合力が弱まるため Tm 値が下がり、一方 ΔTm は広がった(BP4;3.4℃、BP5;4.6℃)。しかし、BP6 は Tm 値が計測できず、短すぎて標的 RNA と十分な結合ができなかったものと考えられた。これらの結果より、BNA プローブは DNA プローブよりも安定的に標的 RNA に結合すること、また、メチル化 RNA と非メチル化 RNA への結合効率の差が拡大すること、そしてこの差は FAM と $m^6A$ との距離が短いほど、プローブの長さが短いほど広がるが、一方で短くするほど Tm 値が低下することが分かった。

## 2.2　デュアル BNA プローブによる $m^6A$ メチル化効率測定法の確立

これまでの解析から、プローブの長さが短くなるほど ΔTm が拡大することが分かったが、一方でプローブ長が短くなると配列特異性が低下する。また、FAM を用いたシングルプローブでは、3'末端




| | Tm (℃) | | ΔTm ($Tm_{SRNA}$ - $Tm_{SMRNA}$) |
|---|---|---|---|
| | SRNA | SMRNA | |
| DP1 | 45.3 | 44.0 | 1.3 |
| BP1 | 80.2 | 77.7 | 2.5 |
| DP2 | 44.4 | 42.5 | 1.9 |
| BP2 | 79.2 | 76.3 | 2.9 |
| BP4 | 71.7 | 68.3 | 3.4 |
| BP5 | 65.3 | 60.7 | 4.6 |
| BP6 | N.D. | N.D. | - |

**図4　異なる長さ・結合部位を持つ DNA/BNA シングルプローブの融解温度測定値**

**A.大腸菌 23S rRNA A2030 部位周辺の配列(17 塩基長)である SRNA（$m^6A$ を含まない)と SMRNA（$m^6A$（赤色)を含む)に結合する DNA プローブ DP2 及び BNA プローブ BP2、BP4、BP5、BP6 の配列と結合位置を示す。BP3 は設計したが合成しなかったため、ここには掲載していない。**

**B.DP1、BP1 に加え、DP2、BP2、BP4、BP5、BP6 を用いた時の融解温度 Tm 値、SRNA と SMRNA2 間の融解温度の差 ΔTm 値。**

をシトシンにしなければならないというプローブ設計上の制約もある。このため、次に 2 本のプローブを用いたデュアルプローブについて検討することとした。$m^6A$ 部位を含む領域に結合するプローブの 3'末端に Alexa488 を付加する。この 3'プローブは極力短くし、また Alexa488 と $m^6A$ 部位の距離が短くなるように設計する（図５A、B）。一方、もう一つのプローブの 5'末端に Alexa594 または Alexa647 を付加する。こちらの 5'プローブは極力長くして、部位特異性を担保する。これら２つのプローブが接近した時にのみに生じる蛍光共鳴エネルギー転移（FRET: Fluorescence Resonance Energy Transfer)を利用し、融解温度 Tm を測定することにした（図５A、B)。大腸菌 23S rRNA A2030 部位付近の配列

を参考にして合成した 17 塩基長の SRNA と SMRNA では、デュアルプローブ結合には短すぎるため、新たに 32 塩基長の SRNA2、SMRNA2 を合成し標的 RNA とした （図５B）。5'プローブについては 15 塩基長で固定し、Alexa594 (ABP1) または Alexa647 (ABP2)を付加し、蛍光物質間の差異を検討することとした。一方、3'プローブについては、長さをできるだけ短く設計し (8-10 塩基長)、また Alexa488 と $m^6A$ 部位の距離 (DBP1; 5 塩基長、DBP2; 4 塩基長、DBP3; 3 塩基長; DBP4-6; 7 塩基長)や 5'プローブとの距離 (DBP1; 2 塩基長、DBP2; 3 塩基長、DBP3; 4 塩基長; DBP4-6; 0 塩基長)を様々に変えたプローブを準備した（図５B）。その上で、SRNA2 または SMRNA2 と、２つのプローブを混合し、ハイブリッド複合体の融解温度 Tm の測定を行なった。今回の実験では複合体を形成した時のみ蛍光が検出されるため、-d(RFU)/dt が最大値をとる温度が融解温度 Tm となる。まず、5'プローブの蛍光物質の違いについて検討した。3'プローブを DBP1 に固定し、ABP1 及び ABP2 の SRNA2 と SMRNA2 間の融解温度の差 ΔTm ($Tm_{SRNA2}$ - $Tm_{SMRNA2}$)は 4.6℃と 4.4℃とほとんど変わらなかった （図５C）。しかし、ABP2 は ABP1 と比べて FRET の効率が悪く蛍光強度が弱いこと、また Tm が約 5℃低下することが確認された (図５C)。このため、以後の実験は 5'プローブを ABP1 で固定し、次に 3'プローブについて検討した。その結果、DBP4、DBP5、DBP6 を用いた場合には、蛍光を検出することができなかった (図５C)。これは ABP1 との間が 0 塩基であったことが、蛍光物質間の位置関係に影響したためと考えられた。一方、DBP1、DBP2、DBP3 については、塩基長が短くなるほど Tm 値が下がることが確認された。しかし、ΔTm については、DBP1 (4.6℃)よりも DBP2 (6.7℃)の方が広がったが、DBP3 (2.5℃)ではこの差が小さくなった (図５C)。これらの結果は、Tm 値が高すぎても低すぎても ΔTm が小さくなることを示唆している。

次に、プローブを ABP1 と DBP1 で固定し、合成 RNA 中の $m^6A$ メチル化効率の測定が可能かどうかを検討した。SRNA2 と SMRNA2 を 10:0 ($m^6A$/A=0%)、8:2 (20%)、6:4 (40%)、4:6 (60%)、2:8 (80%)、0:10 (100%)の比率で混合し、これらの Tm を測定した。その結果、SMRNA2 の比率（$m^6A$ の比率）を上げていくにつれて Tm が徐々に低下していくことが観察された (図５D)。測定された Tm 値と既知のメチル化効率の間で単回帰分析を行い、近似直線を描いたところ、決定係数 $R^2$ は 0.95 を超え強い相関関係があることがわかった (図５D)。これらの結果より、デュアル BNA プローブを用いて、部位特異的な $m^6A$ の検出、メチル化効率の測定が可能であることが示唆された。

### 2.3　デュアル BNA プローブ法を用いた大腸菌由来 rRNA 中の $m^6A$ メチル化効率の測定

これまでの結果より、合成 RNA を標的 RNA とした場合、デュアル BNA プローブを用いることで部位特異的な $m^6A$ のメチル化効率を測定することができることが分かった。このため、次に、実際に大腸菌 total RNA を用いて、これに含有される rRNA の $m^6A$ のメチル化効率測定が可能かどうかを検討した。大腸菌野生株(WT)BW25113 では、23S rRNA A2030 部位のメチル化効率はほぼ 100%であることが報告されている [5]。この $m^6A$ のメチル化を触媒する責任酵素は YhiR であり、yhiR 欠損株(ΔyhiR)では A2030 部位のメチル化が消失している [5]。

このため、WT および ΔyhiR に由来する total RNA に含有される 23S rRNA を標的 RNA とし、BNA プローブ ABP1、DBP1 を用いて Tm の測定を行なった (図６A)。その結果、$Tm_{\Delta yhiR}$ =66.8℃、$Tm_{WT}$ =60.1℃であり、ΔTm ($Tm_{\Delta yhiR}$-$Tm_{WT}$)は 6.7℃と、高い Tm 値と大きな ΔTm 値を計測することができた（図６B）。

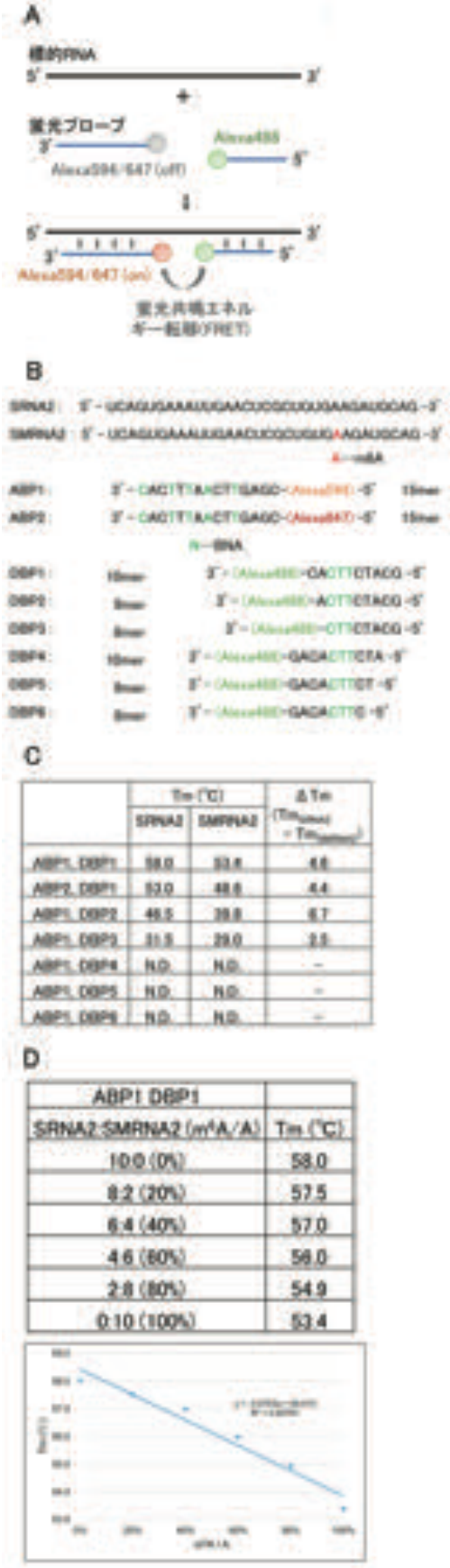



図5　デュアル BNA プローブを用いた標的 RNA との融解温度 Tm の測定

A.蛍光共鳴エネルギー転移（FRET)を利用したデュアル蛍光プローブの模式図。3'末端に Alexa488 を付加した 3'プローブと、5'末端に Alexa594 または Alexa647 を付加した 5'プローブが、同じ RNA に結合し接近した時に蛍光が検出される。

B.大腸菌 23S rRNA A2030 部位付近の配列を参考にして合成した 32 塩基長の $m^6A$ を含まない SRNA2 と $m^6A$ を含む SMRNA2 の塩基配列。これに加えて、5'プローブ（ABP1、ABP2)および 3'プローブ（DBP1-DBP6)の配列、長さと結合位置を示す。

C.5'プローブ、3'プローブの組み合わせと、SRNA2 および SMRNA2 に対する Tm 値および SRNA2 と SMRNA2 間の融解温度の差 ΔTm 値。N.D.: 非検出。

D.SRNA2、SMRNA2 を 10:0($m^6A$/A=0%)、8:2 (20%)、6:4（40%)、4:6（60%)、2:8（80%)、0:10（100%)の比率で混合し、それらを蛍光プローブ ABP1、DBP1 を用いて融解温度 Tm を測定しプロットした。グラフのデータより単回帰分析を行った上で近似直線を描き、直線の式と決定係数 $R^2$ を示した。

次に、大腸菌 23S rRNA A1618 部位についても測定可能かどうかを検討した。A1618 部位のメチル化効率も野生株ではほぼ 100%であることが報告されている [4]。この $m^6A$ のメチル化を触媒する責任酵素は YbiN であり、ybiN 欠損株(ΔybiN）では A1618 部位のメチル化が消失している [4]。このため、WT および ΔybiN に由来する total RNA に含有される 23S rRNA を標的 RNA とした。5'プローブを 15 塩基長の RA1 を用意し、3'プローブについては 9 塩基長（RD1)と 10 塩基長（RD2)の 2 つのプローブを用意して、これらを用いた Tm の測定を行なった（図 6 C)。その結果、RA1 と RD1 の組み合わせの場合 $Tm_{\Delta ybiN}$ =66.0℃、$Tm_{WT}$ =62.4℃、ΔTm ($Tm_{\Delta ybiN}$ - $Tm_{WT}$) =6.7℃、RA1 と RD2 の組み合わせの場合 $Tm_{\Delta ybiN}$ =70.6℃、$Tm_{WT}$ =66.9℃、ΔTm ($Tm_{\Delta ybiN}$ - $Tm_{WT}$) =3.7℃であり、いずれも $m^6A$ を含む rRNA と含まない rRNA を感度よく識別できることが確認できた（図 6 D)。

A

E.coli 23S rRNA A2030

WT : 5'-UCAGUGAAAUUGAACUCGCUGUGAAGAUGCAG-3' A…m6A
ΔyhiR : 5'-UCAGUGAAAUUGAACUCGCUGUGAAGAUGCAG-3'

ABP1 : 3'-CACTTTAACTTGAGC-(Alexa594)-5' 15mer N…BNA

DBP1 : 3'-(Alexa488)-CACTTCTACG-5' 10mer

B

| E.coli 23S rRNA A2030 | Tm (°C) | | ΔTm ($Tm_{\Delta yhiR} - Tm_{WT}$) |
|---|---|---|---|
| | ΔyhiR (0%) | WT (100%) | |
| ABP1 DBP1 | 66.8 | 60.1 | 6.7 |

C

E.coli 23S rRNA A1618

WT : 5'-AUCAAAUCGUACCCCAAACCGACACAGGUGGUC-3' A…m6A
ΔybiN : 5'-AUCAAAUCGUACCCCAAACCGACACAGGUGGUC-3'

RA1: 3'-GTTTAGCATGGGGTTTG-(Alexa594)-5' 15mer N…BNA

RD1: 3'-(Alexa488)-TGTGTCCAC-5' 9mer

RD2: 3'-(Alexa488)-TGTGTCCACC-5' 10mer

D

| E.coli 23S rRNA A1618 | Tm (°C) | | ΔTm ($Tm_{\Delta ybiN} - Tm_{WT}$) |
|---|---|---|---|
| | ΔybiN (0%) | WT (100%) | |
| RA1 RD1 | 66.0 | 62.4 | 3.6 |
| RA1 RD2 | 70.6 | 66.9 | 3.7 |

E

| ABP1 DBP1 | |
|---|---|
| ΔyhiR:WT ($m^6A/A$) | Tm (°C) |
| 10:0 (0%) | 66.8 |
| 8:2 (20%) | 65.2 |
| 6:4 (40%) | 63.7 |
| 4:6 (60%) | 62.7 |
| 2:8 (80%) | 60.6 |
| 0:10 (100%) | 60.1 |

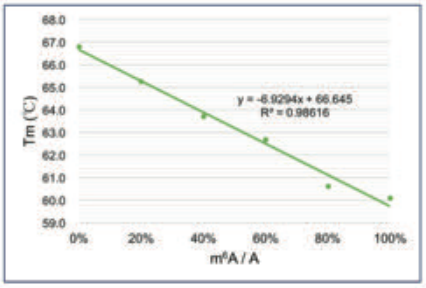



図6 デュアル BNA プローブを用いた大腸菌 rRNA のメチル化効率測定

A. 大腸菌野生株（WT）BW25113 と、23S rRNA A2030 部位のメチル化責任酵素 YhiR を欠損した yhiR 欠損株(ΔyhiR)の A2030 部位（赤字)周辺の配列を示す。また、Tm 値測定に用いた BNA プローブ ABP1 と DBP1 の配列（図 5B に同じ)、長さ及び結合位置を示す。

B. 大腸菌 WT 株と ΔyhiR 株から抽出した total RNA を材料に、BNA プローブ ABP1、DBP1 を用いて測定した Tm 値と ΔTm ($Tm_{\Delta yhiR}$ - $Tm_{WT}$)値。

C. 大腸菌野生株（WT）BW25113 と、23S rRNA A1618 部位のメチル化責任酵素 YbiN を欠損した ybiN 欠損株(ΔybiN)の A1618 部位（赤字)周辺の配列を示す。また、Tm 値測定に用いた 5'BNA プローブ RA1 と 3'BNA プローブ RD1 と RD2 の配列、長さ及び結合位置を示す。

D. 大腸菌 WT 株と ΔybiN 株から抽出した total RNA を材料に、BNA プローブ RA1 と RD1 または RD2 を用いて測定した Tm 値と ΔTm ($Tm_{\Delta ybiN}$ - $Tm_{WT}$)値。

E. ΔyhiR 株から抽出した total RNA、WT 株から抽出した total RNA を 10:0 ($m^6A/A$=0%)、8:2 (20%)、6:4 (40%)、4:6 (60%)、2:8 (80%)、0:10 (100%)の比率で混合し、それらを蛍光プローブ ABP1、DBP1 を用いて融解温度 Tm を測定しプロットした。グラフのデータより単回帰分析を行った上で近似直線を描き、直線の式と決定係数 $R^2$ を示した。

最後に、大腸菌 total RNA に含有される rRNA の $m^6A$ メチル化効率の定量が可能かどうかを検討した。A2030 部位も A1618 部位もメチル化効率はほぼ 100%で安定しているため [4,5]、0% (責任酵素欠損株)とほぼ 100%（野生株）以外のメチル化効率を示す株や条件が用意できない。このため、ΔyhiR 株と WT 株の total RNA を 10:0 ($m^6A/A$=0%)、8:2 (20%)、6:4 (40%)、4:6 (60%)、2:8 (80%)、0:10 (100%)の比率で混合し、それらを蛍光プローブ ABP1、DBP1 を用いて融解温度 Tm を測定した。その結果、合成 RNA の時と同様、WT 株の total RNA の比率（$m^6A$ の比率）が高まるほど Tm が徐々に低下していくことが観察された （図 6 E)。$m^6A$ の比率と Tm 値をプロットしたグラフのデータより単回帰分析を行い、近似直線を描いたところ、決定係数 $R^2$ は 0.98 を超え、合成 RNA を用いた時と同様、$m^6A$ の比率と融解温度 Tm の間に強い相関関係があることがわ

かった　(図６E)。これらの結果より、実際の生体内の存在する RNA を材料とした場合でも、デュアル BNA プローブを用いることで部位特異的な $m^6A$ のメチル化効率を測定することができることが確認できた。

## ３．まとめと考察

本研究では、$m^6A$ 部位のメチル化効率を精度高く定量するため、DNA プローブ法を改良し、新たにデュアル BNA プローブ法を開発することに成功した。本手法では、従来の DNA プローブよりも $m^6A$ を含む RNA と含まない RNA との融解温度 Tm の差 ΔTm を広げることに成功し、この温度差を利用して未知のメチル化効率を測定できることを提示した。ΔTm が広がった理由として、BNA は標的 RNA との二重鎖結合能が高い [14]ことにより 、修飾による少しの構造のズレへの感受性が高いことに起因すると考えられた。実際、Tm 値が一定の高い温度にある場合には、Tm 値が下がるほど ΔTm も広がる傾向があったが、Tm 値が低すぎると逆に ΔTm は小さくなった。この結果は、プローブと RNA 間で十分な結合力が保たれている状態では、$m^6A$ は結合を弱める効果を発揮できるが、プローブと RNA 間の結合力が弱く不安定になると、$m^6A$ の及ぼす影響が弱くなると考察された。

プローブの設計においては、プローブの長さ、$m^6A$ と蛍光物質との距離が重要であることが分かった。また、BNA を挿入する位置も大きく影響するはずである。また、デュアルプローブを用いた検討では、今回は Alexa488 の蛍光波長と Alexa594 の励起波長が近く、FRET の効率を優先した Alexa488/Alexa594 の組み合わせと、Alexa488 の励起波長と Alexa647 の励起波長が大きく離れており、非特異的に Alexa647 が励起されることを防ぐことを優先した Alexa488/Alexa647 の組み合わせを試した。その結果、Alexa488/Alexa647 の組み合わせでは FRET の効率が悪く、Alexa647 の蛍光強度が弱かった。また、融解温度 Tm も低く、蛍光物質の組み合わせも測定感度に影響することが分かった。また、蛍光物質間の距離が短いほど蛍光強度は強くなったが、間に塩基が全くない状態まで接近させると蛍光強度が著しく低下することも分かった。これは距離が短すぎて、蛍光物質の位置が安定しないことに起因すると考察された。これらの情報を基盤に、今後のプローブ設計に生かしていきたい。

今後は、rRNA 以外の RNA、特により発現量の少ない RNA についてどの程度の発現量の RNA まで検出可能なのか検討したいと考えている。

## 謝辞

本研究をご支援いただきました公益財団法人中谷医工計測技術振興財団に深謝いたします。

## 発表論文

T Oshima,K Ishiguro, T Suzuki, Y Kawahara, Quantification of methylation efficiency at the specific $N^6$-methyladenosine position using BNA probes. 投稿中

## 参考文献

1) Machnicka, M. A. *et al.* MODOMICS: A database of RNA modification pathways – 2013 update. *Nucleic Acids Res.* **41,** 262-267 (2013).
2) Li, X., Xiong, X. & Yi, C. Epitranscriptome sequencing technologies: Decoding RNA modifications. *Nat. Methods* **14,** 23-31 (2016).
3) Maden, B. E. H. Identification of the locations of the methyl groups in 18 S ribosomal RNA from Xenopus laevis and man. *J. Mol. Biol.* **189,** 681-699 (1986).
4) Sergiev, P. V., Serebryakova, M. V., Bogdanov, A. A. & Dontsova, O. A. The ybiN Gene of Escherichia coli Encodes Adenine-N6 Methyltransferase Specific for Modification of A1618 of 23 S Ribosomal RNA, a Methylated

Residue Located Close to the Ribosomal Exit Tunnel. *J. Mol. Biol.* **375,** 291-300 (2008).

5) Golovina, A. Y. *et al.* The last rRNA methyltransferase of E. coli revealed: the yhiR gene encodes adenine-N6 methyltransferase specific for modification of A2030 of 23S ribosomal RNA. *RNA* **18,** 1725-34 (2012).

6) Maden, B. E. H. Locations of methyl groups in 28 S rRNA of Xenopus laevis and man. Clustering in the conserved core of molecule. *J. Mol. Biol.* **201,** 289-314 (1988).

7) Piekna-przybylska, D., Decatur, W. A. & Fournier, M. J. The 3D rRNA modification maps database : with interactive tools for ribosome analysis. *Nucleic Acids Res.* **36,** 178-183 (2008).

8) Meyer, K. D. *et al.* Resource Comprehensive Analysis of mRNA Methylation Reveals Enrichment in 3'UTRs and near Stop Codons. *Cell* **149,** 1635-1646 (2012).

9) Dominissini, D. *et al.* Topology of the human and mouse m6A RNA methylomes revealed by m6A-seq. *Nature* **485,** 201-206 (2012).

10) Linder, B. *et al.* Single-nucleotide-resolution mapping of m6A and m6Am throughout the transcriptome. *Nat. Methods* **12,** 767-772 (2015).

11) Saletore, Y. *et al.* The birth of the Epitranscriptome: deciphering the function of RNA modifications. *Genome Biol.* **13,** 175 (2012).

12) Golovina, A. Y. *et al.* Method for site-specific detection of m6A nucleoside presence in RNA based on high-resolution melting (HRM) analysis. *Nucleic Acids Res.* **42,** (2014).

13) Kierzek, E. & Kierzek, R. The thermodynamic stability of RNA duplexes and hairpins containing N6-alkyladenosines and 2-methylthio-N6-alkyladenosines. *Nucleic Acids Res.* **31,** 4472-4480 (2003).

14) Miyashita, K., Rahman, S. M. A., Seki, S., Obika, S. & Imanishi, T. N-Methyl substituted 2',4'- BNANC: a highly nuclease-resistant nucleic acid analogue with high-affinity RNA selective hybridization. *Chem. Commun. (Camb).* **0,** 3765-3767 (2007).

# 超低侵襲かつ高感度な生体埋植用蛍光イメージングデバイスの開発

研究責任者　奈良先端科学技術大学院大学　先端科学技術研究科
物質創成科学領域
助　教　　笹川　清隆

## １．はじめに

脳神経活動計測に関する研究領域では、アメリカの BRAIN initiative やヨーロッパの Human Brain Project など, 各国で大規模なプロジェクトが開始されている。これらは、脳内の個々の神経およびそのネットワークの活動をモニタリングして脳機能解明を目指したものであり、これに伴って脳深部や脳全体をターゲットとした計測技術の開発が活発化している。

我々は、これまでに脳に刺入して神経活動を蛍光観察することを目的とした独自設計の埋植用イメージセンサデバイスを作製してきた [1)-9)]。近年、マウス頭部に搭載可能な小型顕微鏡が開発されているが [10)-12)]、これらと比較して非常に軽量・低侵襲、断面観察可能という点で独自性と優位性がある。

しかし、現状ではデバイス全体の厚さが 0.2mm 程度であり、例えば実績のある脳内埋植用デバイスである刺入型多点電極と比較すると厚く、薄型化による侵襲性の更なる低減が求められる。また、生体活動プローブとして広く用いられている GFP 蛍光の観察においては、励起光源である青色 LED の発光スペクトルが広く、その緑色成分が背景ノイズとして混入することも課題となっている。

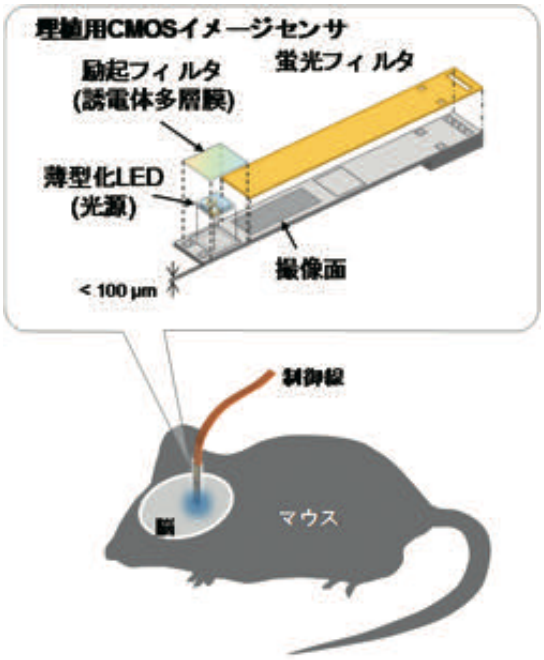



図1　提案する脳内埋植用イメージセンサデバイス

これらの課題に対し、本研究では、図１に示すような構成の生体埋植型イメージセンサの実現を目指し、以下の２点について開発を行った。

・埋植用イメージセンサデバイスの超薄型化
・干渉フィルタ導入による蛍光観察性能の向上

## ２．超薄型埋植用イメージセンサデバイス[13)]

従来デバイスはイメージセンサがフレキシブル基板上に配置されており、厚さの約半分程度を占めていた。これを排除し、薄く加工されたイメージセンサを用いることで薄型化を目指す。この場合 LED の搭載領域が問題となるが、従来、基板上に配置されていた約 90μm の LED からレーザーリフトオフ（LLO）法を用いて発光層のみを剥離して、イメージセンサチップ上に直接搭載することで、この課題を解決した。以下に詳細を示す。

### ・レーザーリフトオフ法による LED の薄型化

LLO 法は、剥離したいデバイス層と基板との光透過率の違いを利用し、高強度のレーザー光を界面で吸収させて局所加熱することにより、結合を破壊、分離する手法である[14),15)]。本研究では、サファイア基板上に形成された青色マイクロ LED の InGaN 層に紫外線レーザー（波長 266nm）を照射して剥離を行った（図２）。剥離後の LED は約 8μm であり、基板を含めた厚さ（約 90μm）から大幅な低減を達成した。

剥離後の LED は非常に脆く、ピンセット等での扱いは困難である。剥離は、シリコーン樹脂上で行い、そのまま微動ステージ等を用いて高精度に配置し、独自設計のイメージセンサチップ上に転写、搭載した。

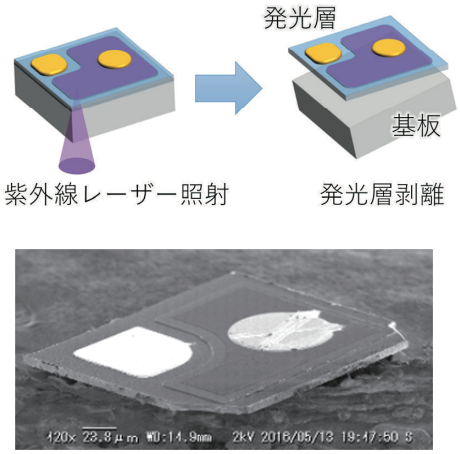



図2　LLO 法と剥離した LED 発光層

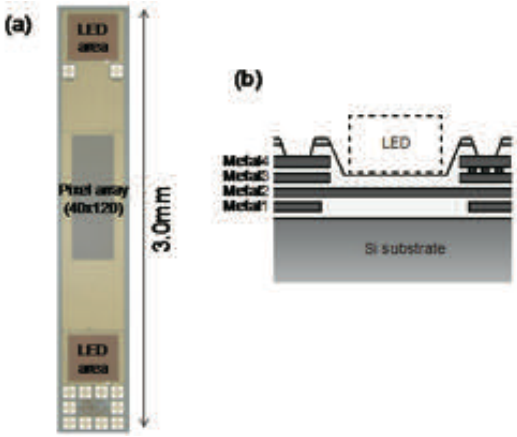



図３　(a)LED 搭載用イメージセンサ外観
(b)LED 搭載部断面模式図

### ・LED 搭載刺入用イメージセンサの試作

これまでに試作した刺入型 CMOS イメージセンサの設計を基に、剥離した LED を搭載可能なイメージセンサを設計・試作した。製造プロセスは、AMS 社 0.35μm 標準 CMOS プロセスを用いた。図３(a)に外観写真を示す。中央部に 40×120 の画素アレイを配置し、その上下に LED 搭載領域を設けてある。図３(b)に、LED 搭載領域断面の模式図を示す。Si 基板層へ光が入射するとフォトキャリアが発生し、画素アレイに到達することによってアーティファクトが生ずる。これを避けるため、配線層を遮光膜として用いている。また、電気的接続をとるパッド形成のための開口パターンを利用して、LED 搭載領域を周囲よりも低くした。また、LED への電源供給のための配線についてもチップ内の配線層を用いた。

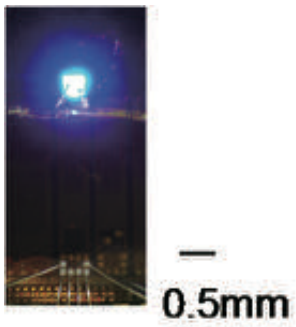



図4　イメージセンサ上に搭載された薄型 LED

剥離した LED をエポキシ樹脂で固定し、イメージセンサチップ上に搭載した。LED 電極とチップ配線間は直径 25μm の Al ワイヤを用いて接続した。イメージセンサ上に搭載された LED を発光させた状態の写真を図４に示す。剥離後も十分高い発光特性が得られることが確認された。

## ３．干渉フィルタの導入による蛍光観察性能の向上[16)]

LED はレーザー等と比較して単色性が低い。特に緑色蛍光タンパク質のように励起波長帯と吸収波長帯が近接している場合には LED 発光波長の長波長側の裾が、観察対象の蛍光と重畳してしまう。そのため、検出限界性能が著しく低くなるという課題がある。これを解決する手法として、一般的な蛍光顕微鏡と同様に干渉フィルタを用いる手法を開発した。

生体埋植用のデバイスで用いる LED は 300μm 角程度と寸法が小さく、基板に保持して干渉フィルタをコーティングすることが難しい。本研究では、市販の石英基板上に形成された干渉フィルタ層をレーザーリフトオフ法で剥離し、LED 上へ搭載する手法をとった。

図５に使用した 475 nm ショートパス干渉フィルタの透過スペクトルを示す。このフィルタは、垂直入射に対しては高い波長選択性能を示すが、45 度の入射角に対しては、緑色波長帯に透過ピークが現れている。また、一般的に干渉フィルタは

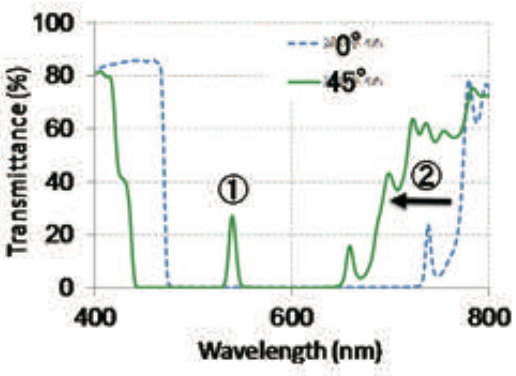



図5　475 nm ショートパス干渉フィルタの透過スペクトル

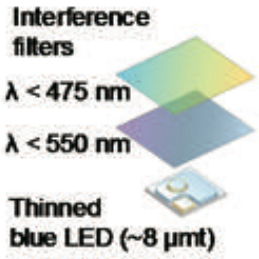



図6　干渉フィルタ搭載 LED の構造

入射角が傾くと透過スペクトルが短波長側へとシフトする。この課題への対策として、550nm のショートパスフィルタを更に積層した（図６）。

フィルタを実装した LED の放射パターンを観察した結果を図７に示す。LED からの光をスクリーンに投影したものであり、図の中心が０度、外側へ行くに従い、放射角が大きくなっている。

475nm ショートパスフィルタのみを搭載した LED では、中心の青色の領域の外側に緑色の円形パターンが現れている。これは、図５における①の波長成分がフィルタを透過したためである。

一方、さらに 550 nm を重ねた LED では、緑色の円形パターンは除去され中央の青色部分のみが透過していることがわかる。以上のように、干渉フィルタの積層によって、小型青色 LED 光源からの波長および放射角を制限することができていることがわかる。

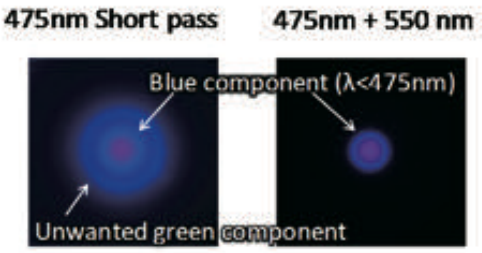



図7　干渉フィルタ搭載 LED の放射パターン

図８にフィルタの有無による LED からの放射光波長のスペクトルの違いを示す。また、参考として生体埋植用イメージセンサの画素アレイ上に搭載している黄色フィルタの透過スペクトルも示している。先に述べたようにフィルタを搭載

しない LED の放射スペクトルは広く広がっており、その一部が黄色フィルタの透過帯と重なっている。これに対して、フィルタを搭載した LED では、475nm より長波長側の透過光は低減され、波長の重なりはほぼ完全に回避されている。本研究では、LLO 法を用いて転写しているため、フィルタに多少の損傷や歪が発生していることが考えられるが、蛍光観察を行う上で十分な性能が得られていることが示唆された。

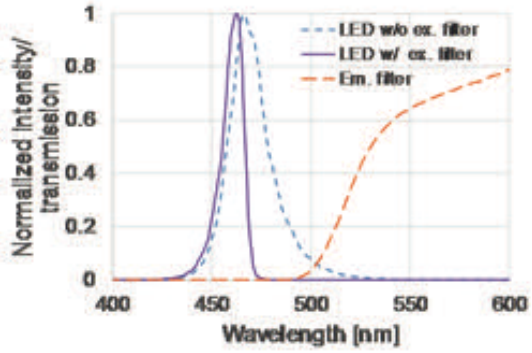



図8　干渉フィルタ搭載および非搭載 LED の発光スペクトル

試作した光源を用いて蛍光観察実験を行った。観察対象には GFP を発現したマウスの脳スライス（50μm 厚）を用いた。実験系を図 9 に示す。本実験では、LED をイメージセンサの対面に配置し、レンズは用いずにコンタクトイメージングを行った。

図 10 に撮像結果を示す。図 10(a)は蛍光顕微鏡での撮像結果であり、蛍光像が得られている。画像中央付近の網様視床核に GFP が強く発現していることが確認できる。これに対して、図 10(b)では GFP による蛍光が確認できない。これは、LED からの緑色成分が観察対象である GFP からの蛍光よりも強くなり、緑色での明視野観察の様な条件になっているためである。

これに対し、フィルタ搭載 LED（図 10(c)）では、網様視床核が明るく見えており、蛍光が検出されていることがわかる。この結果から、基板から LLO 法によって剥離したフィルタを搭載した薄型 LED によって、緑色蛍光成分を除去し、GFP 蛍光が可能な波長特性を実現できることが示された。

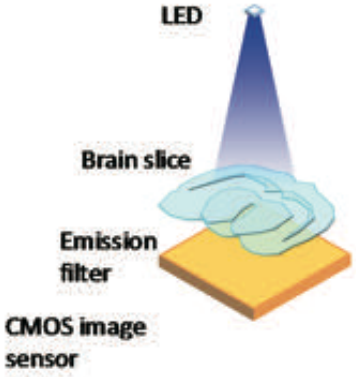



図9　蛍光観察実験系

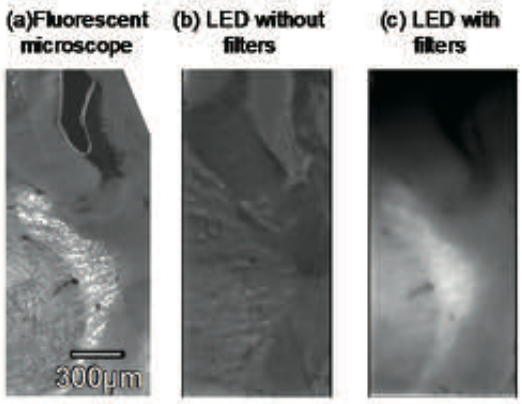



図10　GFP 発現脳スライス観察結果(a)蛍光顕微鏡(b)干渉フィルタ非搭載 LED 光源(c)干渉フィルタ搭載 LED 光源

## 4．まとめ

本研究により、干渉フィルタを搭載したマイクロ LED を生体埋植用イメージセンサ上に搭載する技術を確立した。LED の薄型化には、レーザーリフトオフ法を用い、青色マイクロ LED の発光層を基板から剥離することに成功した。干渉フィルタについても、レーザーリフトオフ法による基板からの剥離を行い、LED 上へ搭載した。更に、イメージセンサ上へ搭載し、剥離前と遜色のない発光強度と不要波長成分の低減を達成した。

また、脳スライスでの蛍光観察実験では、蛍光検出性能の改善が確認された。この結果から、本研究で開発した超小型光源と高性能な励起光除去フィルタとの組み合わせにより、生体埋植型の超小型デバイスにおいて高感度な蛍光の可能性が示された。

## 謝辞

本研究の一部は、公益財団法人中谷医工計測技術振興財団の平成 28 年度開発研究助成により行われました。ここに深く感謝いたします。

回路設計は東京大学大規模集積システム設計教育研究センターを通し、日本ケイデンス株式会社、メンター株式会社の協力で行われました。

デバイス作製やマウスを用いた生体実験などは、奈良先端科学技術大学院大学物質創成科学研究科光機能素子科学研究室の太田淳教授、徳田崇准教授、野田俊彦助教、春田牧人特任助教、太田安美研究員、大学院生（当時）の藤本光輝の協力により実施されました。

## 参考文献および発表論文

[1] J. Ohta, Y. Ohta, H. Takehara, T. Noda, K. Sasagawa, T. Tokuda, M. Haruta, T. Kobayashi, Y. M. Akay, and M. Akay, Proc. IEEE, vol. 105, pp. 158–166, 2017.

[2] T. Yamaguchi, H. Takehara, Y. Sunaga, M. Haruta, M. Motoyama, Y. Ohta, T. Noda, K. Sasagawa, T. Tokuda, and J. Ohta, Jpn. J. Appl. Phys., vol. 55, 04EM02, 2016.

[3] H. Takehara, Y. Katsuragi, Y. Ohta, M. Motoyama, H. Takehara, T. Noda, K. Sasagawa, T. Tokuda, and J. Ohta, Appl. Phys. Express, 047001, 2016.

[4] T. Kobayashi, M. Haruta, K. Sasagawa, M. Matsumata, K. Ezumi, C. Kitsumoto, M. Motoyama, Y. Maezawa, Y. Ohta, T. Noda, T. Tokuda, Y. Ishikawa, and J. Ohta, Sci. Rep., vol. 6, 21247, 2016.

[5] K. Sasagawa, T. Yamaguchi, M. Haruta, Y. Sunaga, H. Takehara, H. Takehara, T. Noda, T. Tokuda, and J. Ohta, IEEE Trans. Electron Dev., vol. 63, 215, 2016.

[6] M. Haruta, C. Kitsumoto, Y. Sunaga, H. Takehara, T. Noda, K. Sasagawa, T. Tokuda, and J. Ohta, Jpn. J. Appl. Phys., vol. 53, 04EL05, 2014.

[7] H. Takehara, Y. Ohta, M. Motoyama, M. Haruta, M. Nagasaki, H. Takehara, T. Noda, K. Sasagawa, T. Tokuda, and J. Ohta, Biomed. Opt. Express, vol. 6, 1553, 2015.

[8] K. Sasagawa, T. Yamaguchi, M. Haruta, Y. Sunaga, Y. Ohta, H. Takehara, H. Takehara, T. Noda, T. Tokuda, and J. Ohta, Ext. Abstr. Solid State Devices and Materials, 2016, H-4-05.

[9] K. Sasagawa, M. Haruta, T. Yamaguchi, H. Hayami, K. Nakamoto, K. Fujimoto, Y. Sunaga, Y. Ohta, T. Noda, T. Tokuda and J. Ohta, “Implantable Imaging Devices for Observation of Neural Activities (invited),” 2017 Int. Conf. Brain Informatics, Beijing, China, 2017.

[10] J. Sawinski, D. J. Wallace, D. S. Greenberg, S. Grossmann, W. Denk, and J. N. Kerr, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., vol. 106, 19557, 2009.

[11] K. K. Ghosh, L. D. Burns, E. D. Cocker, A. Nimmerjahn, Y. Ziv, A. El Gamal, and M. J. Schnitzer, Nat. Methods, vol. 8, 871, 2011.

[12] UCLA miniscope project. http://miniscope.org

[13] K. Sasagawa, M. Haruta, K. Fujimoto, Y. Ohta, T. Noda, T. Tokuda, J. Ohta, “Fluorescence Imaging Device with an Ultra-Thin Micro-LED,” The 13th Conf. IEEE BioCAS, Torino, Italy, 2017, 7173.

[14] W. S. Wong, T. Sands, N. W. Cheung, M.

Kneissl, D. P. Bour, P. Mei, L. T. Romano, and N. M. Johnson, Appl. Phys. Lett., vol. 75, 1360, 1999.

[15] T.-I. Kim, J. G. McCall, Y.H. Jung, X. Huang, E. R. Siuda, Y. Li, J. Song, Y. M. Song, H. A. Pao, R.-H. Kim, C. Lu, S. D. Lee, I.-S. Song, G. C. Shin, R. Al-Hasani, S. Kim, M. P. Tan, Y. Huang, F. G. Omenetto, J. A. Rogers, and M. R. Bruchas, Science, vol. 340, 211, 2013.

[16] 藤本 光輝，笹川 清隆，太田 安美，野田 俊彦，春田 牧人，徳田 崇，太田 淳，“高感度蛍光検出に向けた干渉フィルタ積層 LED 搭載生体埋植 CMOS イメージングデバイス，” LSI とシステムのワークショップ，東京，2017.

# 生体組織非侵襲計測のためのテラヘルツ波分光・偏光分光複合化技術の開発

研究責任者　東京大学大学院工学系研究科
機械工学専攻
教　授　牛田　多加志

## １．はじめに

社会の高齢化に伴い、関節疾患の中でも特に変形性関節症に罹患する患者数は、我が国においては一千万人に達すると報告されており、変形性関節症の早期診断、早期治療の必要性は益々大きくなってきている。そこで、変形性関節症を非侵襲的に診断可能な新たなモダリティが強く求められている。

軟骨組織は軟骨細胞と細胞外マトリックスで構成されている。細胞外マトリックスは、多くの水分子をトラップすることで高含水性の組織を構築し、軟骨組織の高い粘弾性特性などを実現している。細胞外マトリックスにトラップされている水分子は、自由水ではなく細胞マトリックスなどの巨大分子に配向してトラップされた状態にある拘束水として存在する。この水分子の拘束が、軟骨組織に負荷される圧縮応力による変形に対抗する粘性として現れる。したがって、軟骨組織内の水分子の状態を計測することで軟骨組織の組織形成度および力学的特性を推定することが可能である。

## ２．内容

本研究では、テラヘルツ時間領域分光分析法をベースに、水分子の状態を計測することにより軟骨組織の組織形成度、力学的特性を評価することのできる要素技術を開発する。また、正常な軟骨組織は構造異方性を持つ。一方、変成した軟骨組織においては、このような異方性が失われている。本研究では、テラヘルツ時間領域分光分析法に加え円偏光二色性分光を高速かつテラヘルツ時間領域分光と同時に分光計測できる要素技術の開発を行う。

私どもはこれまでに、軟骨組織の含水率を変化させるとテラヘルツ帯における吸収プロフィールが含水率に応じて変化することを報告した。（Clinical Biomechanics、2013）また、再生軟骨の組織形成度、力学的特性をテラヘルツ時間領域分光から推定可能であることを報告した。(Tissue Engineering Intererntional & Regenerative Medicine Society、 AP、 China、2014）さらに、変形性関節症の関節モデルとしたサンプルを用いて、軟骨の組織形成度とテラヘルツ時間領域分光から得られるパラメータとの間に高い相関を見いだすことができることを報告した。(World Congress of Biomechanics、Boston、 2014）これらの基礎的な知見をもとに、変形性関節症の関節軟骨の組織形成度を定量的に診断・評価可能な方法を確立することを目的として、ゼラチンゲルをモデルとして、水分子の状

態を定量的に計測可能かどうかを検証した。

## ３．成果

偏光分光・円二色性分光(VCD/ORD)機能の設計・製作・実装をおこなった。具体的には、直交2軸構造PCA(Photoconductive Antenna)を製作し、その対向する２対のPCAに高圧・高速変調バイアス発生回路を用いて位相をずらしながらバイアス電圧を入力することでテラヘルツ円偏光波の発振を行った。また、偏光分光・円二色性分光とテラヘルツ時間領域分光の同時高速計測可能な要素技術の開発を進めた。

さらに、偏光検出可能テラヘルツデテクターの設計・製作・実装を進めた。具体的には、発振されサンプルを透過または反射したテラヘルツ円偏光波を検出するディテクターに高感度電流検知回路および電流・電圧変換回路を設計・製作し、テラヘルツ時間領域分光システムに実装した。

今後は、偏光分光・円二色性分光とテラヘルツ時間領域分光の同時高速計測データから、生体組織の組織形成度および組織異方性を定量的に評価可能な診断技術の構築を進める。具体的には、生体組織として軟骨組織にターゲットを絞り、ブタ膝関節から関節軟骨を採取し計測サンプルとする。また、ブタ軟骨細胞を用いて再生軟骨を作製し、同じく計測サンプルとし、生体軟骨組織の採取および軟骨細胞を用いた再生軟骨組織の作製を実施する。それらのサンプルを用いて、再生軟骨組織の組織化学的評価、生化学的評価、力学的評価を行い、偏光分光・円二色性分光とテラヘルツ時間領域分光の同時高速計測データとの比較検討を実施する。

## ４．まとめ

本研究では新たに考案した（特願2016-075571）直交2軸構造PCAを製作し、その対向する２対のPCAに高圧・高速変調バイアス発生回路を用いて位相をずらしながらバイアス電圧を入力することでテラヘルツ円偏光波の発振を行った。また、サンプルを透過またはサンプルから反射したテラヘルツ円偏光波を検出するアンテナも新たに考案し（特願 2016-075572）、高感度電流検知回路と電流電圧回路を組み込み、それらの回路をロックインアンプで制御することでテラヘルツ円偏光波の検出を行った。さらに、偏光分光・円二色性分光とテラヘルツ時間領域分光の同時高速計測可能な要素技術の開発を進めた。

## 謝辞

本研究の中心をなす偏光分光・円二色性分光(VCD/ORD)機能の設計・製作・実装は、公益財団法人中谷医工計測技術振興財団による研究助成無しには実現できませんでした。ここに感謝の意を表します。

## 参考文献および発表論文

[1] Von C. Mow et al., “Cartilage and diarthrodial joints as paradigms for hierarchical materials and structures”, Biomaterials, Vol. 13, Issue 2, pp. 67-97, 1992.

[2] T. Nia et al., “Aggrecan Nanoscale Solid–Fluid Interactions Are a Primary Determinant of Cartilage Dynamic Mechanical Properties”, ACS Nano, Vol. 9, No. 3, pp. 2614-2625, 2015.

[3] Takashi A. et al., “Characterizing hydration state in solution using terahertz time-domain attenuated total reflection spectroscopy”, Chemical Physics Letters, Vol. 457, Issue 1-3, pp12-17, 2008.

[4] Hiroyuki Y. et al., “The intermolecular stretching vibration mode in water isotopes investigated with broadband terahertz time-domain spectroscopy”, Chemical Physics Letters, Vol. 473, pp279-283, 2009.

# CdTe 成長層を用いた医療用高感度大面積 X 線画像検出器アレイの開発

**Development of highly sensitive large-area imaging array for medical applications using epitaxially grown CdTe layer**

研究責任者　名古屋工業大学大学院工学研究科
電気・機械工学専攻
教　授　Niraula　Madan

## １．はじめに

医療分野ではX線 CT 装置の普及によって体内の詳細な情報を得られるようになり、診断精度が飛躍的に向上した。しかしながら現在の CT 装置では診断時の患者の被曝が大きいことが問題となっている。この問題は CT 装置に使用されているＸ線検出器を高感度化することにより解決できる。しかしながら現在使用されている CsI や NaI などのシンチレーター検出器の性能は既に限界に達しているため、診断時の患者の被曝量低減には限界がある。本研究の目的は新たな材料及び検出素子構造による、低被曝量下でも高感度を有する画像検出器の開発することである。

Ｘ線、γ線などの放射線に対して高い吸収効率と高い光電変換効率を持つ材料としてテルル化カドミウム（CdTe）がある。CdTe では入射Ｘ線を直接電気信号に変換できるため、単位Ｘ線光子当たりシンチレーターより高い電気信号（画像の情報）が得られる。そのため低被曝量下でも高感度化が期待できる。既に高抵抗のバルク単結晶 CdTe を用いた放射線検出器が試作され、優れた検出特性をもつことが確認されている。しかしながらこれらのバルク CdTe 結晶では均一かつ良好な電気特性を持つ結晶の育成が極めて困難である。さらに、結晶の電気特性の制御が不可能や結晶は極めて脆いため取扱いが困難、などの問題もある。そのためＸ線 CT などに利用可能な大面積かつ高感度の検出器の開発は極めて困難な状況にある。現在のバルク結晶を用いた CdTe 検出器は限られた用途（例えば環境モニターや高エネルギー物理学など）にのみ使用可能となっている。

研究代表者らは、上記のバルク CdTe 結晶による検出器の問題点を解決のため有機金属気相成長法（MOVPE 法）による Si 基板上の単結晶 CdTe 厚膜層の成長を検討してきた。本方法では、Si 基板上の CdTe 成長層を用いることにより、成長層の電気特性の制御やそれら成長層の多層化も可能であるため、検出器構造設計の自由度が大きく検出器の高性能化が見込める。また、柔らかく脆い CdTe 結晶は機械的強度の大きい Si 基板で支持されるため、取扱いが容易になる。よって、複数の検出器を大きな面積に配置することにより、バルク結晶用いて実現不可能なＸ線 CT で応用可能な大面積検出器を実現できる。既に本方法による Si 基板上の高品質単結晶 CdTe 層の成長技術を確立すると共にその成長層を用いて $p^-$-CdTe/$n^-$-CdTe/$n^{+-}$Si ヘテロ接合ダイオード型検出器を製作し、入射放射線の検出とそのエネルギー識別が可能なことが示した。また、約 12x12 $mm^2$ サイズの Si 基板上の成長層による検出器を

(8x8)のピクセルに配列した 2 次元画像検出器アレイも実現した。これらの検出器はエネルギー識別能力を持つため、そのエネルギー情報を活用してX線が物質を通過する際の吸収・散乱特性を各X線光子のエネルギーごとに知ることができる。よって、従来の検出器と異なり、対象物質を透過したX線の強度情報（影絵）だけでなく、光子のエネルギー情報も同時に捉えることにより、物質の材質や状態も詳しく知ることができる。この特徴を応用して医療分野では診断時の被爆量の低減はもちろん、生体組織の形変化が起こる前の質的変化や密度変化など早期発見により病気の未然に予想も可能となる。

ここではこれまで開発を行ってきた、Si 基板上の CdTe 厚膜単結晶層を用いたヘテロ接合型ダイオード検出器の検出特性の改善を図り、高性能大面積２次元アレイ型検出器の製作技術を確立することを目的として研究を行った。

## ２．内容

MOVPE 法による Si 基板上に直接成長した CdTe 厚膜単結晶層を用いた、p-CdTe 厚膜層/n-CdTe バッファ層/n+-Si ヘテロ接合型ダイオード構造を持つ X 線検出器について、検出性能およびエネルギー分解能の向上を検討した。また、検出器の大面積化のため 25x25 $mm^2$ の Si 基板上の大面積かつ均一な結晶性を有する厚膜 CdTe 層の成長に関する検討を行った。さらに、25x25 $mm^2$ の Si 基板上に上記の構造を用いて、n 型 CdTe バッファ層、p 型 CdTe 厚膜層を順に成長した後 p-CdTe 成長層と Si 基板裏面に金電極を蒸着した。その後、ウエファダイサーによって p-CdTe 層から Si 基板中までXとY方向にトレンチを形成し、(20x20) ピクセル（画素）の画像検出器アレイを製作した。

ここでは、検出器の高性能化を目的としてX線検出感度の向上と常温動作時における検出器暗電流の低減について検討した。また、製作した検出器アレイの特性評価を通じて、p-CdTe 層の成長やアレイ製作方法の最適化を行い、ピクセル間の特性の変動が少なく均一な特性を有するアレイ作製条件を確立した。

## ３．成果

p-CdTe 厚膜層/n-CdTe バッファ層/n+-Si 構造のヘテロ接合型ダイオードX線検出器について、①X線検出感度とのエネルギー分解能の向上を目的として検討を行った。また、②高性能大面積の２次元アレイ型 X 線画像検出器実現を目的とした成長層大面積化と高品質化技術について検討を行い、検出器アレイ作製と特性評価行った。

まず①の検出感度向上には p-like CdTe 層を厚膜化し X 線吸収効率を増加すると共に、動作時にはこの層全体に電界を印加し、X 線により発生したキャリアの取り出し効率を向上する必要がある。実用的バイアス電圧のもとでその条件を満足するためには、p-CdTe 層中のイオン化不純物密度を極力低減し、高抵抗化することが必要である。ここでは p-CdTe 層成長時に、カドミウムの原料に対するテルル原料の供給比(VI/II 比)の制御を行うと共にn型不純物であるヨウ素の添加を行い、その際に生じる自己補償効果を利用したイオン化不純物密度の低減について詳細に検討を行った。

その結果、Te 過剰の成長条件（VI/II 比 3.0)、エチルヨウ素添加量を $10^{-7}$～$10^{-6}$ mol/min の範囲で成長を行った場合高抵抗の p-CdTe 層を得られると共にイオン化不純物密度は $10^{13}$ $cm^{-3}$ 以下に低減できることを確認した。また以上の検討を通じて、CdTe 層電気特性のヨウ素添加量依存性から CdTe における自己補償機構を明らかにした。さらに、同成長条件での成長速度は 10 $\mu$m/h を超えており、成長層の厚膜化も達成できることを確認した。

検出器のエネルギー分解能の向上には、検出器動作時の暗電流の低減が必要である。そのためには CdTe 層中に存在する転位密度の低減と共に、n-CdTe 層を高電子密度化し、この層への空乏層

の広がり防止することが必要である。

Si 基板と CdTe の格子不整合により発生するミスフィット転位は界面付近だけでなく、貫通転位として成長層内まで伝播する。これらの転位は検出器の暗電流を増加すると共に X 線によって生成されたキャリア（電子正孔対）を捕獲し検出特性を劣化させる。本検討では CdTe 層成長時に成長を中断し、基板温度を成長温度より昇温と降温を繰り返し行う熱処理により転位の運動を促進させ、反応により転位の消滅が可能であることを確認した。基板温度を 300℃から 870℃で昇降温、60s の 3 サイクルの熱処理により転位密度を最も減少することが分かった。

次に、n-CdTe 層の高電子密度化についての検討結果は図 1 に示す。成長温度を 400 ℃、VI/II 比を 0.25 で成長行うことにより電子密度 $10^{17}$ $cm^{-3}$ 以上の高電子密度の n-CdTe 層が成長できることを確認できた。

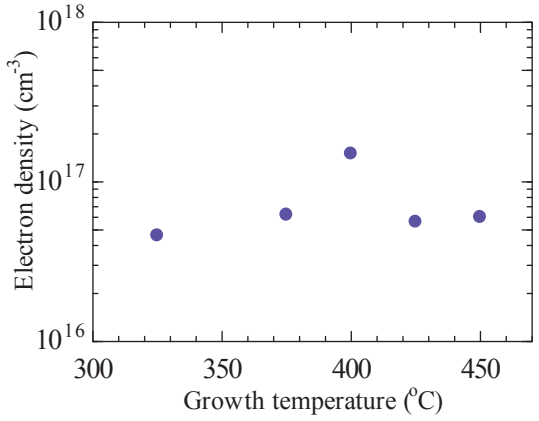



**図1　Electron density of n-CdTe layer as a function of growth temperature.**

②成長層高品質化と大面積化については以下の検討を実施した。

本研究では上記の p-CdTe 層、n-CdTe 層及びアニール条件を用いて、25x25 $mm^2$ の Si 基板上の CdTe 成長層を用いて大面積検出器アレイの製作を行った。アレイは既に確立している 12x12 $mm^2$ サイズの Si 基板上の成長層を用いた(8x8)ピクセルに配列した 2 次元画像検出器アレイ製作技術を基礎とし作製した。また(8x8)ピクセルアレイと同様なピクセルピッチ(1.27mm)にするため（20x20）ピクセルアレイの製作し評価を行った。製作した 2 次元画像検出器アレイの構造図を図 2 に、またこの検出器アレイの各ピクセルについて電流電圧特性の評価を行った結果を図 3 に示す。この図では各ピクセルの逆バイアス 100V 印加時の暗電流値（室温）を色分けして示している。図では色の濃い部分は暗電流密度の大きい箇所で、色の薄い部分は小さい箇所である。この結果ピクセル間の暗電流特性にはまだ変動があることが分かる。暗電流の温度依存性を調べた結果、暗電流の多い箇所では 0.7 eV の準位の密度が高く、暗電流の少ない箇所ではその密度は低いことを確認した。またこの暗電流の分布は成長中の基板表面での Te 原料の分解率の分布と対応していることを確認した。さらに、Te 原料の分解率により成長層の膜厚も不均一であることが分かった。従って暗電流の低減と分布の均一化のためには、Te 原料の分解率の精密な制御とその分布の均一化が必要な課題であることが分かった。

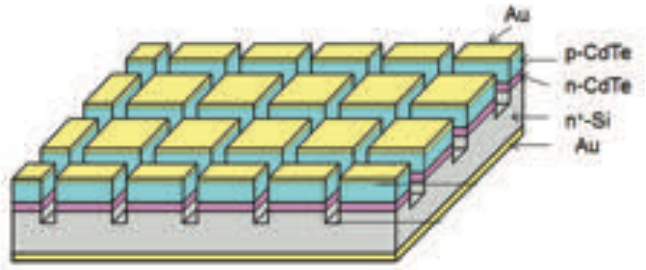



**図2　Schematic diagram of the 2D pixel array.**

この問題の改善を目的として、CdTe 層成長時に成長室に設置されている複数の原料供給口からの原料供給量及び供給比（Te 原料に対する Cd 原料の比）を独立制御した。一方、厚膜化のため長時間成長を行う場合、成長炉内サセプタ上部の温度上昇による成長用原料の分解は不均一になり、成長層の膜厚分布が生じることが確認した。この課題を解決のため短時間の成長を複数回に

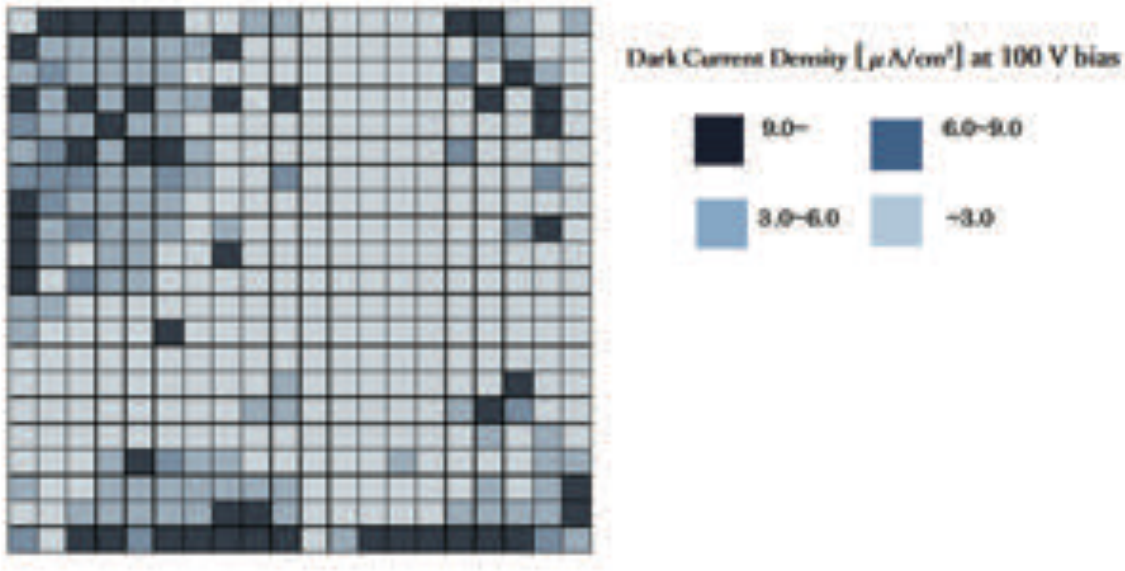



**図3 Distribution of dark current among all pixels in the (20x20) array measured at room temperature by applying a reverse bias of 100 V. Some variation of dark currents among the pixels observed.**

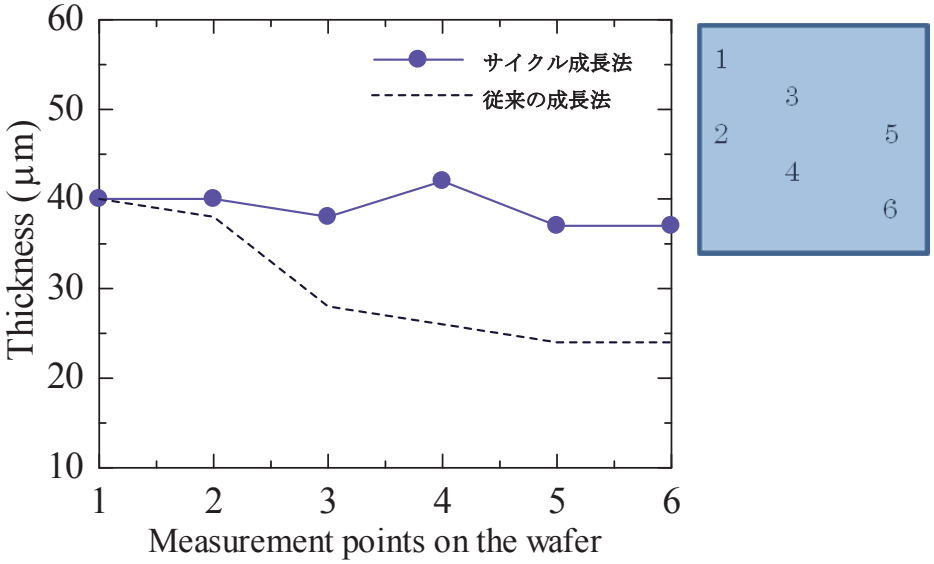



**図4 Variation of CdTe thickness within the 25x25 mm$^2$ wafer. The approximate location where the measurements were made is shown on the right figure. For a comparison thickness variation before optimizing the growth technique is also shown in the graph (dashed line)**

繰り返し行うサイクル成長法を導入し、原料の分解率の不均一化を抑制した。その結果図４に示すような基板全面に均一な膜厚分布が得ることができた。

図５に本成長条件を用いて p-CdTe 層の成長を行い、上記の手順により作製した(20x20)の検出器アレイ評価結果を示す。ここでは図３と同様に各素子の逆バイアス 100V 印加時の暗電流値（室温）

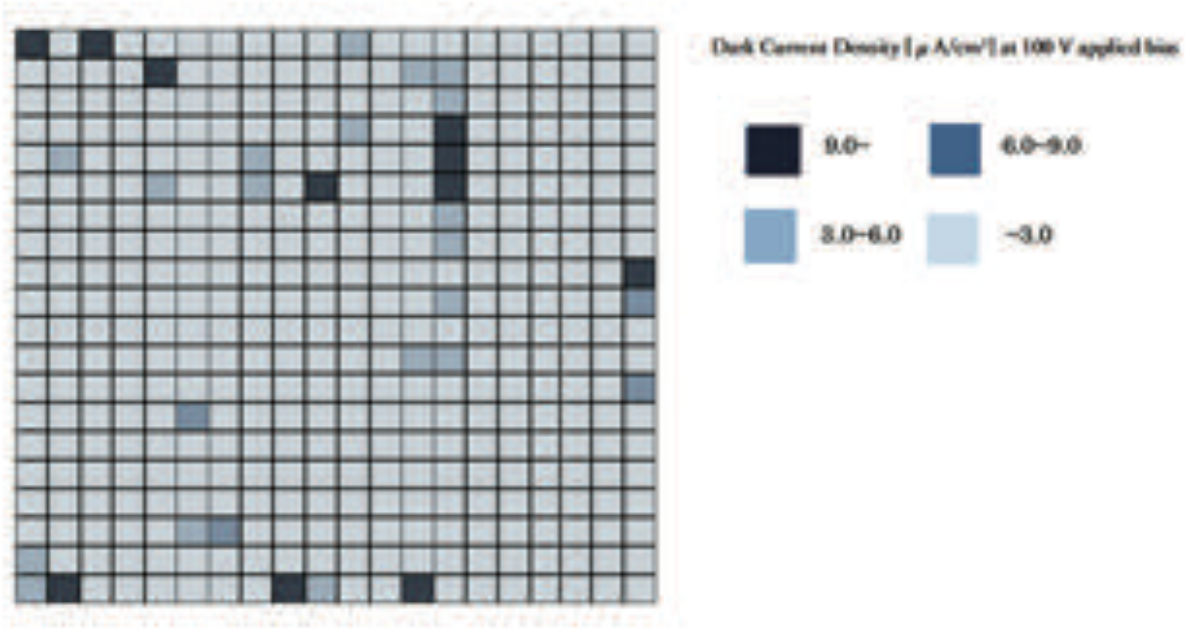



**図５ Dark current distribution among all pixels in the (20x20) array measured at room temperature by applying a reverse bias of 100 V. Almost all pixels in the array shows uniform values of dark current which was less than 3 μA/cm$^2$ at 100V bias.**

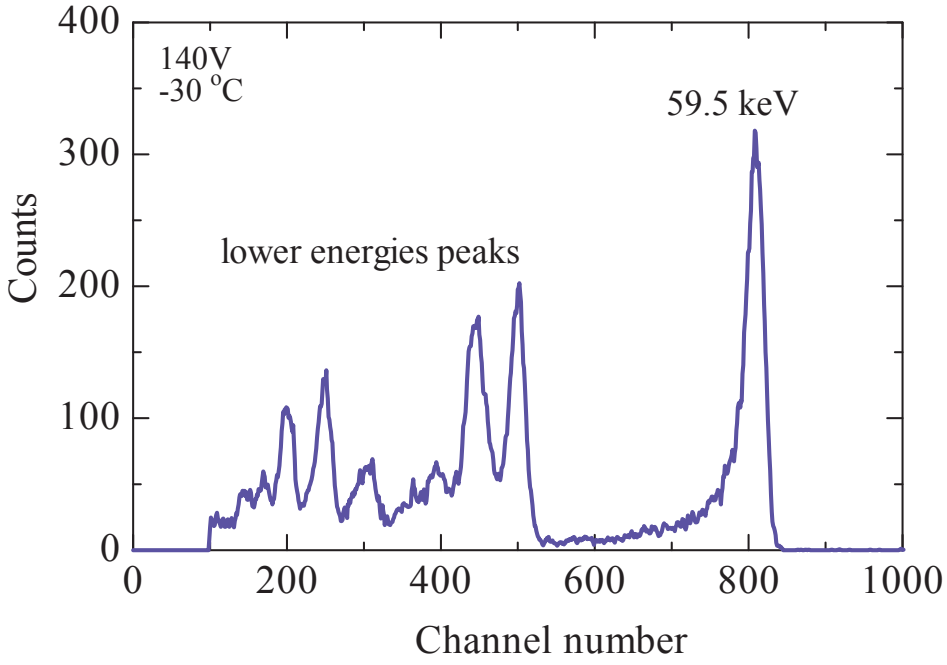



**図６ Representative $^{241}$Am gamma spectrum recorded from the detector. The spectroscopic performance was measured by dicing out a 5 mm square portion from the (20x20) array. The measurement conditions are mentioned on the figure.**

を色分けして示している。この結果から、製作した検出器アレイでは図３に比べて各検出素子間の暗電流値の変動がなく、電気特性のそろった検出器アレイが製作できていることが分かる。

作製した検出器の放射線検出特性を図６に示す。γ線源は $^{241}$Am であり、検出器印加電圧は 140 V で測定を行った。この結果、$^{241}$Am に対応したすべてのエネルギーピークが明確に検出されており、検出器のエネルギー分解能を向上していることが分かる。

以上のことから、25x25 mm$^2$ の Si 基板上で均一な膜厚をもつ CdTe 層の成長条件を確立した。またこの成長層を用いて均一な電気特性を持つ(20x20)の検出器アレイを製作した。以上の結果は本研究で目的とする高性能大面積 X 線画像検出器が実現可能であることを示唆している。

## ４．まとめ

本研究では有機金属気相成長法（MOVPE 法）による Si 基板上に成長した厚膜 CdTe 単結晶成長層を用いた、新規の検出素子構造による、低被曝量下でも高感度を有する大面積画像検出器アレイ作製方法に関する検討を行った。検出器の高感度化のために 25x25 mm$^2$ の Si 基板上高抵抗厚膜 p-CdTe 層の成長条件を確立すると共に検出器の暗電流の低減のため、アニール処理による成長層の低転移化、n-CdTe 層の高電子密度化を図った。さらに、アレイ特性の均一化のため、p-CdTe 層成長時に成長用原料の供給量と供給比を精密に制御できるように成長条件及び成長方法の最適化を行った。その結果 25x25 mm$^2$ 以上の Si 基板上で膜厚が均一な単結晶 CdTe 層の成長条件を確立した。さらにこの成長条件を基に、(20x20)の検出器アレイを製作した。この検出アレイの各素子は p-CdTe/n-CdTe/n+-Si ダイオードの構造を持っている。製作した検出器アレイの特性評価した結果、各素子は良好で均一な電気特性を有していることを確認した。以上の結果は本研究で目的とする高性能大面積 X 線画像検出器が実現可能であることを示唆している。

## 謝辞

本研究は公益財団法人中谷医工計測技術振興財団の平成 28 年度技術開発研究助成開発研究助成金の支援を受けて行われました。ご支援に感謝申し上げます。

## 参考文献および発表論文

1. “Post Growth Annealing of MOVPE-Grown Single Crystal CdTe Epilayers on (211) Si Substrates”, IEEE 2017- 24th International Workshop on Room-Temperature Semiconductor X-and Gamma-Ray Detectors, 23-27 Oct, 2017, Atlanta, USA. (poster presentation) (Paper No. R-07-014/Oct 24th)

# カーボンナノチューブの近赤外アップコンバージョン蛍光を用いた生体イメージング

研究責任者　京都大学　エネルギー理工学研究所
エネルギー機能変換研究分野
准教授　　宮内　雄平

## １．はじめに

近年、生体内部奥深くにある構造や物質輸送の様子を光で高解像に実時間造影する技術として生体の窓と呼ばれる生体透過性が高い近赤外波長領域（650-1400 nm 程度）の蛍光イメージングが有望視されている。特に NIR-II と呼ばれる 1000-1400 nm 程度の波長帯は、適切な生体適合蛍光プローブの欠如により長らく未開拓領域として残されていたが、最近 NIR-II 領域における単層カーボンナノチューブ（以降、CNT と表記）の近赤外蛍光を利用することで従来にない深さと解像度でマウス体内の血管や臓器の蛍光ライブイメージングが可能となることが示され、大きな注目を集めている[1]。しかしながら、NIR-II イメージングでは、通常 1100 nm を超える長波長光領域での蛍光発光を検出することになる（650-900nm 程度の励起光を用いた場合、生体組織からの自家蛍光の影響を避けるために、1100nm 以下の発光はカットする必要がある）ため、広く普及している 1000nm 以下対応のシリコン半導体をベースとした光検出器を利用できず、一般に普及しているとは言い難い高価な化合物半導体ベースの近赤外画像検出器の導入が必要になるという難点があった。

通常、物質の蛍光は、励起光波長よりも長波長側に見られることが経験則（ルミネッセンスのストークスの法則）として知られている。したがって、一般的な蛍光プローブを用いたイメージングでは、励起光よりも長波長の蛍光を観察する必要がある。一方、近年、アップコンバージョン蛍光（UCPL）と呼ばれる、ストークスの法則に従わない発光現象を示す物質が注目を集めている。UCPL とは、物質が、光吸収（励起）した光の波長よりも短い波長の蛍光を放出する特異な現象のことである[2]。高効率に UCPL を生じる物質は、希土類をドープしたセラミックスナノ粒子など、非常に限られているが、生体の蛍光バイオイメージングにおいて UCPL を用いることができると、生体の自家蛍光はほとんどの場合ストークスの法則に従い励起光より長波長側に生じるため、原理上、自家蛍光の影響が少ないクリアな発光画像が得られると期待される。したがって、生体透過性の高い近赤外領域に UCPL を生じる物質があれば、生体深部の蛍光バイオイメージング技術の大きな前進につながると考えられ、物質探索が進められてきた。

このような背景のもと、最近我々のグループは、CNT が比較的効率良く近赤外領域で UCPL を生じることを発見した[3,4]。CNT の UCPL 過程は、欠陥導入のような外的要因により形成された局

在中間準位の光励起により励起子が生成され、光学フォノン吸収に伴う上方変換が効率よく生じ、固有励起子準位からの発光が生じるという、他のUCPL物質とは異なるCNTに特有の機構であることも突き止めている。特に、CNTのUCPLでは、励起波長と発光波長の両方を波長1μm近傍の近赤外領域にとることができるが、この領域は、生体の光散乱が小さいNIR-II波長領域である。また、UCPLの観察では励起光よりも短波長の光を観測するため、生体の自家蛍光（励起光より長波長）の影響を受けにくいことが期待される。従って、CNTのUCPLを利用すれば、NIR-II蛍光イメージングにおける数々の利点を保ったまま、従来の難点を克服し、さらに、深部生体蛍光イメージングの技術的・コスト的限界を突破する鍵になる可能性がある。そこで本研究では、新たに見出されたCNTのUCPL現象を利用した新たな生体深部バイオイメージング手法の実現を目的として研究を行った[5),6)]。

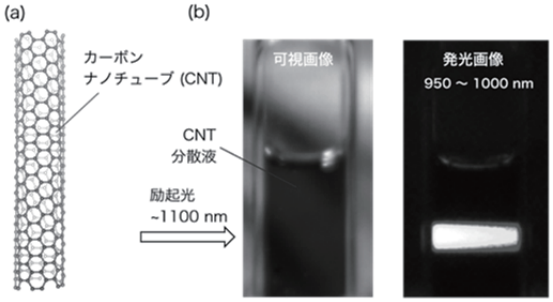



**図1　(a)カーボンナノチューブ(CNT)の模式図。(b)石英キュベットに入れたCNT分散溶液の可視画像とアップコンバージョン発光画像[3)]。**

## 2．内容

本研究では、(1)生体組織内におけるアップコンバージョン光物性の解明(2)深部生体ライブイメージングの実証の2項目について、研究を進めた。項目(1)としては、申請時には取得できていなかった、マウスの肝臓組織内に存在する単一CNTからの発光スペクトル測定を実現した。また、バイオイメージング応用において重要となる生体組織内におけるCNTのUCPLの安定性についても評価した。項目(2)については、生体適合化したCNT分散液を尾部血管より注入したマウスについて、UCPL観測条件のもとで、自家蛍光に邪魔されずに生体深部の臓器や血管のイメージングを行えることを実証するため、実験装置の構築、及び実験を行なった。

## 3．成果

図2に、項目(1)の研究において用いた試料の概要（図2(a)）と、CNTを注入したマウスの肝臓組織スライス片(厚さ5μm)内における単一CNTの顕微PL及びUCPLスペクトル測定の結果（図2(b,c)）を示す。図2(b)の通常のPL測定では、励起波長658 nm、図2(c)のUCPL測定では、励起波長1064 nmの励起光を用いた。図2(b)と(c)の挿入図中の円は同位置にあり、PL、UCPLスペクトルは同試料中の同位置で測定している。

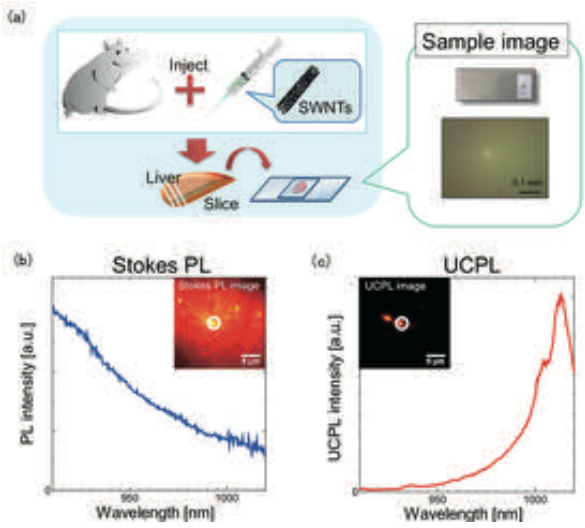



**図2　(a)CNTを注入したマウスの肝臓切片試料の概要。(b)マウス肝臓切片のストークス発光(PL)画像(挿入図)と、観測されたPLスペクトル。(c)同試料、同位置のUCPL画像と、UCPLスペクトル。白丸は、スペクトルを測定した位置を示す。**

図２(b)の PL スペクトルでは生体の自家蛍光（励起波長から長波長側になだらかに発光）の影響が大きく、CNT の励起子発光を反映したピーク構造は確認できなかった。一方、図２(c)の UCPL スペクトルでは自家蛍光は見られず、約 1010 nm 付近に、発光のピーク構造が確認できる。マウス注入前の生体適合化 CNT 分散液において測定した UCPL スペクトルと比較したところ、ほぼ同波長に、CNT の励起子共鳴に由来する発光ピークが確認された。このことから、CNT を投与したマウス切片において UCPL イメージングを行なった際に観測される輝点は、個々の CNT の UCPL に由来することを確認することができた。

CNT の UCPL をマウスの全身イメージングに応用する場合、発光の安定性（UCPL の観測条件において、光退色がなるべく生じないこと）も重要となる。そこで、UCPL の発光強度の光照射時間依存性を評価することで、長時間の発光安定性について検討を行った。

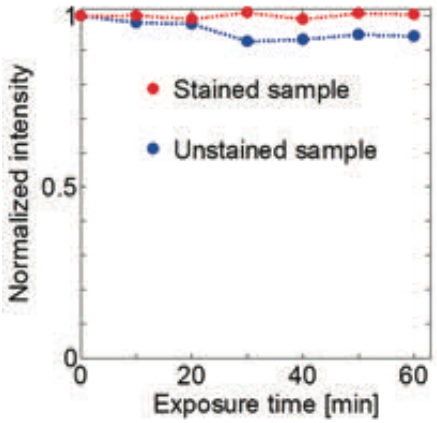



**図3　肝臓スライス試料中の CNT の UCPL 強度の時間依存性。発光強度は、照射時間 0 分の発光強度(初回測定での強度)を 1 として規格化している。**

図３に、マウス肝臓切片試料中の単一 CNT に、励起光（1064 nm）を照射し続けて測定した UCPL 強度の時間依存性を示す。UCPL イメージにおいて CNT 由来の発光輝点を 10 点とり、それぞれ時間依存性を求めた上で平均値をプロットしている。励起光のパワー密度は 10 kW/cm² とした。マウス肝臓切片試料としては、Hematoxylin-Eosin (HE)染色試料（stained）、及び非染色試料（unstained）の両方について評価を行った。図３から、60 分後も染色試料の場合は最初の発光強度の 99%、無染色試料の場合は 92% 程度発光強度を維持していることが確認できた。このことから、CNT の UCPL は高い長期発光安定性を有することが確認された。

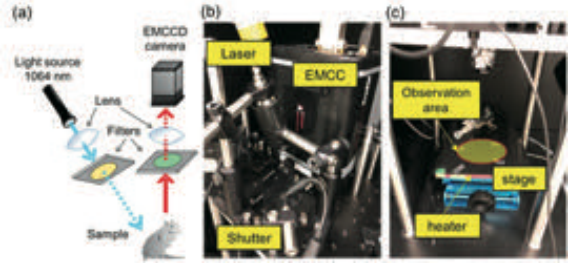



**図4　(a)マクロ UCPL 測定実験系の模式図。(b)光源部及び検出系（シャッター、レーザー、EMCCD カメラ等）及び (c)マウス観察部（ステージ、ヒーター等）の写真。**

項目(1)により、CNT の UCPL がマウス体組織内でも観測できること、及び、十分な長期発光安定性を有することが明らかになった。そこで次に、項目(2)の研究として、本研究で制作した光学系を用いて、生きたマウスの尾部血管から生体適合化した CNT の分散液を注入し、CNT の分散液がマウス内部の血管や臓器をめぐる様子のマクロ UCPL 撮像を試みた。図４に、項目(2)の研究で用いた光学実験系の模式図と、実際に制作し測定に用いたマクロ UCPL 撮像システムの写真を示す。マウスのマクロ UCPL 撮像のため、光源（1064 nm レーザー）からの光は、レンズ系によって直径数 cm 程度の範囲に広げて照射されるように調整した。図４(c)に示すように、ステージは、マウスの体温を維持するためのヒーターを備えている。光源からの不要な波長の光や迷光を排除する

ため、複数の光学フィルターを用いた。また、これらの測定装置は暗箱中に収めて測定を行なった。画像検出には、シリコン製の電子増倍型冷却CCD（EMCCD）カメラ（検出可能波長域~1000nm 以下）を用いた。画像検出には、950nm から 1000nm までの波長域の発光のみを、光学フィルターを用いて選択的に取得した。

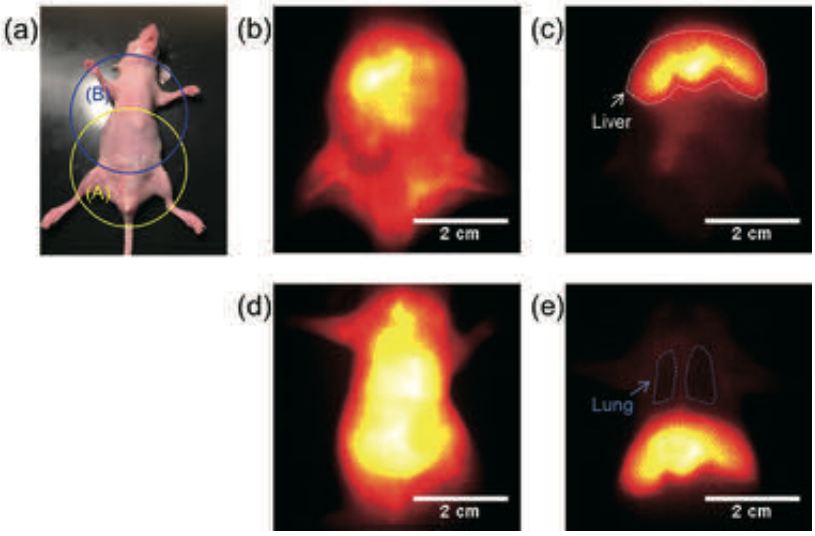



**図5** (a) UCPL イメージングを行ったマウスの写真。A の円は(b)、(c)を取得した部位、B の円は(d)、(e)を取得した部位を示している。(a)中の円(A)で示された部位の、CNT 注入後 (b) 2 時間後の UCPL イメージと(c) 18.5 時間後の UCPL イメージ。白い点線で囲った部分は肝臓の位置を示している。(a)中の円(B)で示された部位のカーボンナノチューブを投与してから(d)数分後の UCPL イメージと(e) 18.5 時間後の UCPL イメージ。青い点線で囲った部分は肺の位置を示している。

図５に、測定したマウスの写真（図５(a)）、CNT 注入から 2 時間後（図５(b、d)）、及び 18.5 時間後（図５(c、e)）の UCPL 画像を示す。図５(a)に示した領域 A、B は、図５(b、c)、図５(d、e)の測定領域に対応している。UCPL 画像の取得には、波長 1064 nm、パワー密度 47 mW/cm$^2$ の励起光を用いた。なお、図５の画像取得の積算時間は 15 秒としている。本研究では、さらに高強度の光源を用いた実験も行い、積算時間 0.2 秒でのリアルタイム動画測定により、注入された CNT が各臓器を巡る様子の動画撮影にも成功している（そのデータについては、原著論文投稿準備中であるため、ここでは掲載を差し控える）。

図５に示した結果から、当初の狙いどおり、CNT 投与後、CNT は血管を通じてマウス全身を巡り、足の付け根あたりの血管（図５(b)左下）や、肝臓、その他の内臓など、マウス内部の血管や臓器の画像が明瞭に観察されていることが確認できる。時間経過に従って、CNT が肝臓（Liver）に集積されている様子（図５(c)）や、CNT 注入後しばらくは明るく光っていた肺（Lung）の部分が、18.5 時間経過後にはほとんど光らなくなっている様子も観測された。CNT を投与していないコントロールマウスの UCPL 撮像実験においては、検出可能なシグナルはほとんど得られないことも確認している。これらの結果から、CNT の UCPL を用いた生体イメージングにおいては、生体の自家蛍光の影響をほとんど受けない状態でのイメージングができること、すなわち、極めてわずかな量でも CNT が特異的に集積している場所があれば、UCPL によって観察できるということが明らかとなった。

## ４．まとめ

本研究では、CNT の UCPL 現象を応用し、低コスト・高コントラストで生体深部の血管や臓器の蛍光イメージングを可能とする新しいイメージング手法の開発に取り組んだ。CNT を蛍光プローブとしたマウス体内のイメージングには、従来、1100 nm 以上の発光検出のため高価な化合物半導体ベースの近赤外画像検出器を用いる必要があったが、本研究により、CNT の UCPL 現象を利用すれば、検出可能波長 1000 nm 以下のシリコン製画像検出器を用いて、マウス体内深部の内臓や血管の無自家蛍光イメージングが可能になることが実証された。この成果を基礎として、今後、CNT の UCPL 現象の特徴である顕著な温度依存性 [3]や偏光依存性 [4]を生かし、生体内部の光温度プローブ技術や、UCPL 発光画像のさらなる高解像化に向けた研究開発を進めていく予定である。

## 謝辞

本研究は、公益財団法人中谷医工計測技術振興財団の技術開発研究助成の支援を受けて行いました。ここに深く感謝の意を表します。CNT を注入したマウスの肝臓切片試料の準備、マクロ UCPL 造影実験におけるマウスの取り扱いは、国立研究開発法人産業技術総合研究所 湯田坂雅子博士の協力のもと行いました。各種装置の構築と光学測定は、京都大学エネルギー理工学研究所松田一成 教授、京都大学大学院エネルギー科学研究科大学院生の奥平早紀、八谷健吾 両氏の協力のもと行いました。ここに深く感謝いたします。

## 参考文献および成果発表

1)Deep-tissue anatomical imaging of mice using carbon nanotube fluorophores in the second near-infrared window, K. Welsher, S. P. Sherlock, and H. Dai, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 108, 8943 (2011).

2)Upconversion and anti-stokes processes with f and d ions in solids F. Auzel, Chem. Rev. 104, 139 (2004).

3)Efficient near-infrared up-conversion photoluminescence in carbon nanotubes, N. Akizuki, S. Aota, S. Mouri, K. Matsuda, and Y. Miyauchi, Nat. Commun. 6, 8920 (2015).

4)Upconversion photoluminescence imaging and spectroscopy of individual single-walled carbon nanotubes, N. Akizuki, S. Mouri, K. Matsuda, and Y. Miyauchi, Appl. Phys. Express 9, 045103 (2016).

5)Up-conversion photoluminescence imaging and spectroscopy of carbon nanotubes in mice tissues, S. Okudaira, Y. Iizumi, M. Yudasaka, T. Okazaki, K. Matsuda, and Y. Miyauchi, 第 7 回ナノカーボンバイオシンポジウム, 京都大学宇治キャンパス, 2017 年 9 月 12 日.

6)Resolution assessment of macroscopic up-conversion photoluminescense imaging using carbon nanotubes, S. Okudaira, Y. Iizumi, T. Okazaki, K. Matsuda, and Y. Miyauchi, The 53rd Fullerenes-Nanotubes-Graphene General Symposium, Kyoto, September 13-15, 1P-37, 2017.

# 蛍光バイオセンサーを用いた分岐鎖アミノ酸の生細胞内イメージング

研究責任者　京都大学　大学院生命科学研究科
高次生体統御学研究室
准教授　　今村　博臣

## １．はじめに

アミノ酸は、細胞を構築するタンパク質の素材やエネルギー源として必要不可欠な栄養素である。アミノ酸の欠乏は細胞にとって大きなストレスであるため、細胞には細胞内アミノ酸濃度に応じて代謝を調節する機構が備わっていることが知られている。しかし、細胞がアミノ酸濃度を感知する仕組みの詳細については未だ不明な点も多い。特に、細胞内のアミノ酸の時間的・空間的な分布や変動についての基本的な知見はほとんど分かっておらず、これは、従来の細胞のアミノ酸定量方法では細胞破砕液中に含まれるアミノ酸を測定するため、生きた細胞内のアミノ酸量、さらには個々の細胞内の局所的なアミノ酸動態を分析することが困難だったためである。

## ２．内容

これまで我々のグループでは ATP を計測するためのバイオセンサーを中心に、多くの蛍光・発光バイオセンサーを開発し、リアルタイムかつ１細胞単位で細胞内代謝物の濃度がイメージングできる手法を構築してきた。本研究では、これまでの技術を活用することで、新規の蛍光アミノ酸バイオセンサーを開発し、生きた細胞内のアミノ酸動態をイメージングすることを試みた。特に、ヒト自身が体内で作り出すことの出来ない「必須アミノ酸」であり、分岐鎖アミノ酸（BCAA）と称されるロイシン、イソロイシン、バリンの３種類のアミノ酸を計測対象とし、その細胞内動態を可視化する蛍光バイオセンサーの開発に取り組んだ。

## ３．成果

細胞内の BCAA 動態測定技術として、我々は BCAA 量に依存して蛍光色が変化する人工タンパク質を構築した。この蛍光バイオセンサーは、青色蛍光タンパク質(CFP)と黄色蛍光タンパク質(YFP)が、BCAA に特異的に結合し構造変化を引き起こすバクテリア由来の BCAA 結合タンパク質（LIVBP）に挿入された構造をしている（図 A）。BCAA 濃度が低い環境下では BCAA が結合しないため、LIVBP が開いた構造をとり、CFP 由来の蛍光が検出された。しかし、濃度が高い環境下では、LIVBP に BCAA が結合して、開いた構造から閉じた構造へと大きく構造が変化し、CFP と距離的に近くなった YFP へのフェルスター共鳴エネルギー移動（FRET）が生じ、YFP からの蛍光が検出された。この CFP に対する YFP の波長変化率(FRET 効率(YFP/CFP))を用いて、BCAA 濃度を測定することが出来た。

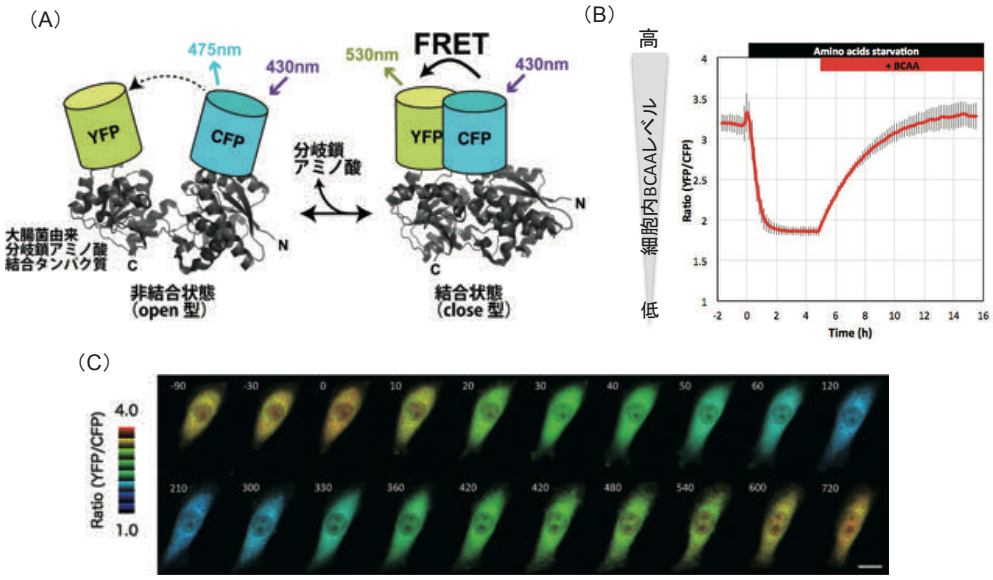



**図　本研究成果**

(A)新規蛍光BCAAバイオセンサーの開発。大腸菌由来のBCAA結合タンパク質にフェルスター共鳴エネルギー移動(FRET)を生じる2種類の蛍光タンパク質を挿入した人工タンパク質を作製した。(B、C)本バイオセンサーを用いた細胞内BCAA濃度変化のタイムラプス。アミノ酸飢餓によりFRET効率の低下が見られ、飢餓条件へのBCAA添加によりFRETの上昇が見られた。図C内の数字は撮影時間(min)を示す。スケールバーは5μm。

次に、培養細胞（HeLa 細胞）に本バイオセンサーを導入後、ライブイメージングによる単一生細胞内 BCAA 動態の測定を行った（図 B、C）。その結果、アミノ酸飢餓条件ではバイオセンサーの FRET 効率の低下が見られ、飢餓状態の後培地に BCAA を添加すると、FRET 効率の回復が見られた。この結果から、本バイオセンサーが細胞内においても BCAA 濃度に応答していることが確認された。次に、細胞内における本バイオセンサーのアミノ酸選択性を、飢餓条件に曝した細胞への各種アミノ酸添加によって測定した。その結果、本バイオセンサーはロイシン、イソロイシン、バリンの各 BCAA に選択的に応答することが判明した。

## 4．まとめ

本研究で我々は一細胞レベルの解像度で細胞内 BCAA を可視化する蛍光バイオセンサーの開発に成功した。これにより、細胞内の局所的な BCAA 濃度変化を経時的に観察することが可能となった。本技術は、近年注目を集める BCAA の様々な生理作用の解析に有用であることが考えられる。例えば、BCAA は筋タンパク質の素材として筋肉の発達を促進することが知られている。また、ロイシンは細胞内代謝の重要な制御因子である mTOR を活性化し、オートファジーやタンパク質合成等に強く影響を与えることが報告されている。さらにロイシンとイソロイシンはインスリン比依存的に筋肉へのグルコース取込みを促進することが示されており、糖尿病の改善薬としての可能性も示唆されている。本技術を応用し、これらの現象における細胞内 BCAA 動態を詳細に調べることで、今後、BCAA の生理機能の理解がより深まることが期待される。

また、本技術を鋳型とすることで、様々なアミノ酸センサーの開発が可能と考えられ、今後、生化学、分子生物学、栄養学など多方面で有益な測定技術となると予想される。

## 謝辞

本研究にご支援いただきました中谷医工計測技術振興財団、および本研究に携わった研究室メンバーに深く感謝申し上げます。

# 染色体工学技術を用いた薬物代謝酵素誘導を経時評価可能なシステムの開発

研究責任者　鳥取大学
染色体工学研究センター
准教授　　香月　康宏

## １．はじめに

薬物動態の詳細な予測には、酵素誘導による代謝酵素量の変動の正確な把握が不可欠である。このことは 2014 年に厚生労働省に提出されたガイドラインにも明記され、医薬品開発の段階で検討必須の項目となる。現在、長寿高齢化が進み、生活習慣病を患う人口が年々増加している。それら病気は長期的な薬物治療が必須である中、医薬品を服用する上で代謝酵素誘導による薬効変化は薬物治療への深刻な問題となっている。

代謝酵素誘導は遺伝子配列由来の反応であることから、ヒトー動物間で種差が存在し、その評価にはヒト肝細胞の使用が推奨される。しかしヒト肝細胞は有限・高価であり、倫理上の問題から代替モデルの開発が求められてきた。加えて *in vitro* 試験データのみでは、必ずしもヒト臨床の試験を反映しないことも問題点に挙げられてきた。また、酵素誘導の評価は被験化合物の酵素阻害により酵素誘導作用を見落とすことを避けるため、代謝化合物量変化ではなく、標的遺伝子の mRNA 発現量の変化を用いられるが、その解析には遺伝子抽出操作のため細胞を破砕することから、酵素誘導の時間依存的変化の評価が困難であった。そうした背景から代謝酵素誘導評価モデルとして代謝酵素発現調節領域下流に発光レポーターを搭載したベクター開発も同時に行われてきた。

代表者らは、マウス胚性幹 (ES) 細胞へヒト薬物応答核内受容体およびヒト代謝酵素遺伝子クラスター領域を搭載した人工染色体ベクターを導入することで、ヒト薬物代謝応答性を有するマウス個体の作製に成功した。この人工染色体導入モデルでは、従来のベクター技術では不可能であった長大な遺伝子クラスター領域の搭載を可能にし、遺伝子調節領域を含む全領域を搭載したことから、マウス由来組織にも関わらずヒトの薬物代謝酵素の誘導応答性を極めて良く再現することに成功した。また生体から直接肝細胞を用時採取可能であることから、既存の代替肝細胞モデルでは再現不可能な非常に高い肝機能を有した細胞リソースとして利用可能にした。

## ２．内容

本研究では上記染色体工学技術に加え、産総研と共同開発した発光技術も開発に加える。これにより従来の遺伝子導入技術の課題であった、長期培養による遺伝子発現・機能が低下、および細胞の性質変化、挿入部位やコピー数の違いによる各クローン間の発現量差異という問題点を鳥取大学が開発したオリジナル技術である人工染色体

によって解決し、尚且つ生体にて安定な発光遺伝子を使用することで、*in vivo* において高感度かつ定量性の高い *in vivo* 薬物代謝酵素誘導評価モデルの開発が可能と考えられる。

以上から、本研究では「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン」に明記されている代謝酵素遺伝子CYP3A4を発光遺伝子に置換し、代表者グループが保有する人工染色体ベクター導入技術を融合することで、医薬品服用時の代謝酵素誘導を、従来解析が困難であった経時的モニター評価を可能とする人工染色体導入ヒト化マウス作製を目的とする。

## ３．成果

### 1）ヒト薬物代謝酵素搭載人工染色体改変用 BAC ベクターの構築

CYP3A4 の長鎖配列は、ヒトゲノム BAC (bacterial artificial chromosome) ライブラリーより取得し（図１A）、大腸菌株 DY380 の相同組変えにて人工染色体に搭載用のための loxP サイトを導入した（図１B）。また、代謝酵素の遺伝子発現領域配列を発光タンパク質 (Cluc) 配列にて同様に相同組変えによって置換した（図１B）。これら組み換えは、ジャンクション部分の PCR 解析にて行った。

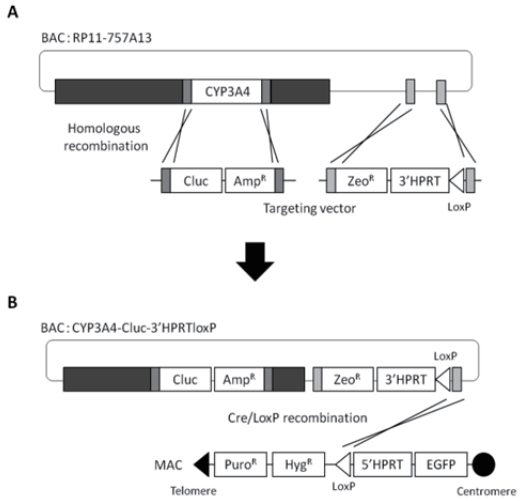



図１ BAC ベクター構築概要

### 2）上記 1)の代謝酵素発現領域を発光遺伝子にて置換

1)で作製した BAC ベクターと Cre 発現ベクターを人工染色体導入 CHO 細胞へ一過性に導入することで、人工染色体ベクター上に目的遺伝子を搭載したクローンを PCR 法（図２A）、FISH 法（図2B）により選別した。

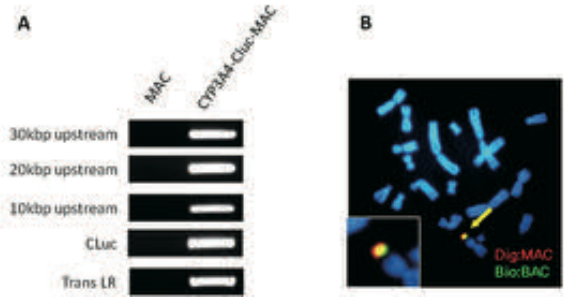



図2 CHO 細胞内における人工染色体構築

### 3）上記 2)の代謝酵素発光モニタリング用人工染色体ベクターをマウス ES 細胞へ移入

CHO細胞から目的遺伝子搭載人工染色体を微小核細胞融合法により、マウス ES 細胞に導入し、目的の人工染色体が導入されたクローンを薬剤選別し、GFP+ES 細胞をスクリーニングした（図３A）。クローンのチェックは FISH 解析を行い（図３B）、正常核型に加えて人工染色体ベクターが 1 コピー独立して保持されている株を選別した。また人工染色体上に搭載されている DNA 配列について、PCR にて確認した（図３C）。

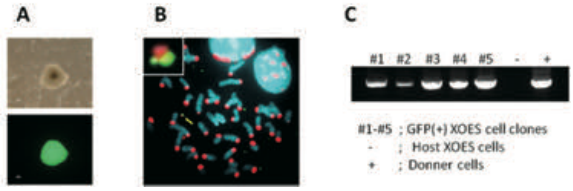



図3 人工染色体保持マウス ES 細胞

### 4）上記 3)で作製した ES 細胞から個体発生を行い、子孫伝達可能な系を確立

マウス胚盤胞に構築した人工染色体ベクター保持マウス ES 細胞をインジェクションし、胚盤胞を仮親に移植した。キメラマウスが人工染色体を保持することは GFP の有無にて確認した。

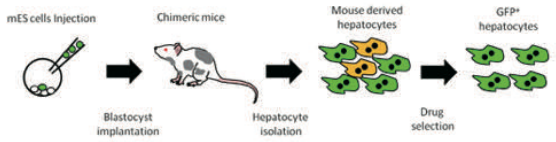



**図4　キメラマウスの作製および肝細胞単離**

### 5）機能評価

本検討課題では、導入した人工染色体のワーク確認として作製したマウスから肝細胞を単離し（図４）、被験化合物処置後、48 時間後の人工染色体に搭載した CYP プロモーターによって調節される発光タンパク質の発光量、および遺伝子発現量を定量し、各化合物間および遺伝子発現量-発光量間で比較検討した。

図５は、単離培養したキメラマウス由来肝細胞に、CYP3A を誘導することが報告されている 5 種類の薬剤を添加したときの、人工染色体に搭載された Cluc 遺伝子およびマウス内因性 cyp3a11 遺伝子の発現誘導の比較である。いずれの化合物においても、cyp3a11 遺伝子の発現誘導に伴い、Cluc 遺伝子の発現が上昇した。このことは、我々が作製した人工染色体コンストラクトは肝細胞において誘導性化合物によって特異的に惹起される代謝酵素誘導を反映できることを示唆した。

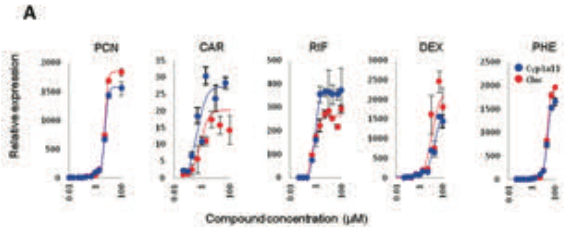



**図5　Cluc 遺伝子および cyp3a11 遺伝子の mRNA 発現比較**

次に、我々は図５で示した Cluc 遺伝子発現変化が、Cluc の発光活性にまで影響するかについて検証した。図６は、図５と同様に CYP3A を誘導することが報告されている５種類の薬剤を添加した後、Cluc 活性について評価した結果である。いずれの化合物群においても、Cluc 遺伝子発現の上昇に伴い、Cluc 活性が上昇することが認められた。以上の結果から、我々の作製した人工染色体コンストラクトは、肝細胞において化合物特異的な代謝酵素誘導をルシフェラーゼ活性にて評価することを可能にした。

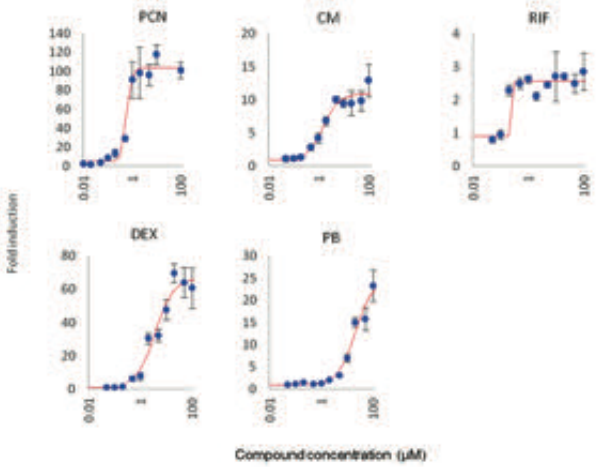



**図6　誘導剤添加時における Cluc 発光量**

## ４．まとめ

医薬品の開発には莫大な数の化合物が合成され、医薬品候補化合物として評価される。医薬品候補化合物のスクリーニングは、段階的に評価され、振い分けられる。開発後期でドロップアウトした化合物は、それまでに掛けられた研究開発費を回収不能であることから、医薬品開発の初期において、高感度で簡便に評価することが可能な試験系の確立が製薬企業から常に求められている。我々の作製した代謝酵素誘導評価系は、人工染色体を用いることで生体における遺伝子発現を極めてよく再現することを可能にした。さらに、その遺伝子発現をルシフェラーゼ活性にて評価することができたことから、ハイスループット性の高い評価を可能になった。我々が作製した本開発物を利用すれば、今後の医薬品開発の発展に、さらなる貢献ができると考えられる。

### 参考文献および発表論文

特記無し

# 好中球の NETs 成分の解析による血栓性疾患の早期検出法の開発

研究責任者　姫路獨協大学　薬学部
生化学研究室
教　授　　通山　由美

## １．はじめに

Neutrophil extracellular traps（NETs）は、好中球のクロマチンが弛緩して網状構造に変化し、病原微生物を一挙に捕捉するしくみである。抗菌顆粒と共に働くことで効果的に感染の拡大を防御する。一方で近年、NETs 成分により血小板が活性化して血小板血栓を形成し、脳梗塞や心筋梗塞などの重篤な血栓症を誘発することが、新たな病態として注目されている [1), 2)]（図１）。血栓症は、しばしば生命に関わる深刻な状態をもたらすが、早期診断法は未だ確立されていない。血液検査として、血液凝固因子であるフィブリン分解産物の検出法が利用されているが、治療のモニターとしての役割が大きく、有効な早期診断法の確立が切望されている。そこで本研究では、好中球の NETs に着目して、新しい視点から血栓症の早期検出法の開発に取り組んだ。

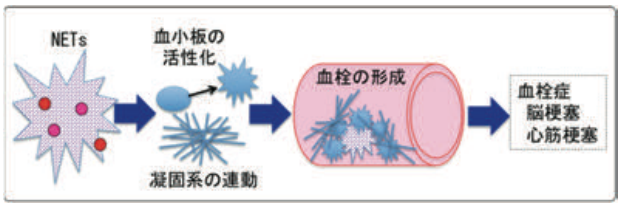



図１　NETs により誘発される血栓症

## ２．内容

好中球の NETs を起点とする血栓症の早期診断法を開発するために、NETs 形成プロセスにおけるタンパク質の翻訳後修飾の変化に着目した。具体的には、質量分析法を活用して、NETs 形成の各段階で有意に変動するタンパク質の翻訳後修飾を探索した。得られた結果より、NETs 形成に特異的な翻訳後修飾を含むタンパク質を標的として変異型（ノックアウト）好中球モデルを作成して NETs 形成への影響を検証するとともに、当該モデルを利用して、血小板を活性化する NETs 特異的な成分、および炎症を惹起する NETs 成分の探索に取り組んだ。具体的な方法については、以下の 1)、2)に記す。

1)　NETs 形成過程に特異的なタンパク質の翻訳後修飾の同定：ヒト好中球を用いた NETs 形成の誘導は、以前、研究責任者らが報告した方法でおこなった [3)]。この方法では、好中球刺激（NETs 誘導試薬 PMA、またはカンジダ菌の添加）により核の分葉構造が消失し、その後、①核内クロマチンが徐々に弛緩して、ヒストンに巻きついた核酸 DNA がほどけ、さらに、②核膜が崩壊して核酸 DNA と細胞質成分が混じりあい、③最終的に細胞膜も崩壊して NETs として細胞外に放出される（図２）。NETs 形成に特異的な翻訳後修飾を見

いだすため、上記各段階(①～③)のサンプルについて網羅的質量分析（iTRAQ®法を利用）を行い、NETs 形成過程で有意に変動する翻訳後修飾を含むタンパク質を探索した。探索の結果、複数の候補タンパク質を見いだし、その中の３種類については、すでにノックアウト型好中球モデルを作成して、その影響を解析中である。その他の候補タンパク質についても、順次、変異型好中球モデルの作成に取り組んでいる。

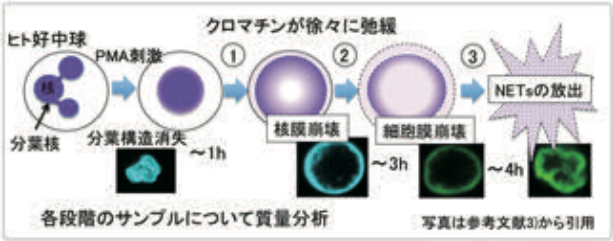



**図2　NETs 形成に特異的な翻訳後修飾の探索**

2) 変異型好中球モデルを用いた検討：１)で見いだした複数の候補タンパク質の中で、3 種類（Protein S100-A8、 S100-A9、チロシンキナーゼ、Syk）については、遺伝子編集技術（CRISPR/Cas9）を活用して、ノックアウト型好中球モデル（好中球様に分化できるヒト白血病細胞株 HL60 を利用)を作成した。作成した好中球モデルを利用して、NETs 形成プロセスへの影響、NETs 形成に関連して食作用依存性の活性酸素の産生能を解析した。さらに、血小板凝集、および炎症を惹起するマクロファージの活性化への影響についても解析をおこなった。加えて、その他の候補タンパク質２種類(PDIA1、Rab27A)について、現在ノックアウト型 好中球モデルを作成中である。

## ３．成果

1)　NETs 形成過程において特異的に変動するタンパク質の翻訳後修飾の同定：各段階でおこる翻訳後修飾を解析するため、ヒト好中球を精製して、未刺激時および PMA 刺激後１、２、３時間のサンプルについて、iTRAQ[R] 法による網羅的質量分析をおこない、その結果を相対定量解析して NETs 形成過程で有意に変動する候補タンパク質を探索した。刺激２時間後には、クロマチンの基本構造である核酸 DNA とヒストンタンパク質の結合が緩んでいると判断し、2 時間後に未刺激時と比して 20 倍以上の増加が認められるペプチド（アミノ酸の翻訳後修飾を含む）を検索した。その結果、15 種類のタンパク質断片として 100 種類余のペプチドを見いだした。見いだしたタンパク質のうち、4 種類が細胞骨格タンパク質であるアクチンおよびアクチン結合タンパク質であった。NETs 形成時の急速な形態変化に関与すると考えられる。細胞骨格系タンパク質の NETs 形成への関与については、蛍光標識等の可視的な方法でさらに検討する。それ以外のタンパク質の中でも、4 種類が、EF ハンド型カルシウム結合ドメインを持つ S100 タンパク質ファミリー群であった。その中で、特に顕著な増加が認められた Protein S100-A8 および S100-A9 について、ノックアウト型好中球モデルを作成した。さらに、タンパク質の折りたたみに関わる酵素群に着目して解析したところ、Protein Disulfide Isomerase (PDI)ファミリータンパク質の保存されたシステイン残基のチオメチル化が、NETs 形成刺激により有意に増加していることを見いだした。加えて、NETs 形成刺激により、種々のタンパク質のチロシンリン酸化に変化が認められることを確認した。また、クロマチンの弛緩に直接的に関わる化学反応を見出すため、核内の塩基性タンパク質であるヒストンに注目した解析もおこなった。コアヒストンの H2A、H2B、H3、およびリンカーヒストンであるヒストン H1 において、これまで報告されていないアミノ酸の翻訳後修飾を見出した。NETs 形成における意義について検討中である。

2)　ノックアウト(KO)型好中球モデルの作成と解析：NETs 形成過程において、翻訳後修飾が特異的に変動するタンパク質の候補分子として見いだした ProteinS100-A8 と S100-A9 について、

遺伝子編集技術（CRISPR/Cas9 を利用）を活用して、ノックアウト型好中球モデル(HL60 細胞)を作製した（図３）。

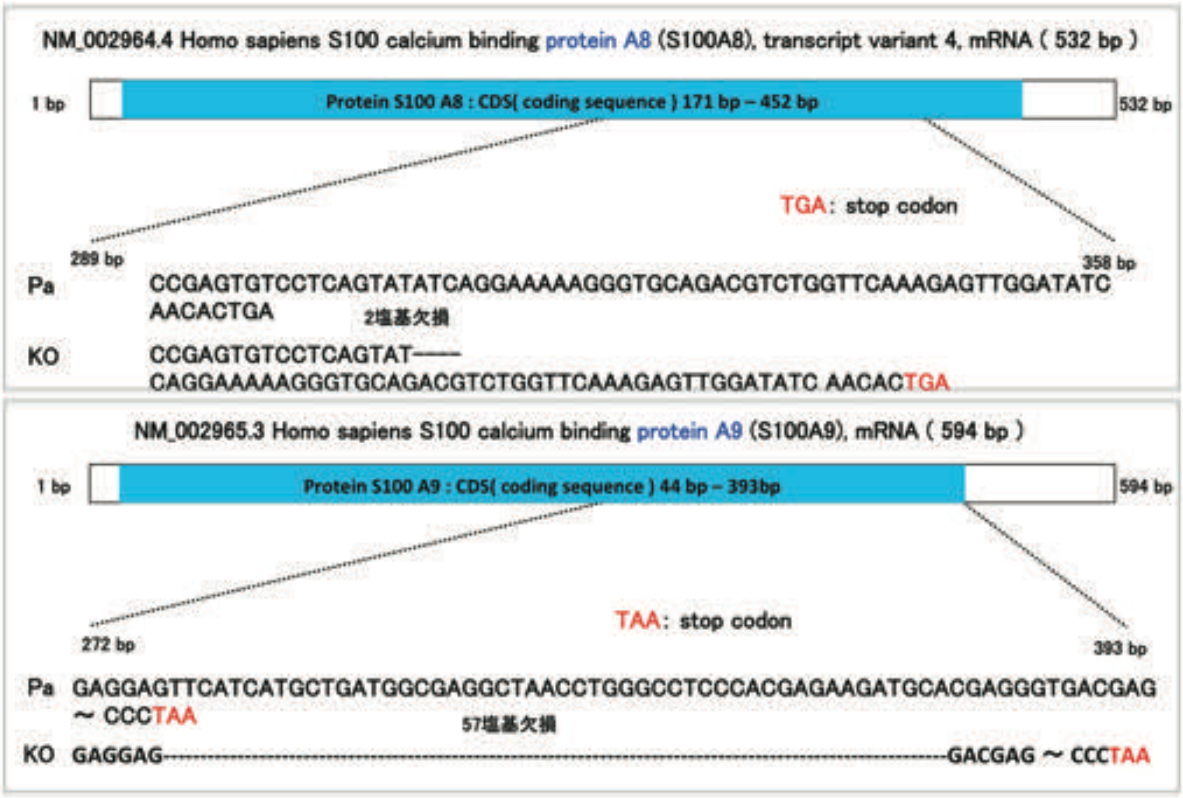



図3　S100-A8、-A9 ノックアウト細胞の樹立

ProteinS100 ファミリータンパク質は、2 個の EF ハンドを有するカルシウム結合型タンパク質である。S100-A8 と S100-A9 は、ともに顆粒球と単球に豊富に存在しておりヘテロ二量体を形成することが報告されている。さらに、S100-A8 と S100-A9 は、炎症を伴う様々な病態において血中濃度が上昇すると報告されているが、そのメカニズムと機能は明らかにされていない。HL60 細胞は、all-trans retinoic acid (ATRA)刺激により、好中球様に分化誘導して用いた。ウエスタンブロッティング法で解析したところ、ProteinS100-A8、S100-A9 は、共に分化前の HL60 細胞では発現を確認できなかったが、ATRA 刺激後、好中球様の分化に伴い、徐々に発現量の増加が認められた（図４）。

ProteinS100-A8 のノックアウト型 HL60 細胞では、S100-A9 の発現も抑制されていたが、100-A9 のノックアウトによる S100-A8 発現への影響は認められず、S100-A9 の発現誘導に S100-A8 が関与すること示唆された（図５）。

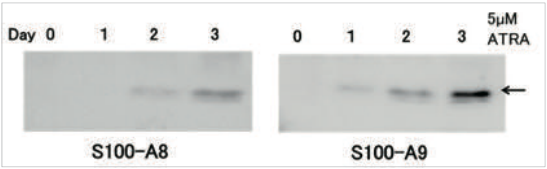



図4　ATRA 分化による S100-A8、-A9 の発現誘導

図5　S100-A8KO による-A9 の発現抑制

作製した Protein S100-A8 および S100-A9 のノックアウト型 HL60 細胞（ATRA 分化後）を用いて、補体を介した食作用をおこなわせたところ、貪食量、および貪食時における活性酸素の産生量については、共に野生型 HL60 と有意な差は認められなかった。次に、人工的な NETs 誘導試薬である PMA で刺激して、NETs 形成プロセスへの影響を解析した。2 種類の核酸結合蛍光試薬（細胞膜透過型の Hoechst33342 と非透過型の Sytox Green）共存下、共焦点レーザー顕微鏡によるバイオイメージングシステムを利用して、進行状況を追跡した。S100-A8 のノックアウト細胞では、PMA 刺激 3 時間後、核膜と細胞膜が崩壊し、クロマチンが放出される状態にある細胞の割合(細胞膜非透過型の核酸結合蛍光試薬である Sytox Green と DNA が結合）が、野生型 HL60 細胞に比べて顕著に増加していた(図６)。一方、S100-A9 のノックアウト細胞では有意な差は認められなかった。さらに、NETs 形成マーカーとして報告されているヒストン H3 のシトルリン化についてもウエスタンブロッティングで解析したところ、S100-A8 のノックアウト細胞ではシトルリン化の亢進が確認された。これらの結果より、Protein S100-A8 が、NETs 形成プロセス進行を制御していることが示唆された。今後は、S100-A8 による NETs 形成制御のメカニズム、および NETs 形成で放出された Protein S100-A8、S100-A9 の炎症への寄与についてさらに検討する。チロシンリン酸化については、以前より研究責任者らが好中球の機能に関与することを報告してきたチロシンキナーゼ Syk についてノックアウト型 HL60 細胞を作成して解析している。好中球およびマクロファージの食作用とその後のファゴゾームの pH の変化に重要な役割を果たすことを見いだしたが、NETs 形成プロセスへの寄与については未だ検討中である。さらに、NETs 形成プロセスで、システイン残基のチオメチル化が確認された Protein Disulfide Isomerase (PDI)ファミリータンパク質についてもノックアウト型好中球モデルを作成して、NETs 形成プロセスへの影響について検討中である。

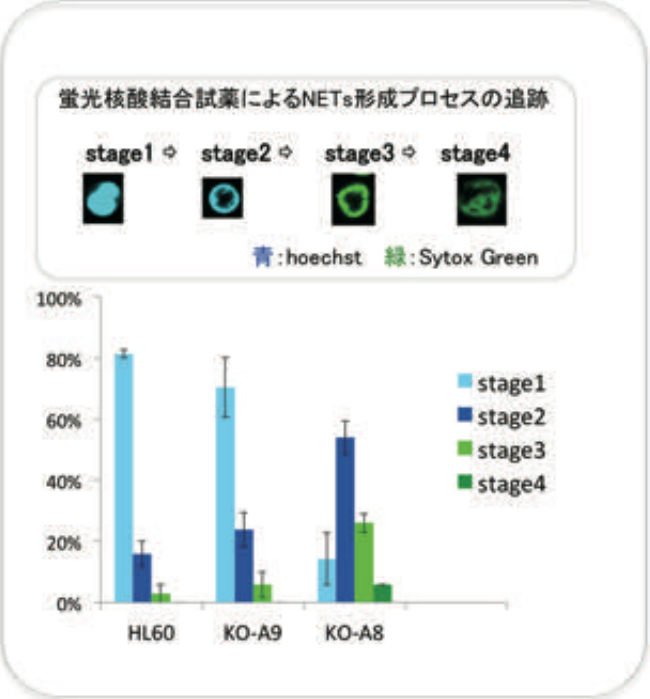



図6　S100-A8KO による NETs 形成への影響

## ４．まとめ

好中球の NETs 形成に必須のタンパク質の翻訳後修飾を探索した結果、NETs 形成に特異的な翻訳後修飾を含むタンパク質を複数見いだした。これらの一部については、すでに変異型（ノックアウト）好中球モデルを作成して NETs 形成への影響を定量的に検証している。今後も引き続き、これら標的分子の変異型好中球モデルを作成して NETs 形成プロセスへの影響を解析するとともに、血小板を活性化する NETs 特異的ペプチドの探索をおこなう。血小板を活性化する NETs 特異的ペプチドを抗原として抗体を作成して、血栓症の早期診断法の開発に繋ぐ。

## 謝辞

本研究は、公益財団法人中谷医工計測技術振興財団からの研究助成によりおこなわれたものであり、ここに深く感謝申し上げます。

## 参考文献


1) Sørensen OE, Borregaard N. Neutrophil extracellular traps-the dark side of neutrophils. J Clin Invest. 126(5):1612-1620. 2016

2) Jorch SK, Kubes P. An emerging role for neutrophil extracellular traps in noninfectious disease. Nat Med. 23(3):279-287. 2017

3) Kawakami T, He J, Morita H, Yokoyama K, Kaji H, Tanaka C, Suemori S, Tohyama K, Tohyama Y. Rab27a is essential for the formation of neutrophil extracellular traps (NETs) in neutrophil-like differentiated HL60 cells *PLoS One* 9(1): e84704 (doi: 10.1371/journal.pone.0084704.), 2014


## 発表成果

1) 杉谷朋美，森田寛之，田畑裕幸，通山由美　好中球の Neutrophil Extracellular Traps (NETs)形成機構に関わる新規シグナル分子の解析　第67回日本薬学会近畿支部大会（兵庫医療大学，2017.10.14）ポスター賞受賞！

2) 田畑裕幸，森田寛之，通山由美　チロシンキナーゼ Syk によるファゴソームの酸性化と殺菌能の調節　第90回日本生化学会大会　（神戸ポートアイランド，2017.12.6-9）

# 改良 FRET プローブを利用した、次世代細胞張力計測技術の開発

研究責任者　東京大学　大学院総合文化研究科
広域科学専攻生命環境科学系
教　授　　道上　達男

## 1．はじめに

動物の初期胚は、形態形成を経てより複雑な形状へと変化する。複雑な三次元構造を構築するためには、多数の細胞群が互いに相互作用し協調的に運動することが必要である。このような動きを厳密に制御するためには、細胞骨格の密度や膜との結合状態を変化させ、細胞形状や細胞の硬さといった物理的特性を細胞種ごとに規定し、経時変化させることが重要である。このような動きは、細胞張力の変化に反映される。幹細胞工学において未だ課題の多い、三次元構造を有する臓器・器官の形状を正しく構築するためには、組織変形が生じる細胞張力を経時的に計測し、細胞張力の制御系に資することが必要と思われる。

これまでは、原子間力顕微鏡下で細胞をカンチレバーで押しつけ移動度を測定したり、レーザー破砕した細胞膜の経時変化観察から細胞張力を測定する方法がとられていた[1]が、侵襲的であったり、計測細胞数が少ないデメリットがある。近年、FRET 現象を利用した張力センサーが開発された[2]。この方法の特徴は、細胞にかかる張力を非侵襲的に、FRET 光の強弱で測定することが可能な点であり、培養細胞を用いた様々な報告がある。しかし、これまで組織全体を FRET プローブで同時に測定できたという報告はほとんどなかった。2016 年、我々は既存のプローブを改良したプローブ(ActTS-GR)を構築し、アフリカツメガエル原腸胚～神経胚の細胞それぞれにかかる張力を非侵襲的にモニタリングすることに成功した（図１）[3]。しかしながら、いくつかの改善点は残っている。例えば、プローブの感度の問題や、共通性、すなわち複数種のプローブで同じ結果（＝張力の強弱）が得られるかどうかという問題、

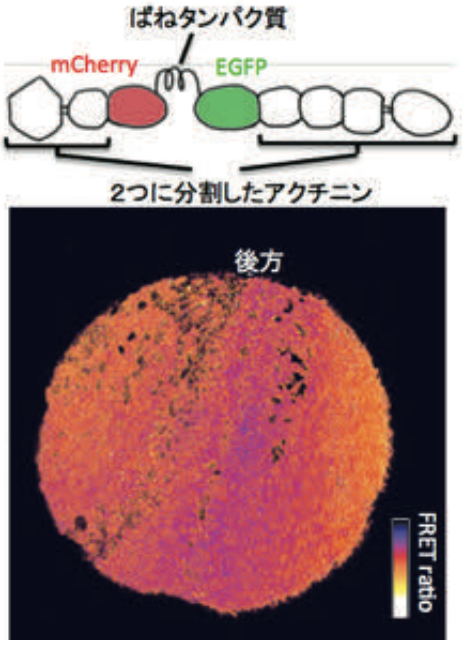



図１（上）ActTS-GR の構造。
（下）導入胚での張力実測。
青いほど FRET 値が低く、
張力が強いことを示す。

逆に、当申請者に限らず、これまでに報告されてきたほとんどのプローブが接着結合・接着斑というアクチン結合性のタンパク質を用いたものであり[4]、実際に測定する張力の種類が限定される問題もある。また、これまで開発された張力プローブに資されている FRET ペアは限られており、複数の使用は不可である点がある。更には、単なる張力計測だけでは細胞にかかる張力の方向が分からず、他の要素から張力を推定する必要もある。

## ２．内容

以上の問題を解決するため、以下の項目について研究を行った。①まず、他のタンパク質モチーフを何種類か試し、張力計測の感度の向上を目指すとともに、アクチン結合タンパク質以外のタンパク質モチーフを用いることで、違った張力計測の可能性を探る。②２種類のプローブが同時に利用可能になることで、別の結合タンパク質モチーフが利用可能となり、張力の２次元記述が可能になる。そこで、既存の mTFP-Venus, EGFP-mCherry に加え、更に長波長側の FRET 蛍光タンパク質ペアを探る。③更に、次世代張力計測法の確立に向け、細胞形状プロファイリング法と、それと細胞張力との関係の検証を行った。

## ３．成果

### ① 他のタンパク質モチーフを用いた改良 FRET プローブの開発

#### (1) Lima1 プローブの開発

これまでに我々が開発したプローブはアクチニンを用いたものだけであった。プローブの細胞内局在などから、接着結合に局在して張力を計測できることは期待されたが、他のプローブを用いた検証はその妥当性の評価から必須であった。そこで、同じく接着結合に参加するタンパク質として知られる Lima1(EPLIN)[4]を使った張力プローブを作製した。Lima1 はαカテニン、アクチンに結合するタンパク質として見出されたタンパク質であり、アクチニンとは異なり恐らくは接着結合のみに結合することが示唆されている（図２）。そこで、Lima1 のアクチン結合ドメイン、αカテニン結合ドメインの間に FRET カセットを挿入して新規 FRET 張力プローブ、LimaTS-GR を作製した（図２）。

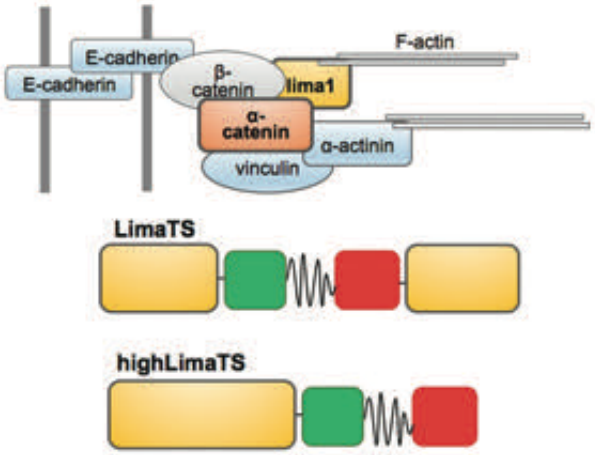



図　２(上)接着結合を構成するタンパク質。
(下)LimaTS、及びコントロールプローブである highLimaTS-GR の模式図。α カテニン、F-アクチンが結合するドメインを持つ。

まず、このプローブの評価のため LimaTS-GR を培養細胞である HEK293 株に導入した上で、薬剤処理による張力緩和時、更には低張液曝露による張力増加時における FRET 値変動を調べた。その結果、予想通り、すなわち張力緩和時の FRET 値の増加、張力増加時の FRET 値の減少を観察することができた（図３）。

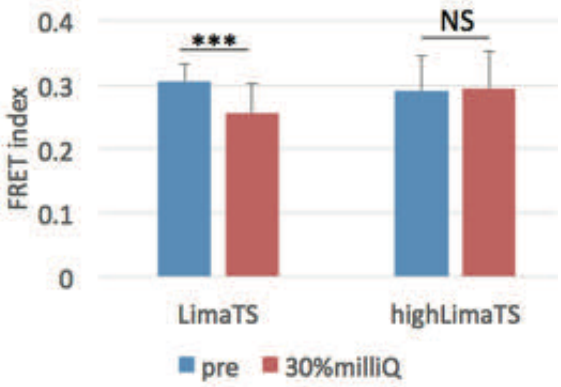



図３　培養細胞による、LimaTS-GR のバリデーション。LimaTS 導入細胞を低張液に晒すと FRET 値が低下するが、コントロールプローブである highLimaTS-GR 導入細胞では変化しない。

次に、本プローブをツメガエル胚に微量注入し、神経胚期における FRET を調べたところ、ActTS-GR で得られた結果と同様、神経外胚葉で FRET 値が低く表皮外胚葉で FRET 値が高い、すなわち前者で張力が高く後者で張力が低いというデータを得た（図４）。

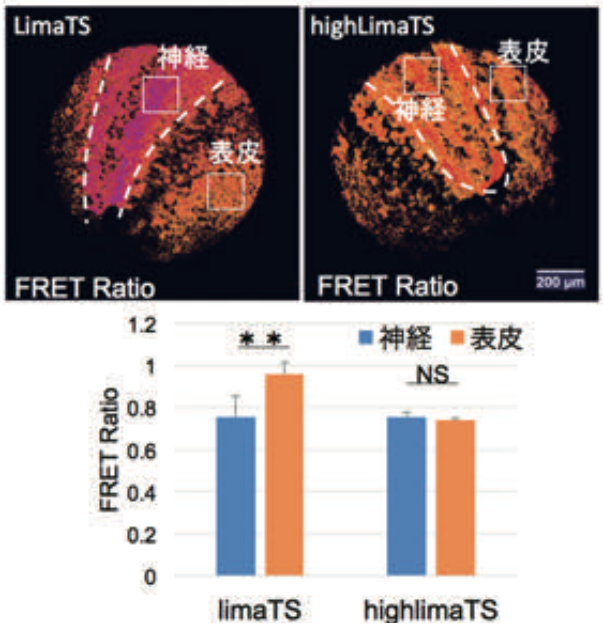



**図4　LimaTS 及び highLimaTS-GR 導入胚による細胞張力の計測。LimaTS では神経での FRETratio が小さい、すなわち張力が強く加わっている。一方、highLimaTS では神経・表皮間で違いが見られない。**

この結果は、単純に新しいプローブで同様の結果を得たこと以上に、２種類の異なる FRET 張力プローブで同じ結果を得たことによる、神経−表皮外胚葉での張力の違いの妥当性を得たという点、もう一つは ActTS-GR よりも若干であるが両者の差が大きく観察できたという２点において極めて意義深い。

本研究の成果は論文にまとめ、現在投稿中である。

### (2)　微小管結合タンパク質を用いた新しい張力プローブの開発

細胞内における細胞骨格の配向は一般に、アクチンは細胞膜に対して平行である一方、微小管は細胞膜－核（正確には中心体）の方向に配向している。そのため、微小管結合タンパク質（特にプラス端結合タンパク質、いわゆる+TIPs）を用いた FRET プローブを作製することで、これまでとは違うパターンの張力を計測出来るのではと期待した。そこで、本研究では、+TIPs の一つである CLASP タンパク質を用いて FRET プローブを作製することを試みた（図５上）。CLASP タンパク質は約 1500 アミノ酸から構成されており、微小管や他の微小管結合タンパク質、そして細胞膜に結合するドメインを有する [5]。そこで、微小管結合ドメインと細胞膜結合ドメインの間に FRET カセットを挿入して ClaspTS-GR を作製した（図５下）。

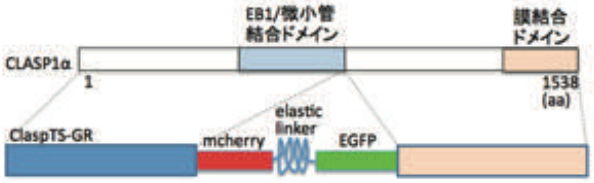



**図5　微小管結合タンパク質 CLASP1 の構造（上）と張力プローブ ClaspTS-GR（下）**

このプローブを胚に微量注入し、原腸胚期に FRET シグナルを観察したところ、明らかに ActTS-GR や LimaTS-GR の FRET シグナルとは異なるパターンを得た（図６）。

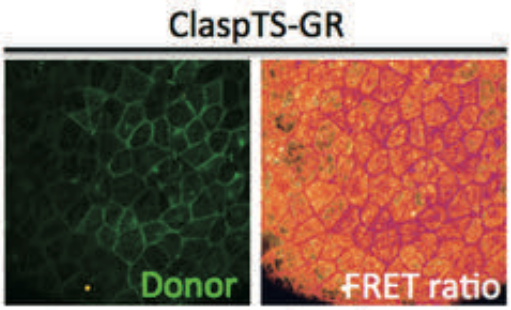



**図6　ClaspTS-GR 注入胚のドナー蛍光と FRET 値。アクチン結合タンパク質を用いたプローブのパターンと異なる結果を得た。**

以上の結果は、細胞内におけるクチン系とは異なる方向の張力の計測が可能であることを期待させるものである。

② mPlum-iRFP670 を用いた新規 FRET プローブ開発

これまで赤外波長側の蛍光タンパク質はそれほど多く存在していない。最近、iRFP670 という励起波長が Cy5 と同程度の蛍光タンパク質が利用可能となったことから、本タンパク質の有効性を検討するため、iRFP670 とアクチンを連結した Actin-iRFP670 コンストラクトを作製し、胚に注入して蛍光による局在観察を行った。その結果、640nm 励起によって、予想されるようなアクチンの局在を観察することができた（図７）。

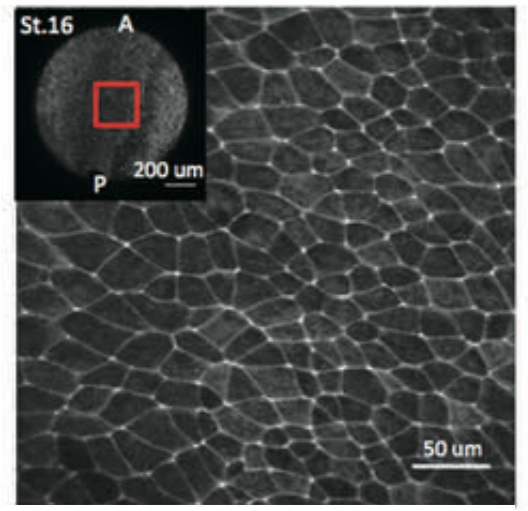



**図7　iRFP670-Actin の蛍光画像。予想通りリツメガエル胚において外胚葉細胞の膜に局在する像が見られ、iRFP670 の有効性が確認できた。**

残念ながら時間の関係により mPlum(あるいは mCherry)- iRFP670 を用いた新規 FRET 用蛍光ペアを検討することは出来なかったが、今後は早い段階でこの蛍光ペアによる FRET 効率を検討した上で、①(2)で触れた CLASP タンパク質を用いた新規 FRET 張力プローブを作製したい。また、これを用い、GFP-mcherry 系の ActTS-GR と同時注入することによって複数方向の細胞張力の同時計測を行いたい。

③ 次世代張力計測法にむけて：細胞形状から細胞の張力を推定する方法の改良

(1)　細胞形状データの取得と細胞形状プロファイリング法の確立

ツメガエル胚は原腸胚期から神経胚期の間に原腸形成という大きな形態形成運動を引き起こし、胚の形状が大きく変形する。特に、胚の外表からなかに潜り込む中胚葉領域は、細胞運動・組織変形のメカニズムがこれまで広く研究されてきた。陥入した中胚葉から分泌された神経誘導シグナルに従って、中胚葉と接触した外表面にある外胚葉組織に「神経領域」が誘導される。脳や末梢神経など我々の神経組織の全ては最初この領域から発出する。

前述したように、我々の研究成果より、神経領域と非神経領域で細胞にかかる張力が異なっているという研究データを得ている。そのような環境下において、それぞれの外胚葉細胞にかかる張力は、細胞形状の変形に反映されることが期待される。そこで、次世代張力計測法の実現に向けて、細胞形状情報の取り込みは、より正確な張力の強弱の記述において重要であると考えられる。

そこで我々は、ツメガエル胚に膜結合性 GFP (mGFP)を注入し、原腸胚～神経胚期において蛍光画像を取得することで、細胞形状データを取得した。更に、このビットマップデータを、手作業と細胞分画プログラムを用いて、頂点と辺からなる多角形の線画情報に変換した。この細胞形状情報を用い、画像解析ソフトウェアを用いて表面から見た細胞の面積、細胞の縦横比、そして胚の前後軸に対する細胞の長軸角を画像全ての細胞について行った（図８）。(a)細胞面積は、原腸胚期には全体として大きな差は見出されなかったが、神経胚期になると、神経外胚葉領域と表皮外胚葉領域で明確な差、すなわち前者の面積は小さく、後者の面積は大きいという結果が得られた。一方、長短軸比については、原腸胚、神経胚それぞれで明瞭な特徴は得られなかったが、神経－表皮境界と思われる部分に位置する細胞は、多少細長い（縦横比が大きい）傾向があった。(b)細胞の長軸と胚の正中線がなす角（今後これを細胞長軸角と

呼ぶ）については興味深い結果が得られた。原腸胚期には予定神経領域、予定表皮領域間で細胞長軸角の明瞭な違いは確認できなかったが、神経胚期では両者の明瞭な違いが見られ、神経領域では

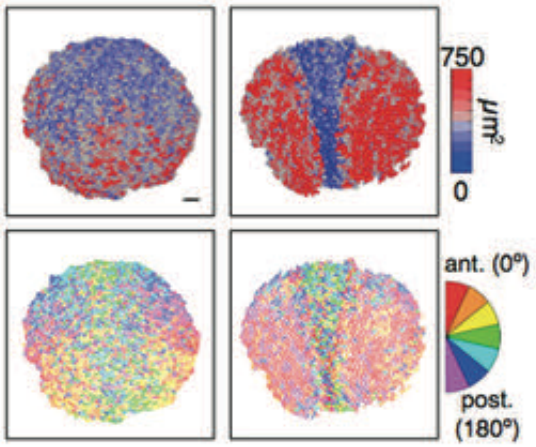



図8　ツメガエルの原腸胚・神経胚における細胞形状プロファイリング。細胞面積、細胞長軸角の時間経過による変化を示す。

細胞長軸角は胚の正中線に対して垂直に、逆に表皮領域では正中線に対して平行に向くことが分かった。この解析の新規性は、見た目では細胞はほぼ丸く、長軸角は分からないが、細胞プロファイリングを行うことで初めて上記の傾向が可視化できた点である。

次に、神経化因子を注入することで、人為的に神経領域を拡大させたツメガエル胚を用い、同様の細胞形状プロファイリングを行った。その結果、やはり神経領域の拡大に伴った細胞形状の変化、即ち面積が減少する細胞集団及び細胞長軸角が正中線に対して垂直となる細胞集団がともに拡大した（図９）。

この結果は、細胞の予定運命と細胞形状が強く相関していることを示唆する。現在は、胚の外胚葉領域のみを切り出し、伸縮チャンバーに貼り付けて一方向に伸展することで外胚葉領域を変形させた際、どのような細胞形状の変化が生じるかを解析中である。

以上の結果については、論文を作成中であり、近日投稿の予定である。

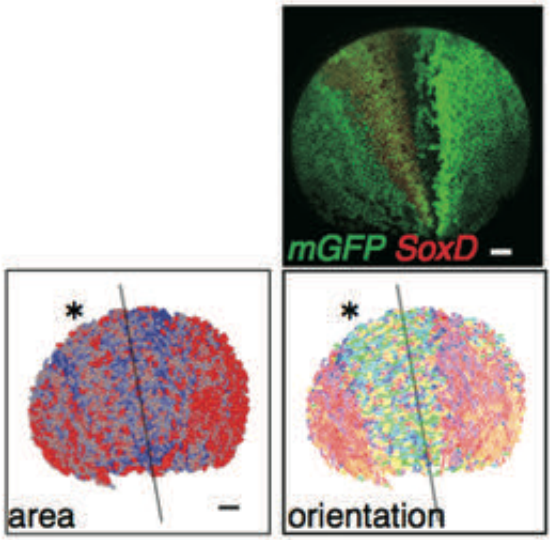



図9　SoxD 注入胚における蛍光画像と細胞形状プロファイリング。細胞面積、細胞長軸角ともに、神経領域拡大部に従った細胞形状の変化が見られた。

### (2)　細胞形状と細胞張力の関係性について

更に、細胞の形状、特に細胞のなす辺と張力プローブの FRET 値の関係を調べた。その結果、弱いながらも両者には相関関係があることが分かった（図 10）。この結果は、細胞形状プロファイリングと FRET プローブによる張力計測を融合した新しい張力計測法の確立が可能であることを示すものであり、重要な結果であろう。

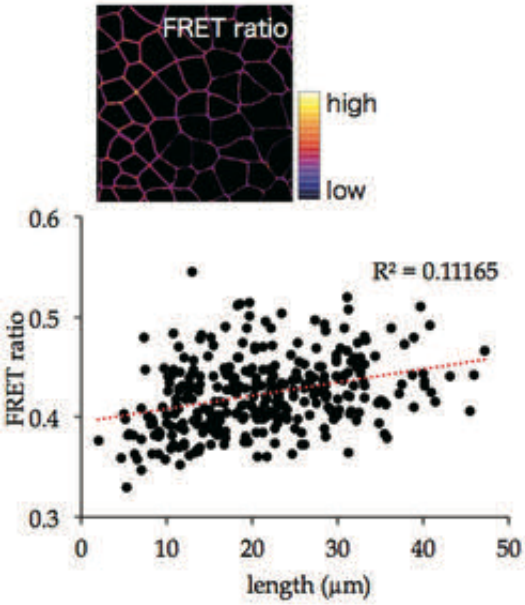



図10　XY 方向から見た細胞の１辺の長さと細胞張力との関係。辺が長ければ長いほど張力が弱まっている傾向が見られる。

## ４．まとめ

以上の結果より、外胚葉領域における細胞の張力技術に関していくつかの研究を行い、結果を得た。まず FRET 張力プローブについては、新たなプローブを２種類作製した。一つはアクチン結合タンパク質 Lima1 を用いたプローブであり、既存のアクチニンプローブと同じパターンを示しつつ感度が若干改善されたものを作ることに成功した。もう一つは微小管結合タンパク質 CLASP１を用いた全く新しい張力プローブで、実際アクチン系プローブでは見られないような張力パターンを得ることが出来た。これは結果の項でも記述したように、２種類の張力計測に向けた重要な結果であると考えられる。iRFP670 を利用した新しい蛍光タンパク質ペアを用いた FRET プローブを今後作製することで、多くの新しい情報が得られることが期待される。

もう一点は張力計測に細胞形状情報を加えた新規張力計測技術の確立についてであるが、これについても、まずは細胞形状プロファイリングによる細胞形状の時間変化を捉えることができたこと、細胞の予定運命と細胞形状に強い相関関係があることを明らかに出来た点は大きい。更に、細胞形状に関し、細胞の一辺の長さと張力に関連がありそうであるデータも極めて興味深い。実際、細胞膜の伸び縮みにはアクチン－ミオシンの収縮が大きく関係しており、結果的に張力が発生していることも想像される。その関係が張力プローブによって確認できたことで、提案書にも記載した次世代張力計測技術の確立という観点からは大きな一歩であると言える。

提案書に記載の内容については残念ながら全部を行うことが出来なかったが、特に二種類の FRET プローブを用いた多次元の張力計測系の確立、及び細胞形状情報を加味した、より複雑な張力計測技術の開発について、本課題の成果に立脚して引き続き研究を行っていく所存である。

## 謝辞

本研究の遂行にあたっては、貴財団からの研究費によるところが極めて大きかった。特に、新しい張力プローブの開発に関して、多大なるご支援をいただいたおかげで大きく研究が進展した。この場を借りて改めて　感謝申し上げたい。

## 参考文献および発表論文

1. Shawky JH and Davidson LA.(2015) Tissue mechanics and adhesion during embryo development. Dev Biol. 401:152-164.
2. Grashoff C, Hoffman BD, Brenner MD, Zhou R, Parsons M, Yang MT, McLean MA, Sligar SG, Chen CS, Ha T, Schwartz MA.(2010) Measuring mechanical tension across vinculin reveals regulation of focal adhesion dynamics. Nature. 2010 466:263-266.
3. Yamashita S, Tsuboi T, Ishinabe N, Kitaguchi T, Michiue T. (2016) Wide and high resolution tension measurement using FRET in embryo. Sci. Rep. 6: 28535.
4. Abe K, Takeichi M.(2008) EPLIN mediates linkage of the cadherin catenin complex to F-actin and stabilizes the circumferential actin belt.Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 105:13-9.
5. Mimori-Kiyosue Y, Grigoriev I, Lansbergen G, Sasaki H, Matsui C, Severin F, Galjart N, Grosveld F, Vorobjev I, Tsukita S, Akhmanova A. (2005) CLASP1 and CLASP2 bind to EB1 and regulate microtubule plus-end dynamics at the cell cortex.J. Cell. Biol. 168:141-153.

# Dynamic Culture System で培養される受精卵のシグナル伝達解析

研究責任者　岡山理科大学　工学部　生命医療工学科
マイクロ・ナノ生理学研究室
准教授　　松浦　宏治

## １．はじめに

哺乳類の体外受精卵培養は静的環境で行われており、生理的に卵管内で培養されているような受精卵移動を伴う系は少ない。これまでに、過剰なせん断応力(Shear Stress: SS)等のメカニカルストレス(Mechanical Stimuli: MS)が受精卵に負荷された場合については胚発育にとって好ましくない影響が報告されている [1)]。過度の高速回転によって発生した微小液滴内の 120 dyne/mm$^2$ に発生した SS によって、マウス胚盤胞内で MAPK のリン酸化活性シグナルによるアポトーシスが引き起こされた。その後、受精卵を上記の SS 以下で培養時に移動させることができる Dynamic Culture System (DCS)を用いた受精卵培養研究がなされている [2)-8)]。静置培養区と比較して DCS 使用区ではマウス胚盤胞到達率が有意に上昇した [2)-5)]。これらの結果から適切な MS が受精卵発育には効果的であることが示唆された。しかし、受精卵の品質や培養環境によって培養結果が異なる場合がある。また、受精卵の品質が向上した因果関係についてはまだ明らかにされていない。その結果を詳細に検討するために、従来用いられている胚盤胞到達率や胚盤胞細胞数のほかに、受精卵の品質と培養効果を評価するための指標開発を進めている。そうすると、胚盤胞到達率の評価に必要な受精卵数よりも少ない数で DCS の有効性を検証することができ、研究がさらに進むと考えられる。

上記の研究の流れにおいて、最近我々は MS 負荷して培養したマウス受精卵のライセートを作製し、次世代シーケンス解析や遺伝子マイクロアレイ分析を試みた。受精卵由来の試料解析において、マイクロアレイの活用に苦心している現状である。その理由は数個から数十個の受精卵から得られる RNA の量が他の細胞と比較して少ないためである。今回、我々は以前に得られた次世代シーケンス解析結果から着目した遺伝子発現で得られたタンパク質分析のために、マウス受精卵の蛍光免疫染色による染色を検討した（3.1)。

DCS 実験系の開発についても課題が幾つか残っている。図１中央に示すように、空気圧駆動で卵管蠕動運動を擬したマイクロ流路を用いた受精卵培養系を構築した。しかし、その実験系においては流路サイズが大きかったことから、培養液の培地量が大きくなり、そのためにパラクライン効果が期待できなくなる。そこで今回、従来用いられているマイクロドロップ程度の培養液量になるように受精卵培養容器サイズを下げる試みを行った。必要培養液量が低下した培養システム改善に関する現状について記載する（3.2)。

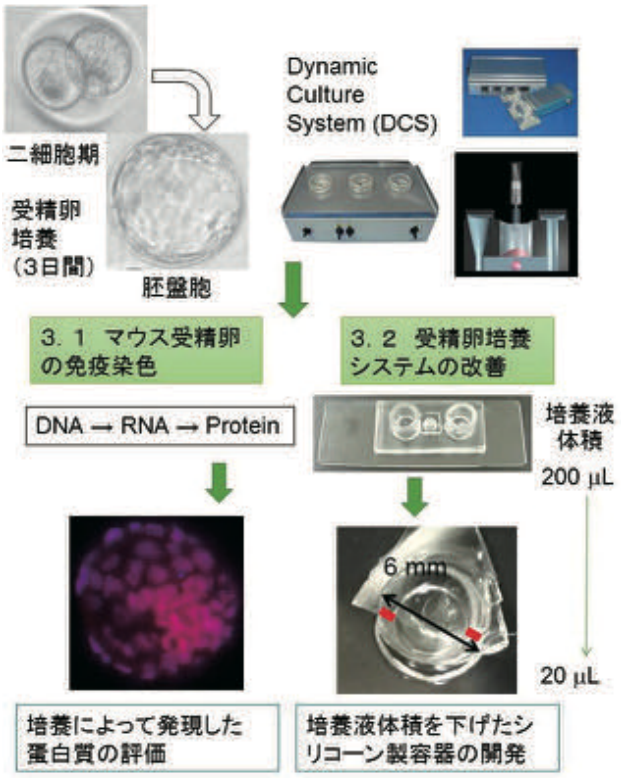



**図1 本グループの研究全体像と本研究結果の項目との対応模式図**

本研究の全体像を図１に要約する。

## ２．次世代シーケンス解析結果で得られている標的遺伝子

DCS の一つである Tilting Embryo Culture System (TECS)を用いて培養した胚発育と次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子解析結果の一部を説明する [9]。TECS 使用時に発現が増加した遺伝子の一つに *Integrin beta-7* (*Itgb7*) 遺伝子が挙げられる。この遺伝子はタンパク質 Integrin の１種をコードし、Integrin は細胞接着がベースとなって、細胞伸展、細胞移動、細胞増殖、発生における組織形成などの機能を有する。*Itgb7* 遺伝子発現は上記の細胞形成に関する機能の指標となる。胚発育が進むにつれ胚内細胞間相互作用が高まると想定されることから、この遺伝子に我々は着目して、発現した当タンパク質の蛍光免疫染色によって受精卵の評価が可能か検討した。

## ３．実験方法

### 3.1 マウス受精卵の蛍光免疫染色

静置培養または TECS を用いて培養した後の胚盤胞を取り出し、それらをインキュベーションチャンバー内のカバーガラス上に移し、4%パラホルムアルデヒドを加えて 30 分間室温で受精卵の固定を行った。その後、リン酸緩衝液（PBS⁻）を用いて３回洗浄し、0.2% Triton/PBS⁻内に受精卵を移し５分間室温に置き、PBS⁻を用いて３回洗浄した。次に、1: 10 Blocking One/ PBS⁻内で 30 分間室温で処理した。その後、1: 20 Blocking One/ PBS-内で ITGB7 一次抗体（11328-1-AP: コスモ・バイオ株式会社）を 100 倍希釈して添加し、一晩 4℃で置いた。次に、PBS⁻を用いて３回洗浄し、1: 20 Blocking One/ PBS⁻を用い 100 倍希釈した２次抗体 Alexa Fluor® 488 Goat Anti-Rabbit IgG (H+L) Antibody（A-11008: Life Technologies）を１時間室温に置き、そして PBS⁻を用いて３回洗浄後に、退色防止剤入りの核染色用色素 DAPI 溶液を添加し、染色後の受精卵を封入した。蛍光顕微鏡を用いて染色状態を確認した。

### 3.2 受精卵培養システムの改善

卵管蠕動を模したデバイスを用いて、様々な値の SS を負荷できるような培養系構築を進めており、以前はマイクロ流路内で受精卵を培養していた。しかし、マイクロ流路を用いた場合の体積(200-300 μL)が通常受精卵培養の際の体積(20-50 μL)の４、５倍程度であり、複数受精卵培養によるパラクライン効果が期待できなくなる短所があった。そこで、従来法のマイクロドロップと同程度の体積になるような培養容器を開発した。

図２A のように一軸アクチュエータでプラスチックシリンジを駆動し、その空気圧の変化で受精卵培養液を移動させながら培養する蠕動モデル培養系のダウンサイジングを行った。培養容器はシリコーンエラストマーとポリプロピレン製のチューブを用いて試作した（図２B)。今回開発したデバイスでは、図２C の青色線で示すシリコー

ン薄膜の下側にある液体部分の体積を減少させて、通常の胚培養で用いられている 35 mm シャーレ内に培養部位を設定することで、従来のマイクロドロップ培養と同じ感覚で使用するデザインである。シリコーン薄膜の駆動メカニズムを図２C に示す。プラスチックシリンジの駆動によって空気圧を変化させ、当薄膜を上下させることにより、培養液と受精卵双方を移動させる仕組みである。35 mm シャーレのみをインキュベータ内に入れて培養に用いる形となる。

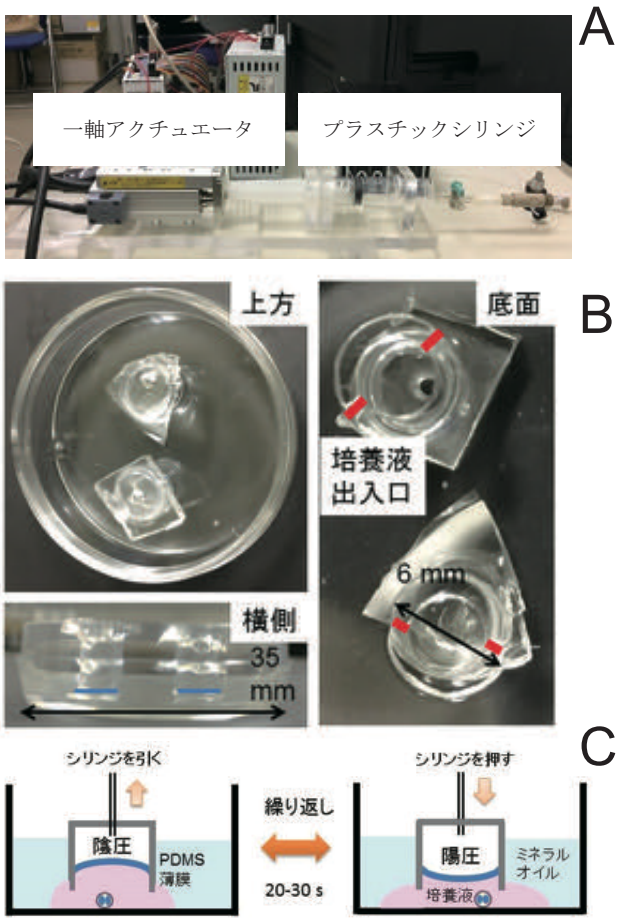



**図2　培養容器の検討と培地移動メカニズム**
**A:空気圧を用いて蠕動運動を模したシリコーン薄膜駆動系　B:今回開発したシリコーン製培養容器の写真　C:シリコーン薄膜の駆動と受精卵移動メカニズムの模式図**

培養液とマウス受精卵双方の移動を蛍光顕微鏡下で確認した。Cell Tracker Red (Invitrogen) で蛍光染色したマウス受精卵と蛍光ビーズ(Flow Orange: Invitrogen)を入れて受精卵と流体の運動を観察した。露光時間は 0.5 秒に設定した。

図２に示すシャーレ内の容器を $CO_2$ インキュベータに入れて培養する方法のほかに、顕微鏡ステージインキュベータを用いて培養する系がある。凍結融解したマウス受精卵を容器内に入れる検討を行った。

## ４．実験結果

### 4.1　マウス受精卵の蛍光免疫染色結果

静置培養時の胚盤胞(図３A)においては、スポット状の傾向シグナルが観察されたことから ITGB7 が局在している部分があると言える。TECS 培養で得られた胚盤胞では同様にスポットが観察されたが、胚盤胞内の将来体を構成する内部細胞塊(ICM)（図３の白丸部分）において ITGB7 がより非局在化していた。遺伝子解析結果からは、*Itgb7* 遺伝子の mRNA の転写物の長さなどを補正した発現量(FPKM 値)が静置培養と比較し約 1.45 倍高い値であった。また、TECS では胚盤胞内の ICM 由来の遺伝子発現が活性化していた。これらの結果から、ICM での遺伝子発現活性化とともに ITGB7 の非局在化が進むことは胚盤胞発育と関係すると想定される。他のタンパク質についても蛍光免疫染色を検討したが、現時点では明確な違いを見いだせていない段階である。

### 4.2　受精卵培養システムの改善

図４に蛍光顕微鏡を用いた受精卵移動と培地移動を示す。シリコーン膜の運動に由来する流体移動に伴い、受精卵が 0.1 mm/s 程度で移動した様子を観察した。この際の受精卵は培養液の流れに沿って移動していた。流体の移動速度はシリンジの移動速度・内圧にほぼ相関していることが分かっている [7]。そのため、シリンジの移動速度を変化させれば受精卵の移動速度を変えることができる。

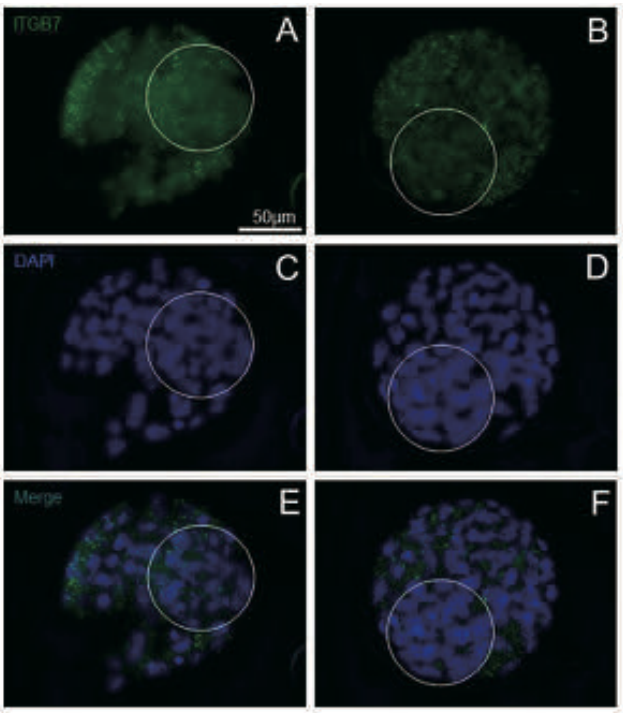



**図3　マウス胚盤胞の蛍光免疫染色像　A、B:マウス胚盤胞における ITGB7 一次抗体-二次抗体由来の蛍光像　C、D:DAPI 由来の蛍光像（胚盤胞内の核を示す。）A、C は静置培養で、B、D は TECS を用いて培養した際の胚盤胞である。 E:A と C を重ね合わせた像　F:BとDを重ね合わせた像　白丸部分はICMを示す。スケールバーは 50 μm である。**

培養系の改善による特筆すべき利点を一つ見出した。35 mm シャーレの底面に複数のデバイスを設置することができるために、シリコーン薄膜を駆動したデバイスとそうでないデバイスを同時に培養することができ、同じ環境でシリコーン薄膜の駆動、すなわち受精卵移動の効果を容易に検証することができる仕様になった。

凍結融解したマウス受精卵を容器内に入れる検討を行うにあたって、シリコーン製の流路内に培養液を入れた後、ミネラルオイルでその培養液を覆い、数時間以上培養液を平衡化させた。しかし、その際にミネラルオイルがシリコーン製の容器とポリスチレン製のシャーレの内部に濡れて、容器のシャーレへの接着力が低下する問題があった。容器の貼り合わせ方や材料の組み合わせを工夫すればこの問題が解決できると考えている。

上記の結果より、20-50 μL の液滴内に流れを発生できる受精卵培養システムを構築し、ミネラルオイルで被覆した従来のマイクロドロップ培養系にシリコーン薄膜の運動に伴う流体移動が可能になった。

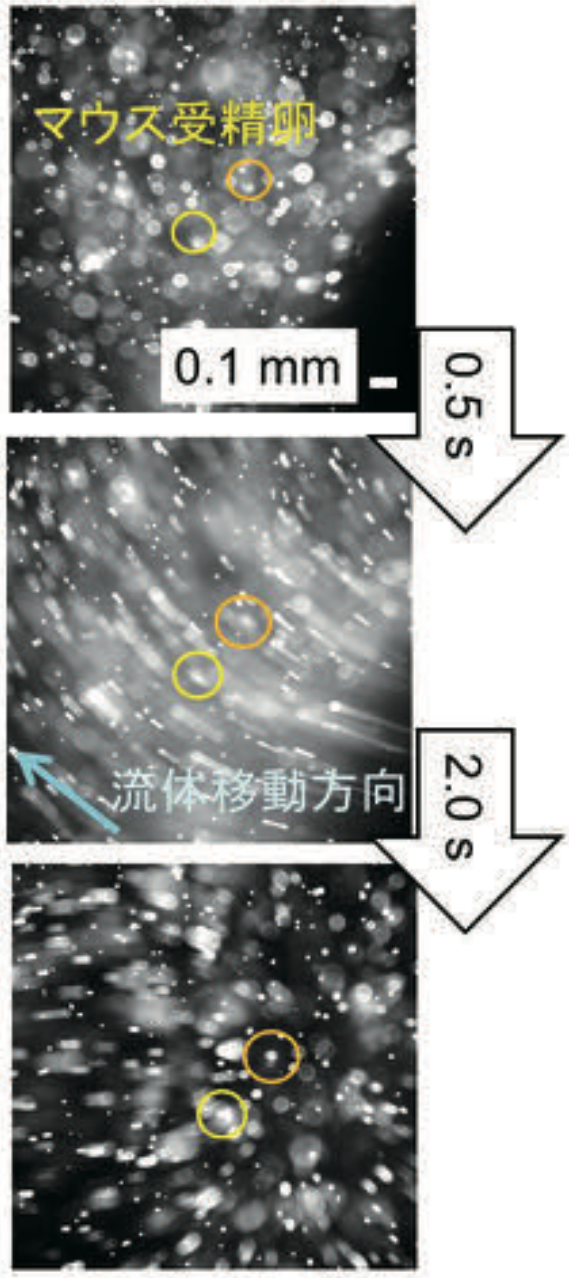



**図4　蛍光顕微鏡を用いた受精卵移動と培地移動の確認　露光時間は 0.5 s であり、蛍光ビーズの軌跡は 0.5 s 間の培養液移動を示す。スケールバーは 0.1 mm である。**

## ５．まとめと今後の展望

（3.1）蛍光免疫染色の結果により、胚発育が進むにつれて細胞間の接着が促進され、組織形成の発展につながっていくだろうと考えられる。臨床現場における胚盤胞の品質評価にあたっては形態的観察で良いが、そのタンパク質レベルでの１評価としては、Integrin の可視化は有効であると考えている。この結果から想定される DCS の効果は胚発育の促進であり、遺伝子発現の変化に影響が及んだという結果と本結果は対応している。本蛍光免疫染色実験については、形態観察による胚盤胞到達率で評価するよりは、より少ない標本数で発育の指標として活用できそうである。

（3.2）で開発した容器を含む DCS を用いることによって、培養時の蛍光顕微観察から受精卵の応答を継続的に蛍光顕微観察できる可能性がある。現時点では、技術的な課題が幾つか存在するが、本システムを受精卵培養に適用する計画である。

DCS とその受精卵評価方法の最適化をさらに進めて、優良家畜の増産や不妊治療の効果を高めることを目指している。

## 謝辞

本研究は、公益財団法人中谷医工計測技術振興財団の平成 28 年度開発研究助成の支援を受けて行われました。本研究の一部は補助研究員　浅野友香　様にサポート頂きました。ここに深く感謝申し上げます。

## 参考文献

1)Xie Y, Wang Y, Zhong W, Puscheck E, Shen H, Rappolee DA, Biol. Reprod. 75: 45-55, 2006.

2)Matsuura K, Hayashi N, Kuroda Y, Takiue C, Hirata R, Takenami M, Aoi Y, Yoshioka N, Habara T, Mukaida T, Naruse K RBM Online. 20: 358-364, 2010.

3)Koike T, Matsuura K, Naruse K, Funahashi H J. Reprod. Dev. 56: 552-557, 2010.

4)Hara T, Matsuura K, Kodama T, Sato K, Kikkawa Y, Muneto T, Tanaka J, Naruse K, RBM Online 26: 260-268, 2013.

5)Isachenko V, Maettner R, Sterzik K, Strehler E, Kreinberg R, Hancke K, Roth S, Isachenko E Reprod. BioMed. Online. 22: 536-544, 2010.

6)Asano Y, Matsuura K Reprod. Fertil. Dev. RD13039(1)-RD13039(9), 2013.

7)Li JC, Matsuura K, Kuroda Y, Funahashi H, Naruse K International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science (MHS2010) abstract: 29-34, 2010.

8)Matsuura K, Watanabe K, Kodama M, Kuroda Y, Naruse K International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science (MHS2011) abstract: 99-104, 2011.

9)Asano Y, Matsuura K, Naruse K, Mechanobiology of Disease, 9/29 2016.

## 発表成果

1)浅野 友香, 松浦 宏治, 成瀬 恵治, マウス着床前胚の化学的および物理的刺激における網羅的遺伝子発現解析, 日本生物物理学会 第 9 回 中国四国支部大会, 松山, 2017/5/21

2)Yuka Asano, Koji Matsuura, Keiji Naruse Gene expression patterns of in vitro cultured mouse blastocysts: Differences between in vitro-fertilized embryos and 2-cell stage collected embryos, The 3rd International Symposium on Mechanobiology (ISMB 2017), Singapore, 2017/12/14

3)松浦　宏治, 機能性細胞培養容器の開発, 第 23 回 OUS 技術セミナー, 岡山, 2018/2/23

# $^{19}$F MR プローブによる超微量生体物質計測法の開発

研究責任者　京都大学　大学院工学研究科
高分子化学専攻　重合化学分野
准教授　　田中　一生

## 1．はじめに

生体内の物質輸送や反応を計測することは基礎研究から疾病原因の解明、臨床診断など、生物学上様々に有用な情報を与えてくれる。特に、生体反応に応答して物性を変える分子はプローブとして標的の反応の分子レベルの情報を与えてくれる。また、新しい測定原理でシグナルの増減を示す物質は、今までとは切り口の異なる情報を与えてくれると期待される。したがって、新規の概念に基づく分子プローブの開発は重要性が高い。これらの概念の元、これまでに様々な種類の生体反応計測のためのプローブが作成されて来ており、多様な標的のイメージング化が可能となってきている。

プローブの設計において、検出方法として核磁気共鳴画像化法(MRI)を選定した。MRI は、非侵襲、リアルタイムに測定が可能で、測定深度が高いという特徴を有している。分子プローブを用いて、MRI のシグナルの制御系を構築することで、物質局在以上の生体情報の抽出が可能となると期待できる。ここで、$^{19}$F NMR は、天然では他の同位体が存在せず、測定感度は $^{1}$H NMR の約 80% と、多核 NMR としては高感度という利点を持つ。また細胞等の生体内条件での測定に用いる場合、周辺にフッ素原子がほとんど存在しないことから、バックグラウンドノイズが低い。さらに、$^{19}$F MRI では造影剤上のフッ素原子核を直接測定するため、強度の数量化が容易である。これらの長所から、近年、フッ素原子を含有した化合物をイメージングプローブとして用いて撮像を行う $^{19}$F MRI が注目を集めている。

上述の様に機能性フッ素化化合物を信号源として用いた $^{19}$F NMR による生体情報の計測は、様々な利点を有しており、実際に我々はこれまでに様々な生体反応や微小環境変化などを追跡するプローブを開発してきた [1)-3)]。そこで、次にシグナル伝達物質や生理活性小分子の検出に応用することで、それらの存在のみならず、体内での分布状況、濃度、産出・代謝速度など、より詳細な情報をリアルタイムに長期間検出することが想定されるが、これらの標的となる分子は濃度が低いことから、従来の $^{19}$F MR プローブにより検出は困難であることが予想される。そこで本研究では、$^{19}$F MR プローブの高感度化と、それらを用いた生体内での微量分子の検出、さらには、微細な環境変化の追跡を行うことを目的とし、研究を進めた。

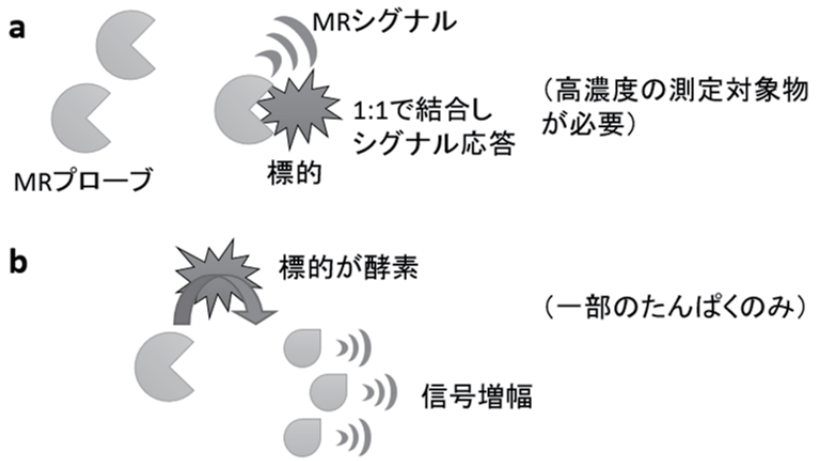



図1　従来の機能性 MR プローブの測定原理の模式図

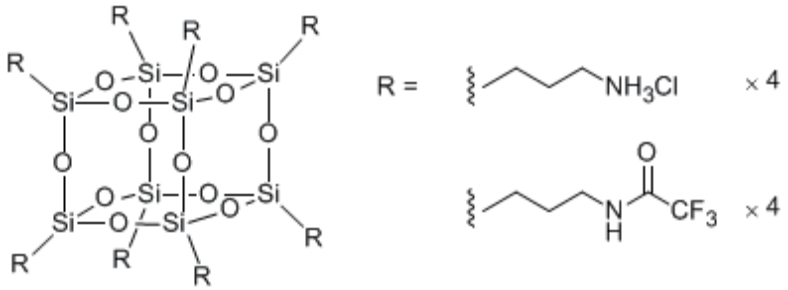



図2　水溶性高ﾌｯ素化 POSS の化学構造

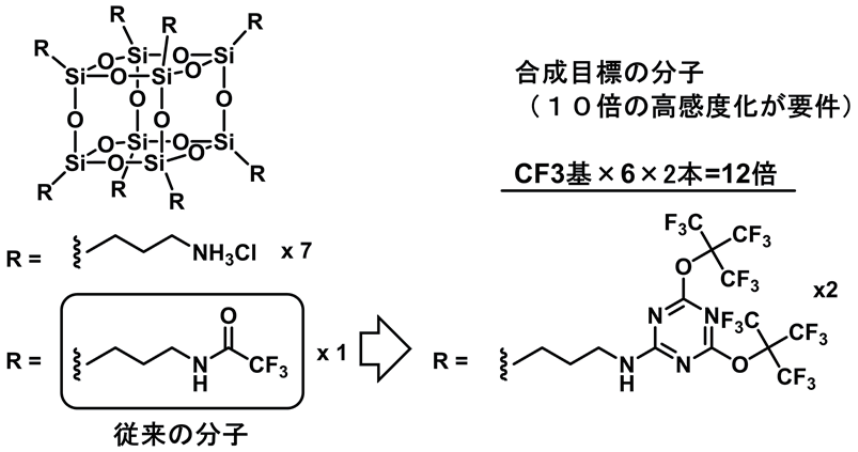



図3　10 倍高感度化のための合成目標の分子の設計

## ２．内容

生体反応や測定対象の標的物質と反応することで異なる強度・周波数領域に NMR 信号を与える物質としては、小分子、高分子、複合体、ナノ微粒子などがこれまでに報告されている。変化の度合いを検出することで、これらの反応の進行や濃度を定量できる。MRI に適用すると、形態情報のみならず、生体情報を可視化できるといわれている。

図１に既存の MR プローブの測定原理を示した。図１a のように、測定対象物が高濃度（数 mM 以上）で存在する場合はフッ素化化合物を結合させ、標識することで検出が可能である。また、図１b のように、対象が酵素の場合はプローブ自体を反

応基質となるように設計し、生成物の測定により酵素活性の追跡が可能である。一方、図中の括弧内に示したように、どちらの手法も微量で生理活性を示す物質の計測はできない。特に、多くの薬剤や小分子は NMR の測定限界よりも 1000 倍薄い数 μM 程度で生体内に存在するため、これらの濃度レベルで分子の存在を検出する必要がある。特に、蛍光プローブではこの濃度でも十分対応可能であり、実用化されている。したがって、実用的な $^{19}$F MR プローブを開発するには、既存の系よりも 1/1000 の量の測定物を検出できる技術の創出が必須であるといえる。以上のことから、これらの要件を満たす物質を得るために材料設計を行った。

まず、$^{19}$F NMR シグナル源となるフッ素修飾された樹状高分子（デンドリマー）について説明する。一般に高フッ素化物は溶媒への溶解性が低い。一方、高感度の検出を行うには電子的に等価なフッ素原子を一分子中に集積しなくてはならない。このトレードオフ関係の解決のために、かご型シルセスキオキサン（POSS）というデンドリマー型分子に着目した。これまでの研究で、POSS にトリフルオロアセチル基を導入した高フッ素化化合物を合成した（図２）。このフッ素化 POSS は高い水溶性を示し、フッ素原子を多数分子内に有することから、既存の $^{19}$F MRI 造影剤よりも 10 倍程度高い感度で検出が可能であった。さらに、pH 変化やプロテアーゼ添加において耐性を示し、血清中でも沈殿や凝集などが起こらなかったことから、生体からも安定してシグナルを発信することが可能であると考えられた。さらに感度を向上させるために、よりフッ素含有量の多い POSS の設計を行った（図３）。デンドリマー1 分子辺りのフッ素基の数を増やすことで感度の向上が期待される。

これらをシグナル源として、微量しか存在しない物質の検出を行うための設計原理について述べる。具体的には、標的となる一つの分子にプローブを集合させることで、常磁性緩和促進(PRE)という常磁性物質が集合することで磁性を強め合う効果を利用し、標的分子が低濃度であっても検出可能な方法を考案した（図４）。

POSS はシリカの疎水性に起因して、様々な常磁性金属錯体と疎水性相互作用により吸着することができる（図４左）。この状態をプローブとしてみなす。プローブは常磁性錯体を有するが、磁性が弱いために $^{19}$F NMR シグナルには影響しない（図４中）。ここに標的となる分子を添加すると、金属錯体に結合する（図４右）。その結果、プローブの疎水性が上がり、凝集が起こる。その結果、PRE が起こり、集合体全体の $^{19}$F NMR 信号が低下することが想定され、この減少により標的の存在を検知できると考えられる。

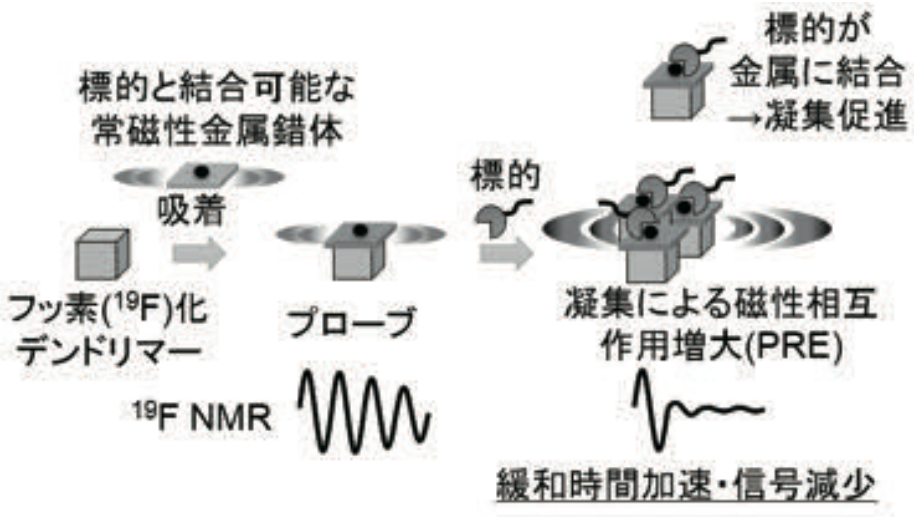
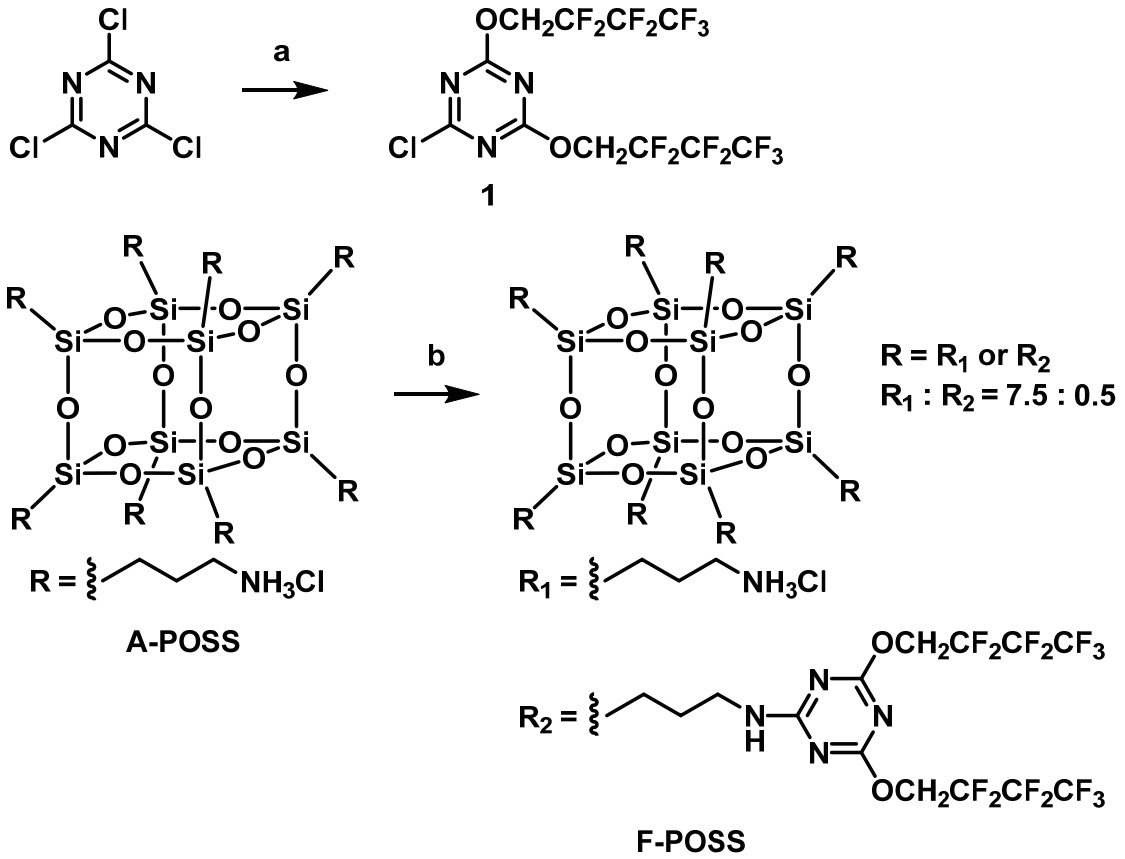



図4　高フッ素化高分子内への金属錯体の内包化と NMR 信号の強度制御

これらの設計指針に基づき、本研究では、生体内での薬剤や生理活性物質の濃度や動態を調べるための $^{19}$F MR プローブの開発を行う。特に、標的分子を高感度に検出するため、既存の $^{19}$F MR プローブよりも 1000 倍高感度化するための仕組みを本研究で開発し、微量の薬剤分子量の経時変化を中長期的に追跡可能な非侵襲の計測システムの開発へとつなげる。




Reagents and conditions: (a) 2,2,3,3,4,4,4-heptafluoro-1-butanol, potassium carbonate, acetone, r.t., 19 h, 12%; (b) **1**, triethylamine, methanol, r.t., 12 h, 46%.

スキーム 1　高フッ素化 POSS の合成スキーム

## ３．成果

まず、スキーム 1 に示したルートでフッ素化 POSS の合成を行った [4]。3-アミノプロピルトリエトキシシランを塩酸、メタノール混合溶液中にて 7 日間かくはんした後、沈殿物をろ別し、冷やしたメタノールにより洗浄することで、プロピルアミン塩酸塩を各頂点に持つ POSS (Amino-POSS) を作製した。フッ素化誘導体は、2,4,6-トリクロロ-1,3,5-トリアジンと 2,2,3,3,4,4,4-ヘプタフルオロ-1-ブタノールを Williamson 反応により合成した。得られた Amino-POSS と フッ素化誘導体をメタノール中で直接反応させることで、フッ素化 POSS (F-POSS) を作製した。得られた F-POSS は、水に可溶でかつ、メタノールなどの有機溶媒にも良い溶解性を示した。F-POSS は $^{1}$H、$^{13}$C、$^{19}$F NMR により同定し、POSS の置換基へフッ素誘導体の導入を確認した。その結果、得られた物質は八つのアンモニウム基のうち、平均して 0.5 個置換されたものが得られていることが NMR より明らかとなった。

POSS は Si-O 結合を骨格とした剛直な立方体の各頂点に有機側鎖を有する構造を有しており、これまで材料の耐熱性向上などの用途で多く用

いられてきた。また、デンドリマーやネットワークなど水溶性高分子に POSS を組み込むと、シリカの立方体核の極性の低さに由来して POSS 周辺に疎水性空間が現出され、薬剤や色素などのゲスト分子を大量に吸着できることを見出した [5)-8)]。このような背景の元、常磁性錯体と POSS の複合化によって、磁気的性質の付与を試みた。

ここで、常磁性物質は水中で周囲の原子核の NMR における緩和を早めることができる。この効果は常磁性緩和増強(PRE)と呼ばれている。この PRE を基盤として、フッ素 NMR を用いた微量生理活性分子の検出システムの構築を行った。上述の様に、NMR の原理的な感度の低さから一般的な薬剤が生理活性を示すような濃度範囲での検出は困難である。そこで、微量の生理活性分子がプローブの凝集を誘起することで、シグナル変化率を増幅する検出システムを構築した（図４）。

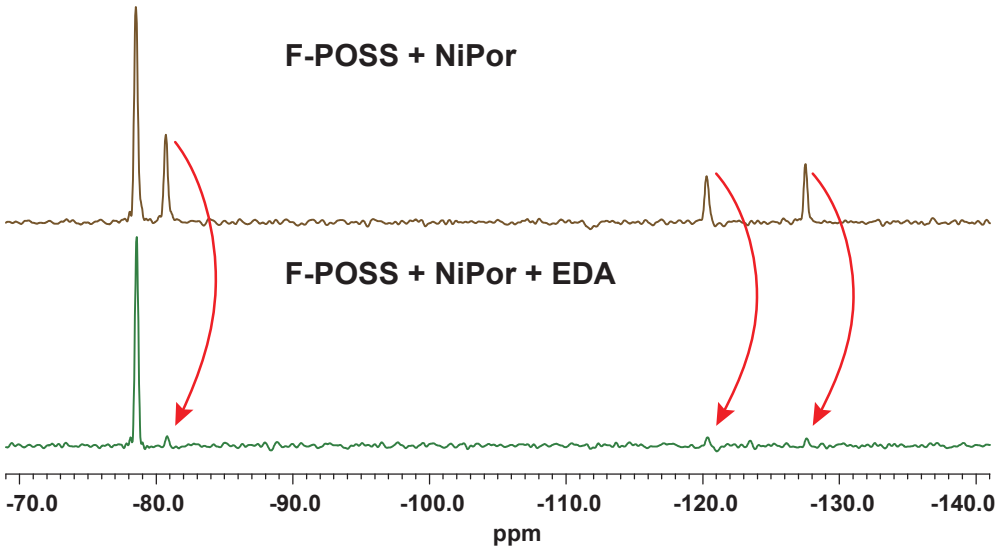



図5　F-POSS と NiPor の複合体とエチレンジアミン添加時の $^{19}$F NMR スペクトルの変化

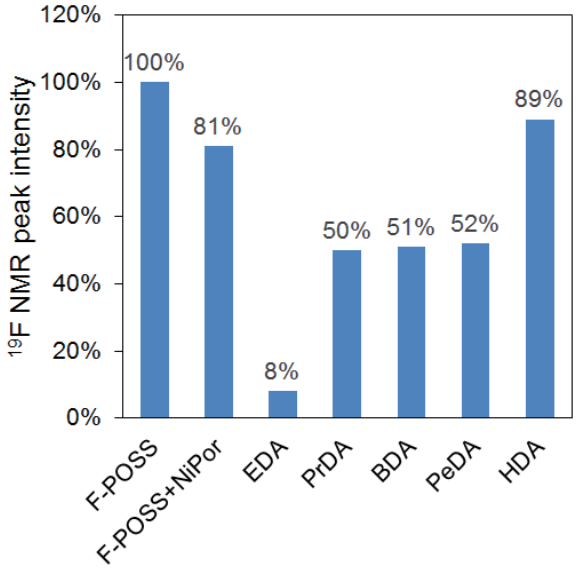



図6　F-POSS と NiPor の複合体に各種アミン添加時の $^{19}$F NMR スペクトルの強度変化

この概念の有効性を示すために、実験を行った。まず、F-POSS と Ni が配位したオクタエチルポルフィリン(NiPor)を添加した結果、$^{19}$F NMR のピーク強度の減少が確認された（図５）。実験は、F-POSS のみ、及び F-POSS と NiPor の混合物での $^{19}$F NMR 測定を行い、溶液中に添加したトリフルオロメタンスルホン酸ナトリウム($CF_3SO_3Na$) の積分値を基準として比較を行った。F-POSS と NiPor の混合物に対し、Ni 部位に配位することが知られている分子として、Ethylenediamine(EDA)を添加すると、$^{19}$F の信号強度が大きく減少した。また、アルキル鎖長を 2 から 6 と増加させ、$^{19}$F の信号強度の変化を観測した（図６）。その結果、EDA を添加すると 8% までピーク強度の減少がみられたのに対し、HDA を添加すると、89%までのピーク減少を示した。

この理由を調べるために、動的光散乱方(DLS)により、F-POSS と NiPor、各種アミン共存下での流体力学半径を測定した（図７）。その結果、F-POSS のみと比較し、各種アミンの添加により、流体力学半径が大きくなる傾向が確認された。これは、アミン添加により凝集が起こることで常磁性の金属イオンとフッ素原子の距離が近づき、PRE が発現したためと考えられる。常磁性金属イオンと他のイオンとの距離は近いほど、NMR における緩和が促進され、ピークはブロードニング化することが知られていることから、EDA を添加することで、常磁性金属イオン周囲に F-POSS が凝集し、その結果 NMR における緩和が促進され、ピーク強度が減少したと考えられる。

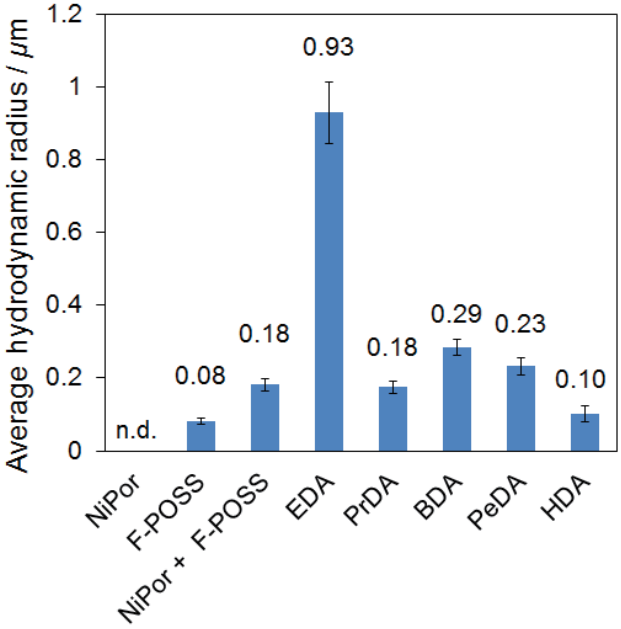



**図7　F-POSS と NiPor の複合体に各種アミン添加時の流体力学半径の変化**

さらに、この方法に基づいて、生理活性を有するアミン類の検出を行った（図８）。これまでと同様に POSS の複合体にアミン類を添加し、$^{19}$F NMR スペクトルを測定し、強度比を比較した。特に、これらのアミン類が血中で効果を示す 10 μM で実験を行った。その結果、図に示すようにアミン添加でシグナル強度の有意な減少が確認された。また、流体力学半径の増加から、凝集形成が示された。以上の結果は、想定したスキームにより微量の生理活性物質を血中の有効濃度で検出できたことを示している。

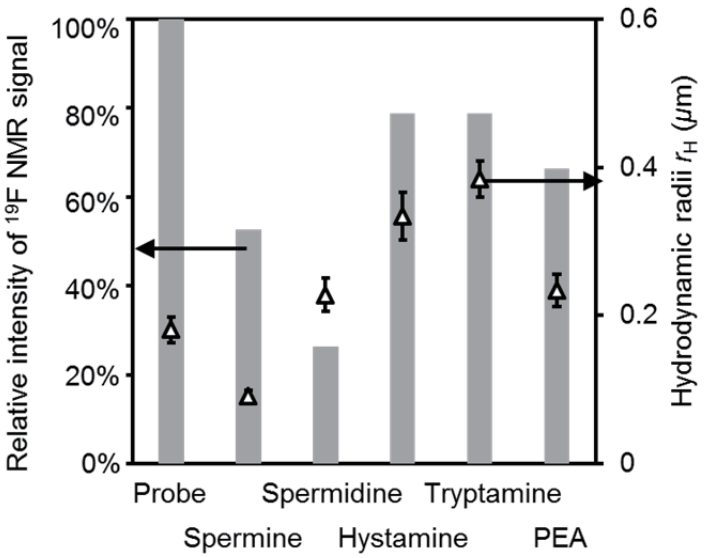



図8　F-POSS と NiPor の複合体に生理活性を有する各種アミン添加時のシグナル強度と流体力学半径の変化

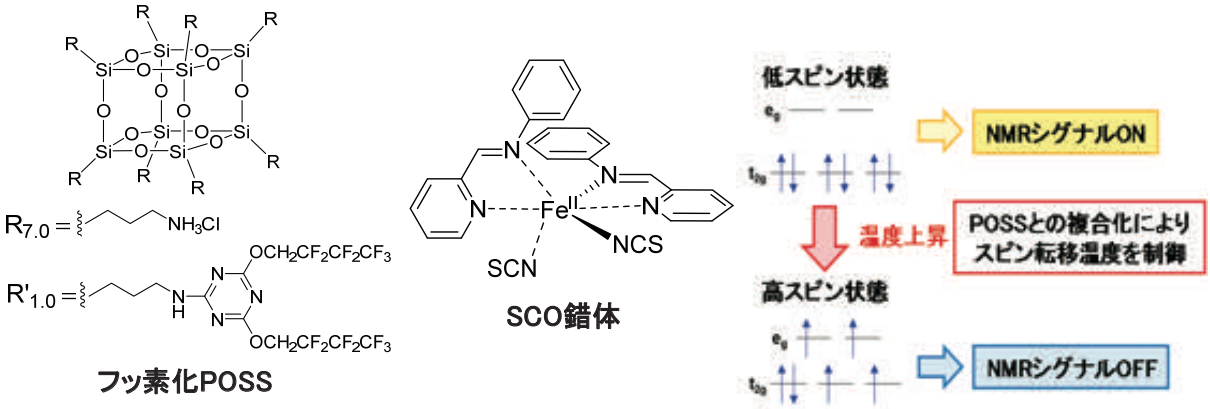



図9　フッ素化 POSS と SCO 錯体の構造式とスピン状態

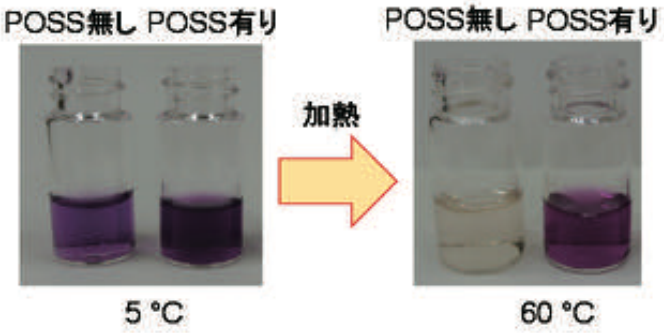



図10　SCO 錯体水溶液の写真

上述の系において、磁性による NMR 信号スイッチの有効性を示せたことから、新たに、温熱療法における生体内での局所温度上昇を追跡可能なプローブの作製を目指した。温度などの外部因子に依存し反磁性と常磁性間で転移するスピンクロスオーバー（SCO）錯体は、温度による磁性スイッチとしての働きが期待できる。しかし、一般的な SCO 錯体は低温でスピン転移を示し、生

体中での適用はできない。ここで最近、両親媒性高分子との複合化により室温付近まで転移温度を向上できることが報告された。この結果を基に、疎水性の SCO 錯体をフッ素化 POSS に吸着させることでスピン転移温度の制御を試みた（図９）。実際に、水中で SCO 錯体とフッ素化 POSS の複合体形成によって、スピン転移温度を大幅に向上させることに成功した（図 10）。また、温度可変 $^{19}$F NMR を測定した結果、転移による信号変化を検出することができた（図 11）。これらの結果は、POSS との会合により錯体の運動性が大きく低下したことを示しており、POSS の剛直性により安定化効果が得られたことが示唆された。

本研究では、POSS の凝集形成が機能発現に重要であった。そこで、一分子内で側鎖の集合・離散を動的に制御し、プローブとして利用することを試みた。すなわち、側鎖のコンフォメーションの制御方法を確立し、導入した発光色素を POSS 周辺の特異な環境に配置することで、通常水溶液中では観測が困難な光学特性の導出を図った。具体的には、POSS 周辺に集積されることで、色素間の相互作用が増強され、エキシマー発光を得ることを狙った。エキシマー発光は熱運動により失活され易いが、励起子の安定化と相互作用が得られた場合には鋭敏な環境応答性を持つ発光が得られる。よって、POSS が励起状態の分子を安定化することを示すのに効果的であることと、さらに POSS に対する疎水性分子の吸着挙動と組み合わせることで、微細な疎水性相互作用の差を認識するセンサーへの応用についても期待できる。

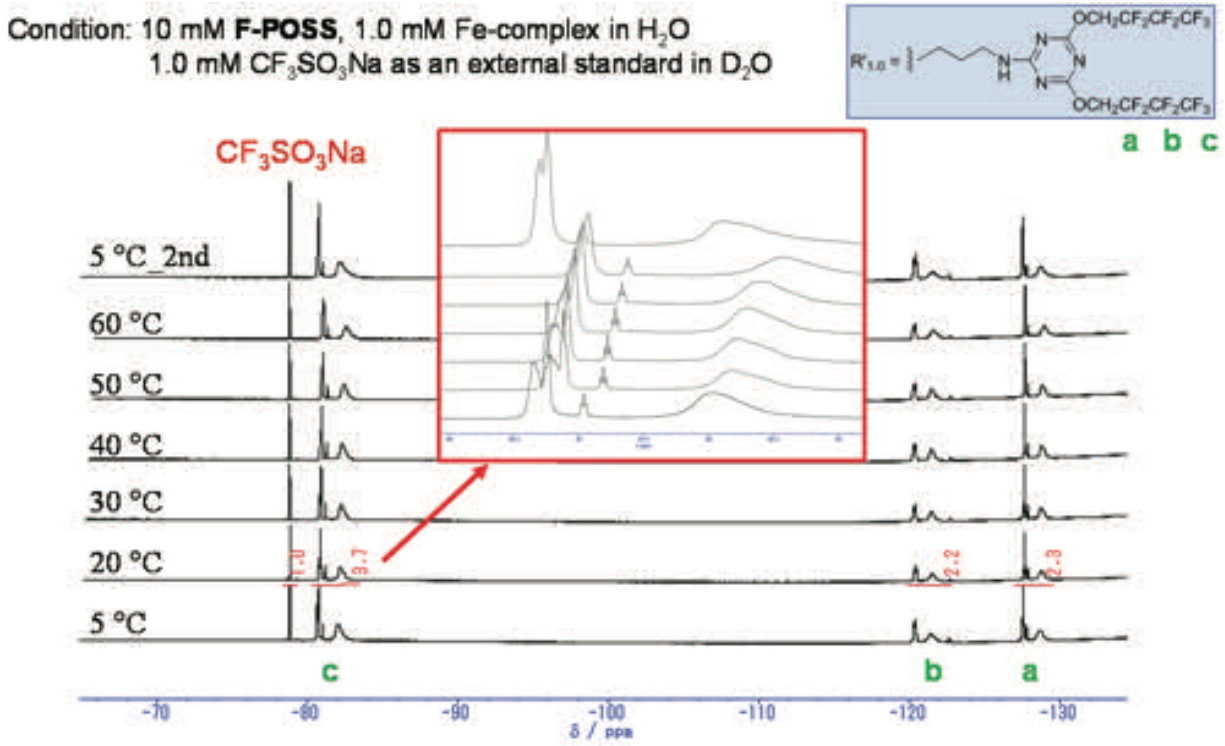



**図11　F-POSS と錯体との複合体の温度可変 NMR スペクトル**

具体的な戦略としては、柔軟な骨格の側鎖に高極性部位の導入を行うことで、側鎖－溶媒間の相互作用制御を試みた（図 12）。高極性部位としては対アニオンによって極性やサイズが調整できる 4 級アンモニウム基を導入した。現在までに、新規に合成したジメチルアミノ基を有する POSS にナフタレン及びアントラセン、ピレンの導入を行い、クロロホルム希薄溶液中で各 POSS が強いエキシマー発光を示すことを観測した（図 12）。特に、溶液条件ではエキシマーを形成しにくいナ

フタレンにおいてもエキシマー発光が発現しており、POSS のサイズと剛直性に基づく安定化効果が寄与していることが示された。さらに、この材料を用いて、河川汚染の指標となる界面活性剤の定量も可能であった。

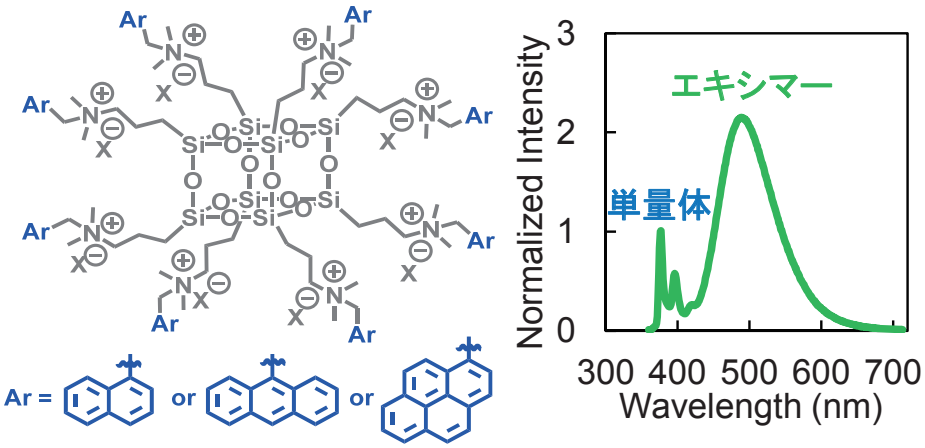



図12　エキシマー発光性 POSS の構造式とピレン修飾 POSS の発光スペクトル

## 4．まとめ

合成した水溶性フッ素化 POSS に錯体を吸着させ、種々の生理活性アミン類を添加したところ、期待通りに凝集体を形成しフッ素 NMR 信号の減少が見られた。最終的に一般的な既存のフッ素 NMR プローブより 1000 倍程度感度を向上することに成功し、幻覚作用を持つ分子を血中での活性濃度でも検出することができた。また、温度変化にもシグナル強度の変化が見られた。これは、ガンの温熱療法時における発熱効率の調節や、さらには MRI の装置内部での副反応としての発熱の検知などに応用できることが考えられる。現在、より詳細なデータを取得しているが、これらは本研究目標が達成できたことを意味している。また、本研究テーマを進めるうちに、さらなる高機能性プローブ開発につながる材料を得ることができた。以上のことから、十二分に本研究助成より成果を出せたといえる。


## 謝辞

本研究の一部は、公益財団法人中谷医工計測技術振興財団の助成の元に行われた。財団関係者各位に厚く御礼申し上げる。


## 参考文献および発表論文


1.Chemicals-Inspired Biomaterials; Developing Biomaterials Inspired by Material Science Based on POSS
Tanaka, K.; Chujo, Y.
*Bull. Chem. Soc. Jpn* **2013**, *86*, 1231–1239.

2. Heavy Metal-Free $^{19}$F NMR Probes for Quantitative Measurements of Glutathione Reductase Activity Using Silica Nanoparticles as a Signal Quencher
Tanaka, K.; Kitamura, N.; Chujo, Y.
*Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 96–100.

3. Reduced Glutathione-Resisting $^{19}$F NMR Sensors for Detecting HNO
Kitamura, N.; Hiraoka, T.; Tanaka, K.; Chujo, Y.
*Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 4668–4674.

4.Development of Highly-Sensitive Detection System in $^{19}$F NMR for Bioactive Compounds Based on the Assembly of Paramagnetic Complexes with Fluorinated Cubic Silsesquioxanes

Kakuta, T.; Jeon, J.-H.; Narikiyo, H.; Tanaka, K.; Chujo, Y.
*Bioorg. Med. Chem.* **2017**, *25*, 1389−1393.

5.Hypoxic Conditions-Selective Upconversion via Triplet-Triplet Annihilation Based on POSS-Core Dendrimer Complexes
Tanaka, K.; Okada, H.; Jeon, J.-H.; Inafuku, K.; Ohashi, W.; Chujo, Y.
*Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 2678–2681.

6.Light-Driven Artificial Enzymes for Selective Oxidation of Guanosine Triphosphate Using Water-Soluble POSS Network Polymers
Jeon, J.-H.; Tanaka, K.; Chujo, Y.
*Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 6500−6506.

7.Facile Design of Organic−Inorganic Hybrid Gels for Molecular Recognition of Nucleoside Triphosphates
Jeon, J.-H.; Kakuta, T.; Tanaka, K.; Chujo, Y.
*Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 2050−2055.

8.Synthesis of Emissive Water-Soluble Network Polymers Based on Polyhedral Oligomeric Silsesquioxane and Their Application as an Optical Sensor for Discriminating the Particle Size
Kakuta, T.; Tanaka, K.; Chujo, Y.
*J. Mater. Chem. C* **2015**, *3*, 12539−12545.

9.Development of Optical Sensor for Discriminating Isomers of Fatty Acids Based on Emissive Network Polymers Composed of Polyhedral Oligomeric Silsesquioxane
Narikiyo, H.; Kakuta, T.; Matsuyama, H.; Gon, M.; Tanaka, K.; Chujo, Y.
*Bioorg. Med. Chem.* **2017**, *25*, 3431-3436.

# 力学環境負荷および細胞牽引力計測が可能ながん細胞遊走解析システムの開発

研究責任者　北海道大学　大学院工学研究院
人間機械システムデザイン部門
教　授　　大橋　俊朗

## １．はじめに

細胞遊走は組織や臓器の発達と恒常性の維持に関わる細胞の基本的な機能であり、かつ損傷治癒部位への血管新生やがんの転移など様々な疾患の発達やその治癒に関わる非常に重要なプロセスである。特に、我が国を含む先進国においてがんの早期診断・治療法の開発は精力的に行われており、その中でがん細胞の遊走メカニズムの解明は根源的で極めて重要である。細胞遊走の形態は、単体で遊走する場合（Single cell migration）と細胞間結合により細胞同士が結合し細胞群を形成して組織的に遊走する場合（Collective cell migration）に分けられる。細胞は周囲の組織に対して力（これを細胞牽引力と呼ぶ）を発生することで遊走を実現させているため [1]、力学的アプローチにより細胞遊走メカニズムの解明が期待できる。また、近年のバイオメカニクス研究の発展により、組織の力学環境が様々な疾患の発生・発達に関与していることが分かりつつあり、それに寄与している細胞遊走に注目が集まっている。

細胞遊走を調べる実験として、これまでにコンフルエント状態になった細胞群の一部を擦過する方法（スクラッチアッセイ）が主として用いられてきた。スクラッチアッセイによる MDCK 細胞の組織的な遊走を図１に示す。この方法では境部に存在する細胞に損傷を与えてしまうため、近年、損傷を与えることなく細胞遊走を観察することができるデバイスが開発された [2]。これは、上面が解放されている長方形型の液溜め部およびその側面に垂直に接続された複数のマイクロチャネルからなる PDMS 製のデバイスである。そこで、申請者は細胞遊走時の力学場を解明するため、上記参考文献(2)のグループとの共同研究において、マイクロピラーをマイクロチャネルの底面に組み込んだデバイスを開発し遊走細胞の牽引力計測を行ってきた [3]。

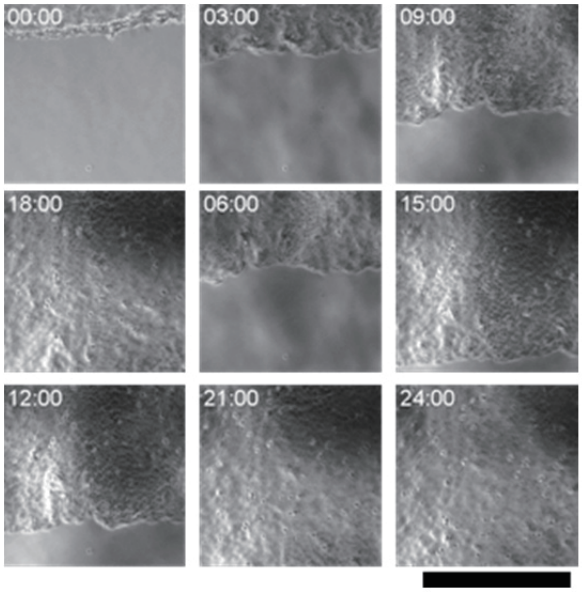



**図1　スクラッチアッセイによる MDCK 細胞の組織的遊走　スケールバー**：500 μm

本研究課題では、本研究をさらに発展させてMEMS 技術を用いて細胞遊走メカニズムの詳細な解析が可能な革新的がん細胞遊走解析システムを開発することを目的とする。具体的には、申請者がこれまでに従事してきた細胞遊走用デバイスをさらに発展させ、力学環境下においてがん細胞の遊走メカニズムの研究が可能なマイクロチャネルデバイスの開発を目指す。力学環境負荷として、マイクロフルイディクス技術による流れ刺激負荷、細胞引張試験技術を応用した力学刺激負荷を実現する。細胞牽引力は微小流路底面に組み込んだ PDMS 製のマイクロピラー（弾性微小柱：高さ 8 μm、直径 3 μm、中心間距離 8 μm）の変形により推定する。本研究により、従来にない細胞メカノタクシスの実験技術を提供するものでありがん細胞の遊走メカニズムの解明が期待できる。

## ２．実験方法

開発するマイクロデバイスは PDMS 製のマイクロピラーを底面に実装し、遊走する細胞の牽引力をマイクロピラーのたわみによって計測する。力学環境負荷として、1)マイクロフルイディクス技術による流れ刺激負荷、2)細胞引張試験技術による引張刺激負荷、3)流れ刺激と引張刺激の同時負荷、の機能をデバイスに付与し、4)正常細胞とがん細胞の遊走メカニズムの違いを明らかにする。マイクロフルイディクス技術により微小流路に流れを発生させることで、生体内流れ場（血液、間質液など）を模した環境を忠実に再現した実験が可能である。以下、実験方法の詳細である。

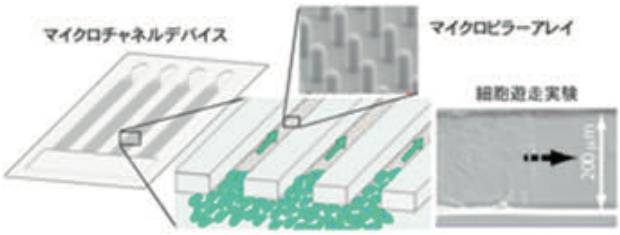



図2　細胞遊走評価マイクロチャネルデバイスの基本設計

### 2.1　マイクロチャネルデバイスの設計と作製

フォトリソグラフィー技術およびソフトリソグラフィー技術を用いて PDMS 製のマイクロピラー実装マイクロチャネルを作製する。マイクロチャネル本体は、細胞をコンフルエント状態まで培養させるために設けられた液溜め部、およびその片側に接続された細胞が遊走するための複数のマイクロチャネル（幅 200 μm、高さ 50 μm）により構成される（図２）。マイクロチャネルは底面にマイクロピラー（基本寸法は高さ 8 μm、直径 3 μm、中心間距離 8 μm）が組み込まれている。微小流路は 6 本で 1 組を成し、それら 6 本の一端が 1 つのシリンジポートに接続するように、合計 4 組 24 本の微小流路および 4 つのシリンジポートを設けた。図２に示すように、微小流路 1 組内の 6 本の微小流路について左から順に流路 1～6 を設けている。流路 1 および 6 は底面にマイクロピラーが組み込まれていない参照用流路として用い、流路 2～5 は遊走時の細胞牽引力が計測できるよう底面にマイクロピラーを組み込んだ。

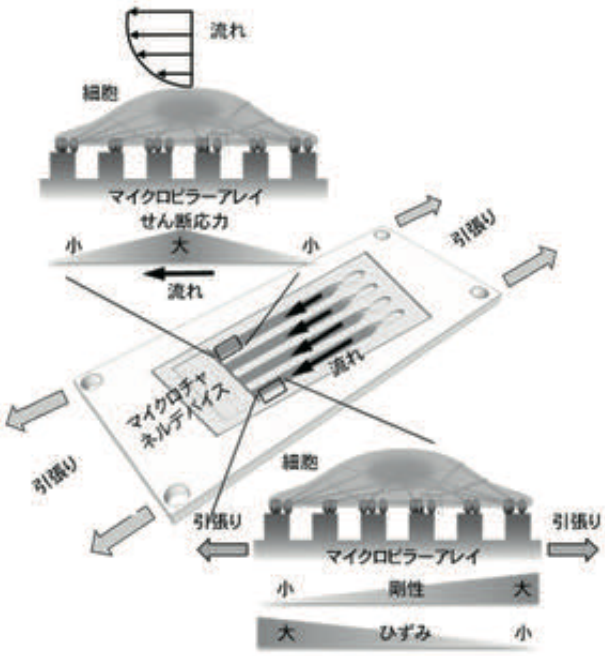



図3　力学刺激付与が可能な細胞遊走評価マイクロチャネルデバイス

続いて、力学刺激付与が可能なデバイスの開発を行う（図３）。流れ刺激負荷機能の付与として、4 つのユニットのマイクロチャネルの高さをそれぞれ 50、100、150、200 μm となるよう流路上面に貼り合わせるカバーの設計を行う。デバイス全体のインレットとアウトレットはそれぞれ一カ所であり 4 つのユニットと接続されているため、一度の実験で４つの異なる流れ刺激を作り出すことができる。また、流れ刺激負荷機能の付与として、4 隅に設けた円孔を現有の細胞引張試験装置にマウントしてデバイスに引張りを負荷する。マイクロチャネルの入口から出口に向かって徐々にマイクロピラーの直径を変化させることで剛性を変更し、空間的に勾配をもったひずみ場も作り出すことができる。

### 2.2　細胞遊走実験

20% FBS を添加した DMEM 培地を用いて 37℃、5% $CO_2$ の環境下で MDCK 細胞を培養し、実験に使用した。本デバイスの性能評価を行うために、流れ刺激および引張刺激付与がない状態で細胞遊走実験を行った。細胞懸濁液を細胞液溜め部に播種した後、コンフルエント状態まで細胞培養を行った。シリンジポートから培地を注入し微小流路と液溜め部を培地で接続した後、カバーを剥離し実験を開始した。細胞が微小流路内を遊走する過程を、顕微鏡（Ti-E、 Nikon、 Japan）上で 30 分ごとに画像を取得する経時観察を 24 時間にわたり行った。マイクロピラーのたわみ量は、0 時間におけるマイクロピラー上面の位置からの変位量と定め、たわみ量にクロスキャリブレーションで得られたマイクロピラーのばね定数を乗じて細胞牽引力を得た。

## ３．結果および考察

本デバイスの基本性能評価を行うために、流れ刺激および引張刺激付与がない状態で細胞遊走実験を行った。マイクロチャネル内を遊走する細胞について 3 時間毎に 24 時間にわたり撮影した顕微鏡画像を図４に示す。細胞同士が密に結合し合いながら組織的に遊走する様子が確認できた。時間変化に対する細胞群のフロントラインの累積遊走距離を図５に示す。図中の直線で示すように、最小二乗法を用いて直線近似することで平均遊走速度を算出した。その結果、遊走速度は 10.7μm/h であった。Poujade ら [4]が平面上を組織的に遊走する MDCK 細胞の遊走速度を求めたところ、フロントラインの遊走速度は 10±5 μm/h であった。このことから、本研究で開発したデバイスが細胞の組織的遊走を定量的に評価するデバイスとして有効であることが示された。

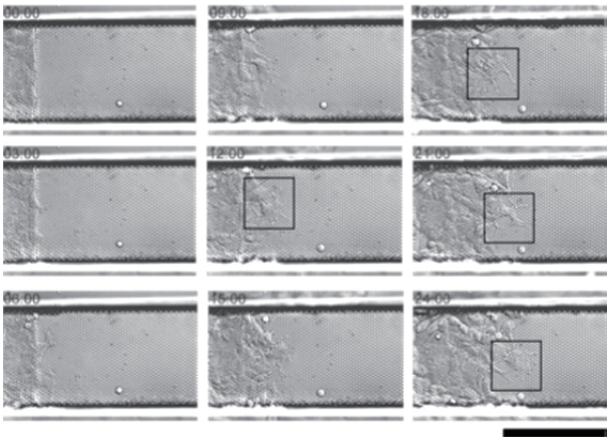


**図４　マイクロチャネル内を組織的に遊走する MDCK 細胞　スケールバー**: 200 μm

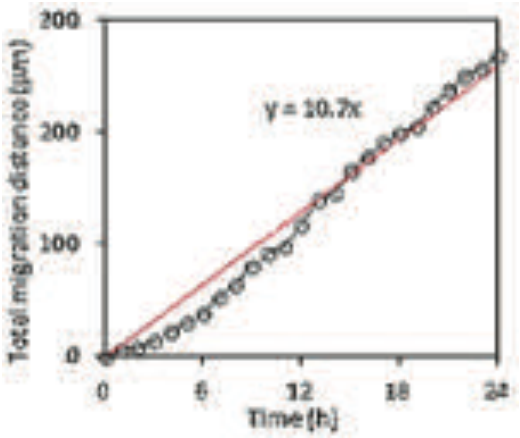



**図5　フロントラインの累積遊走距離の時間変**

細胞牽引力の時間変化をコンター図として図６に示す。細胞群は流路の側壁の影響を受け、側壁周辺において大きな牽引力を発生する傾向を

示した。そこで側壁から 30 μm、およそ細胞 1 つ分を除外した領域内で牽引力計測を行った。細胞が接着している全マイクロピラーについて牽引力を算出し、箱髭図として整理した結果を図 7 に示す。この図より、牽引力全体の平均値を算出したところ 2.4 nN であった。細胞群内部に着目すると、時間変化とともに牽引力の変動が細胞群の前方から後方へ伝わる様子が確認された。また、細胞群のフロントラインからおよそ細胞 10 個分、約 300 μm 後方までの領域においては、牽引力変動の伝播が確認できた。Farooqui と Fenteany[5] は、組織的細胞遊走において細胞群のフロントラインから後方 300 μm までの領域に位置する細胞が葉状仮足を発達させることを報告した。これらのことから、フロントラインから後方 300 μm までの領域に位置する細胞が遊走に深く関与することが示唆された。

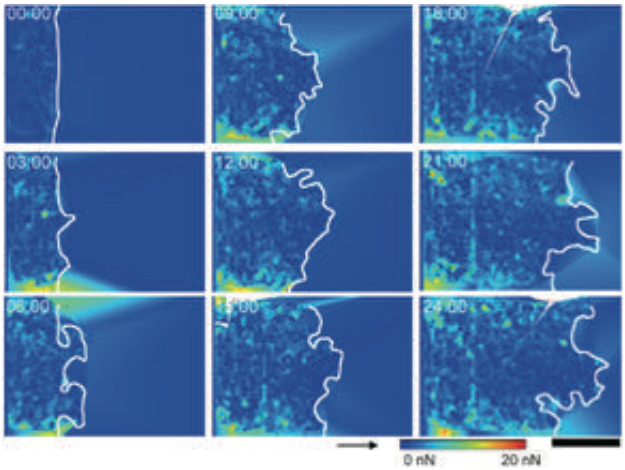



図6　細胞牽引力の時間変化のコンター図
スケールバー：100 μm

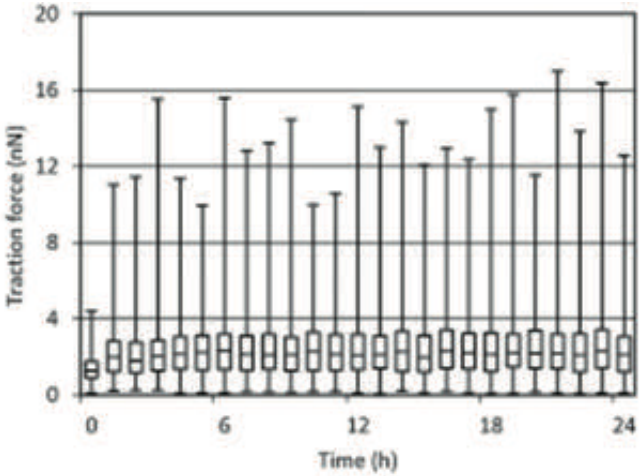



図7　細胞牽引力の時間変化の箱髭図

流れ刺激および引張刺激付与が可能な細胞遊走評価マイクロチャネルデバイスを開発した（図 8）。デバイスの概要図および実際に作製したデバイスの写真を図 8 (a) と図 8 (b) にそれぞれ示す。流れ場を形成するためのトップの部分は機械加工により金型を形成し、フォトリソグラフィー技術により型取りをして PDMS により形成した。本デバイスを用いて細胞遊走実験を試みているが、現在、実験条件の最適化を図っている段階である。実験条件が整い次第、力学刺激付与下において正常細胞とがん細胞の遊走メカニズムの違いを検討していく予定である。

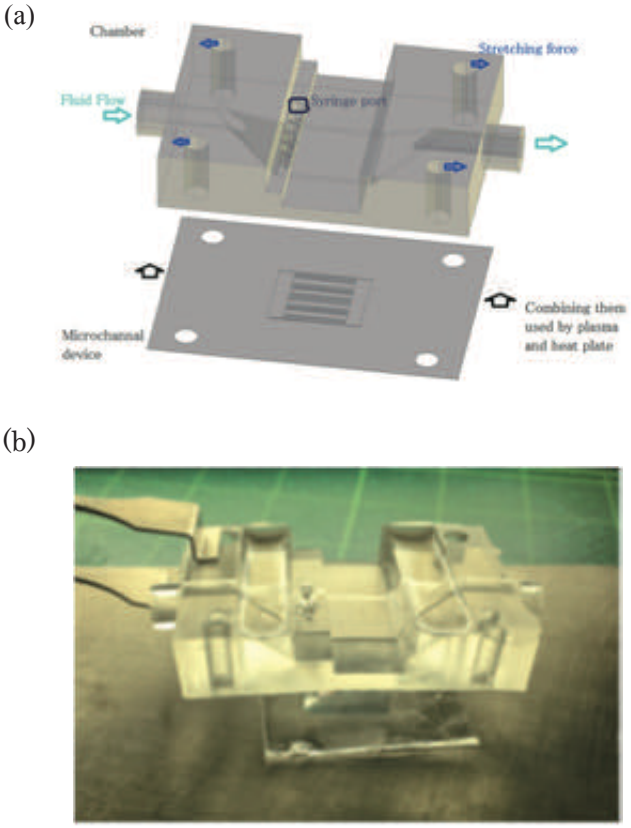



図8　流れ刺激および引張刺激付与が可能なマイクロチャネルデバイス（a)概要図，(b)実際の写真

## ４．まとめ

本研究課題では、細胞の組織的遊走時における牽引力計測が可能なデバイスを開発した。組織的細胞遊走において細胞群全体の牽引力のダイナミクスを評価した。特に、流れ刺激および引張刺激といった力学刺激付与が可能なマイクロチャネルデバイスを新たに開発し、現在、実験条件の最適化を図っているところである。実験条件が整い次第、流れ刺激および引張刺激付与下において正常細胞とがん細胞の遊走メカニズムの違いを検討する。

今後の課題として以下が挙げられる。細胞が微小流路底面を遊走する際に、流路の側壁を遊走する細胞も観察された。そのため側面に細胞が接着しないような処理が必要である。牽引力の変動についてより詳細に解析を行うため、高倍率の画像を取得できるように流路幅および微細造形物の厚さを調節する必要がある。遺伝子導入技術により、細胞間接着タンパク質であるカドヘリンを染色することで遊走時における細胞間結合力の有無や強弱など細胞間のダイナミクスを評価することができる。さらにアクチンフィラメントを染色することで遊走時における細胞骨格構造のダイナミクスを評価することができる。

## 謝辞

本研究課題は、公益財団法人中谷医工計測技術振興財団平成 28 年度技術開発研究助成の援助を受けて行われた。ここに記して謝意を表する。

## 参考文献

(1) Trepat, X., Wasserman, M.R., Angelini, T.E., Millet, E., Weitz, D.A., Butler, J.P., Fredberg, J.J., Physical forces during collective cell migration, Nature Phys., 5, 426-430, 2009.

(2) Doran, M.R., Mills, R.J., Parker, A.J., Landmanc, K.A., Cooper-White, J.J., A cell migration device that maintains a defined surface with no cellular damage during wound edge generation, Lab on a Chip, 9, 2364–2369, 2009.

(3) Sugawara, A. and Ohashi, T.. Measurement of traction forces during migration of fibroblasts on micropillar substrate, ISB2011, Brussels, 2011.

(4) Poujade, M., Grasland-Mongrain, E., Hertzog, A., Jouanneau, J., Chavrier, P., Ladoux, B., Buguin, A., Silberzan, P., Collective migration of an epithelial monolayer in response to a model wound, PNAS, 9, 15988-15993, 2007.

(5) Farooqui, R. and Fenteany, G., Multiple rows of cells behind an epithelial wound edge extend cryptic lamellipodia to collectively drive cell sheet movement. J. Cell Sci., 118(1), 51-63, 2005.

# 平成 27 年度（第 32 回）
# 奨励研究助成　研究成果報告

個体で自在に生体情報を計測・操作するための遺伝子ツールノックイン技術の開発

（東京医科歯科大学難治疾患研究所　准教授　相田　知海）

基礎代謝時の深部体温を日常的に測定するための胃酸駆動飲み込み型体温計の開発

（東北大学大学院工学研究科　特任准教授　吉田　慎哉）

注１　顔写真は研究責任者です。

注２　所属等は助成研究実施時または執筆された当時のものです。

# 個体で自在に生体情報を計測・操作するための遺伝学ツールノックイン技術の開発

研究責任者　東京医科歯科大学 難治疾患研究所
分子神経科学分野
准教授　　相田　知海

## １．はじめに

細胞内カルシウム濃度、細胞内 pH、細胞外グルタミン酸濃度等の生体情報は、細胞機能や病態解明に必須である[1)]。特に重要なのは生きたマウス個体で、これら生体情報をリアルタイムに計測し、またそれを可逆的に操作する事で、現象と因果関係を明らかにする事である。これらは各々の遺伝学的センサーを用いる事で可能であるが、その為には１）毒性のない高い発現量、２）臓器・細胞種を問わずに発現可能、３）発現が可逆的に誘導可能、等の条件でセンサーを発現させる事が必要である。この目的には、特定のゲノム部位に遺伝学的センサーが正確に挿入されたノックインマウスが必須である。

従来、ノックインマウスは ES 細胞を用いて 作製されてきた。しかしながらその作成には数年間・数十の煩雑な操作・数百万円以上のコストが必要であり、ノックインマウスを駆使した研究の障害となっていた。2012 年以降の CRISPR（clustered regularly interspaced short palindromic repeats）によるゲノム編集技術の急速な発展により、ノックインマウスを含む遺伝子改変マウスの作製手法に革命がもたらされた。すなわち野生型のマウス受精卵に、CRISPR と遺伝学的センサーをコードするドナーDNA を注入する事により、受精卵内で直接遺伝子組み換え反応を誘導し、迅速に遺伝学的センサーのノックインマウスを得る事が可能になったのである[2)]。この CRISPR を用いたゲノム編集は、およそ１ヵ月の短期間、単一の操作、そしてわずか 10 万円の低コストでのノックインマウス作製を可能にし、文字通り遺伝子改変マウスの作製に革命をもたらした。しかしながらその後の多くの研究者達の追試からは、この手法は当初期待されたほどの成果を上げられず、極めて低いプロジェクト成功率・ノックイン効率が広く共有され生命科学研究業界における大きな課題となっている[3),4)]。

我々は以前に、改良型 CRISPR システム・クローニングフリーCRISPR を開発した。これを用いる事により、従来は数%程度の効率でしかなかったマウス受精卵への遺伝学的センサーへのノックインを、50%に達する世界最高効率で実現する事に成功した[5)]。我々はこの技術を基盤とした遺伝子改変マウス作製支援コア部門を東京医科歯科大学・難治疾患研究所に設立し、平岡優一助教の指揮の元、これまでに多数のノックインマウスを作製、多くの研究者達に供給してきている。本コアはこれまでの多数プロジェクトを成功させてきただけでなく、プロトコル改良や新技術開発により、ノックイン作製効率は当初の論文を大き

く上回るまで向上している。本コアの技術力とノックインマウス作製実績は、CRISPR によるゲノム編集技術における世界の中心であるボストンのマサチューセッツ工科大学、ハーバード大学、ブロード研究所等の研究機関を大きく上回る、世界トップの水準にあり、我が国の生命科学研究と創薬研究推進に貢献している。

マウス受精卵でのノックインは様々なパラメーターに依存する。CRISPR による標的ゲノム領域の切断効率とタイミング、ドナーDNA と標的ゲノム間での組換えによる遺伝学的センサーの挿入効率、受精卵の発生状況等が挙げられる。我々はこれまでに CRISPR 自身の改良により、ノックインマウス作製効率を大きく向上させてきた。一方で、遺伝学的センサーをコードするドナーDNA については、古典的なプラスミドベースのターゲティングベクターのままであった。このターゲティングベクターは、ドナーDNA の両端に長い相同領域（数千塩基）を付加したものであり、その作製は依然煩雑で時間を要する。またこのターゲティングベクターによる遺伝学的センサーのノックインは、標的ゲノム DNA と、ドナーDNA の相同領域との間で稀に起こる相同組換えに依存したパッシブなノックインであり、ノックイン効率低下の主要な原因となる。このため CRISPR 時代の新たなドナーDNA の開発が、ノックイン技術の更なる簡易化・高効率化に求められている。本研究では種々の新型ドナーDNA の開発と、実際の遺伝学的センサー等のノックインマウス作出による実証を行った。

## ２．増強 PITCh システム

CRISPR により生成された標的ゲノム領域の二本鎖 DNA 切断（DSB）は、細胞が持つ内在性の DNA 修復機構により修復される。DSB は一般に NHEJ（non-homologous endo-joining）機構により、ランダムな数塩基の欠失・挿入を伴って修復されると考えられている。これに対して我々は、マウス受精卵では NHEJ よりも、DSB 部位近傍の 3 塩基程度の相同領域間での組換え：MMEJ（microhomology mediated endo-joining）による、規則性を伴う修復が高頻度であることを見出した [5]。実際に、作製されたマウスの DSB の修復パターンは、再現性良く少数に収束する。このため標的配列を精査する事で、予め修復パターンを予測する事も可能である。そこで我々は広島大学が開発した MMEJ に基づくノックインシステム・PITCh（precise integration into targeted chromosome）[6]をノックインマウス作製に応用した。PITCh システムでは、ノックイン機構に相同組換えではなく MMEJ を用いる事により、相同組換えで用いられる長い相同領域が不要である。これに代わり、ノックインする遺伝学的センサー両端に、ゲノム DNA に相同な 20-40 塩基のマイクロホモロジーを付加するのみでノックインが可能である。さらに PITCh システムでは、標的ゲノム領域のみならず、ドナーDNA にも CRISPR による DSB を誘導し、標的ゲノム領域とドナーDNA 間の MMEJ を促進する（図１）。

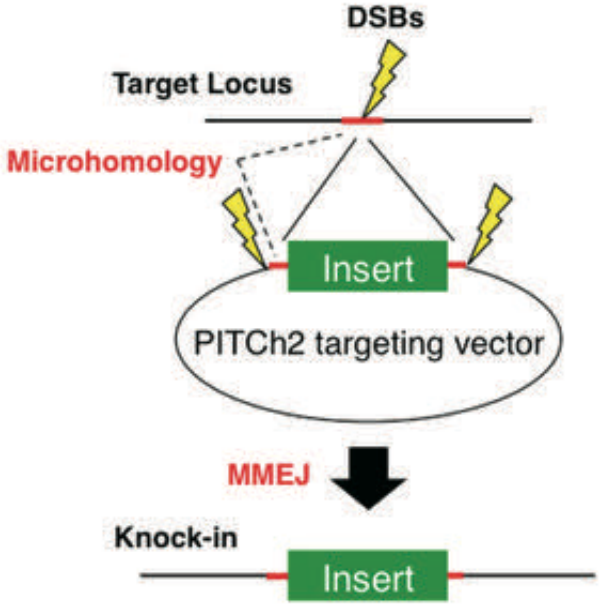



**図1　PITCh システム**
**PITCh システムでは、標的ゲノム領域（Target Locus）とドナーDNA（PITCh2 targeting vector）の双方に DNA 二本鎖切断（DSBs、黄）を誘導する。その結果、標的ゲノム領域とドナーDNA 上の相同なマイクロホモロジー配列（赤）間で MMEJ による組換えが起こり、遺伝学的センサー（Insert、緑）が標的ゲノム領域にノックインされる。**

PITCh システムには 2 つの利点が期待される。1 つは高頻度な MMEJ によるノックイン効率の向上、もう 1 つは短いマイクロホモロジーでノックインするため、従来用いてきた数千塩基の相同領域を付加した煩雑なターゲティングベクター構築が不要になり、PCR クローニング 1 回でドナー DNA を作製可能な点である。

この PITCh システムを用いて、最初に我々は、細胞内カルシウム濃度を制御する 5000 塩基の遺伝学ツールのノックインマウス作製を試みた。通常このような長鎖遺伝学ツールのノックインは困難であるにも関わらず[3]、PITCh システムを用いる事でおよそ 10%のノックイン効率で遺伝学ツールを正確に挿入する事に成功した[7]。この長鎖遺伝学ツールの良好なノックイン効率と DNA 作製の簡便性から、PITCh システムはマウスでの非常に有用なノックイン手法である事が明らかになった。

一方で、これらのノックイン効率自体には、改良の余地が残る。そこで MMEJ による DSB 修復の促進により、ノックイン効率を向上させる事を試みた。MMEJ による DSB 修復を蛍光タンパク質の発現によりモニター可能な培養細胞でのスクリーニング系を構築した。ここに DSB 修復に関わる様々な遺伝子を導入、MMEJ 効率の変化をモニターした。その結果、一連の MMEJ エンハンサー遺伝子群を同定した[7]。本研究では、このうち高い MMEJ 促進活性を示した Exo1 に着目し、その後の解析を進めた。Exo1 は DSB 末端を削り込む事により、マイクロホモロジー領域を露出させ、MMEJ を促進すると考えられる。Exo1 を PITCh システムと共にヒト培養細胞に導入したところ、複数の遺伝子座で蛍光タンパク質のノックイン効率を向上させる事に成功した[7]。

次に Exo1 を添加して、再度、細胞内カルシウム濃度を制御する 5000 塩基の遺伝学ツールのノックインマウス作製を試みた。その結果、対照実験では 10%程度であったノックイン効率を、およそ 3 倍となる 35%程度まで高める事に成功した[7]。Exo1 のノックイン促進効果をさらに検討するため、長鎖遺伝学ツールのノックインと並んで最も作成が困難とされる、コンディショナルノックインマウス（標的遺伝子の特定エクソンが 2 つの loxP 配列で挟まれた（flox）マウス。Cre リコンビナーゼの発現により、loxP 間で組換えが起こり、標的のエクソンが欠損する）の作製を試みた。Exo1 を添加して floxCol12a1 マウスの作製を試みたところ、上記と同様、およそ 35%のノックイン効率でコンディショナルノックインマウスを作製する事に成功した[7]。以上の結果から、Exo1 は MMEJ エンハンサーであり、PITCh システムとの組み合わせにより、長鎖遺伝学ツールノックインマウスやコンディショナルノックインマウスの簡便で効率的な作製を実現する事に成功した。PITCh システムでのドナーDNA の簡便な構築系は、ハイスループットで大規模なノックインマウス作製計画に有用な手法となる。

## ３．長鎖一本鎖 DNA

ノックインに用いられるドナーDNA の種類は、大きく二本鎖 DNA と一本鎖 DNA に分けられる。特に一本鎖ドナーDNA は二本鎖ドナーDNA よりも高いノックイン効率を示すことが以前の報告から知られている[8]。また標的ゲノム領域との相同配列は 60 塩基程度で十分である。しかしながら、一本鎖ドナーDNA は化学合成により作製される事が一般的であり、合成上の技術的限界から、その長さは 200 塩基までに限られている。このため、一本鎖ドナーDNA の用途は、点変異やごく短いペプチドタグなどのノックインに限られてきた。従って、1000 塩基以上の長さが一般的な遺伝学的センサー等の遺伝学ツールのノックインには、二本鎖ドナーDNA 以外の選択肢はなかった。一方で、近年の研究からは、酵素学的な手法を用いる事で、1000 塩基以上の長さの一本鎖ドナーDNA を効率的に作製可能であり、ノックイン動物の作製に応用可能であることが示されつつある[9,10]。そこで本研究では、長鎖一本鎖ド

ナーDNA を用いて、遺伝学ツールノックインマウスやコンディショナルノックインマウスの作製を試みた。

長鎖一本鎖ドナーDNA 自体でノックイン効率は高まることが知られている。しかしながらマウス受精卵で、mRNA をベースとする古典的なCRISPR と長鎖一本鎖ドナーDNA を組み合わせてノックインマウスを試みたところ、その効率は低いものであった（未発表）。そこで我々はクローニングフリーCRISPR と長鎖一本鎖ドナーDNA を組み合わせる事で、ノックイン効率を大きく高められるのではないかと考えた（図２）。

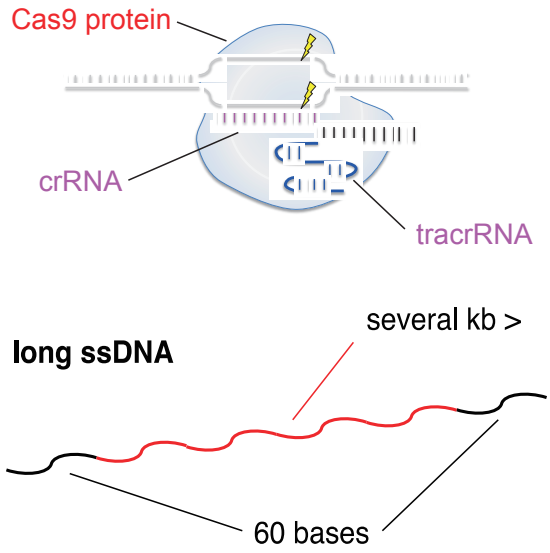



**図2　長鎖一本鎖ドナーDNA とクローニングフリーCRISPR**
**上図）クローニングフリーCRISPR。Cas9 タンパク質と 2 つの RNA（crRNA と tracrRNA）を組み合わせる。下図）長鎖一本鎖ドナーDNA。酵素学的手法により数千塩基の配列（赤）を持つ長鎖一本鎖ドナーDNA が作製可能である。標的ゲノム領域との相同配列は 60 塩基程度で良い。**

このクローニングフリーCRISPR と長鎖一本鎖ドナーDNA の組み合わせにより、コンディショナルノックインマウスの作製を試みた。その結果、最大 100%の効率でコンディショナルノックインマウスを作製する事に成功した [11]。さらにCre リコンビナーゼ等の遺伝学ツールを試みたところ、同様にノックインマウスを作製する事に成功した [11]。クローニングフリーCRISPR と長鎖一本鎖ドナーDNA の組み合わせによるノックインマウスの作製を 10 以上の遺伝子座で検証した結果、そのノックイン効率は標的遺伝子により大きく異なるものの、およそ数十%の効率でノックインが可能であった [11]。以上の結果から、クローニングフリーCRISPR と長鎖一本鎖ドナーDNA の組み合わせにより、遺伝学ツールノックインマウスやコンディショナルノックインマウスの簡便で効率的な作製を安定的に実現する事に成功した。

## まとめ

本研究では、これまでノックインマウス作製に用いられてきた古典的なターゲティングベクターに代わり、2 つの新たなドナーDNA: 1）増強PITCh システム、および２）長鎖一本鎖ドナーを開発した。そしてこれをクローニングフリーCRISPR と組み合わせる事により、簡便で高効率なノックインマウス作製を実現した。これらの手法を用いる事により、様々な遺伝学的センサーのノックインマウスが容易に作製可能になる。また我々はセンサーのみならず、カルシウム濃度制御ツール等のノックインによる生体情報への積極的介入も可能であることを示している。本研究により開発された種々のノックイン技術は、今後、これらのノックインマウスを用いた、生きた動物個体での生体情報の計測の基盤となるものであり、生体情報計測分野の発展に大きく寄与する事が期待される。

## 謝辞

本研究は公益財団法人中谷医工計測技術振興財団奨励研究助成の支援により実施された。中谷医工計測技術振興財団、東京医科歯科大学・難治疾患研究所・分子神経科学分野及び遺伝子組換えマウス実験室の関係諸氏、及び国内外の共同研究者諸氏に感謝申し上げます。

## 参考文献


1) Huang, Z. J. & Zeng, H. Genetic approaches to neural circuits in the mouse. *Annu. Rev. Neurosci.* **36,** 183–215 (2013).

2) Yang, H. *et al.* One-step generation of mice carrying reporter and conditional alleles by CRISPR/Cas-mediated genome engineering. *Cell* **154,** 1370–1379 (2013).

3) Smalley, E. CRISPR mouse model boom, rat model renaissance. *Nat. Biotechnol.* **34,** 893–894 (2016).

4) Cohen, J. Mice made easy. *Science* **354,** 538–542 (2016).

5) Aida, T. *et al.* Cloning-free CRISPR/Cas system facilitates functional cassette knock-in in mice. *Genome Biol.* **16,** 87 (2015).

6) Nakade, S. *et al.* Microhomology-mediated end-joining-dependent integration of donor DNA in cells and animals using TALENs and CRISPR/Cas9. *Nat. Commun.* **5,** 5560 (2014).

7) Aida, T. *et al.* Gene cassette knock-in in mammalian cells and zygotes by enhanced MMEJ. *BMC Genomics* **17,** 979 (2016).

8) Chen, F. *et al.* High-frequency genome editing using ssDNA oligonucleotides with zinc-finger nucleases. *Nat. Methods* **8,** 4–8 (2011).

9) Yoshimi, K. *et al.* ssODN-mediated knock-in with CRISPR-Cas for large genomic regions in zygotes. *Nat. Commun.* **7,** 10431 (2016).

10) Miura, H., Gurumurthy, C. B., Sato, T., Sato, M. & Ohtsuka, M. CRISPR/Cas9-based generation of knockdown mice by intronic insertion of artificial microRNA using longer single-stranded DNA. *Sci. Rep.* **5,** 12799 (2015).

11) Quadros, R. M. *et al.* Easi-CRISPR: a robust method for one-step generation of mice carrying conditional and insertion alleles using long ssDNA donors and CRISPR ribonucleoproteins. *Genome Biol.* **18,** 92 (2017).

# 基礎代謝時の深部体温を日常的に測定するための胃酸駆動飲み込み型体温計の開発

研究責任者　東北大学　大学院工学研究科
特任准教授　　吉田　慎哉

## １．はじめに

基礎代謝時の基礎体温を日常的にモニタすることは、女性の排卵周期把握や、感染症、不眠症、認知症といった様々な疾病の早期発見にとって重要であると考えられている。しかし、基礎体温の測定は安静状態での計測が必須となるため、通常の体温計では測定精度の確保が原理的に難しい。

飲み込み型の深部体温計は、上記の問題を解決するための有力なデバイスであり、これまでにカプセル型の深部体温計が開発されている[1)、2)]。しかし、既存のデバイスは、生体安全性の視点で致命的な問題を有している。それは、ボタン電池を内蔵していることである。万が一、ボタン電池が体内で露出した場合、放電電流や有毒な電解液による体腔内壁粘膜損傷といった重大なリスクが生じる。また、センサ外径や長さは電池サイズによって律速されており[3)]、既存のカプセル型デバイスのサイズは、長さ約 20mm、直径約 10mm となっている。ボタン電池の存在が、体内でのセンサの滞留・狭窄リスクの最小化に重要なセンサの小型化を妨げる一因となっている。

この課題に対して、我々は胃酸発電を利用して、睡眠中に深部体温を計測する飲み込み型デバイスを提案している[4)]。胃酸発電を採用することで、上記の問題を解決できるだけでなく、デバイスの製造後、長期間の品質保証が可能となり、物流・保管の両面での制約が緩和され、広範に流通できる商品となりうる。さらに、センサ利用後の廃棄環境負荷が著しく軽減されることも副次効果として期待できる。

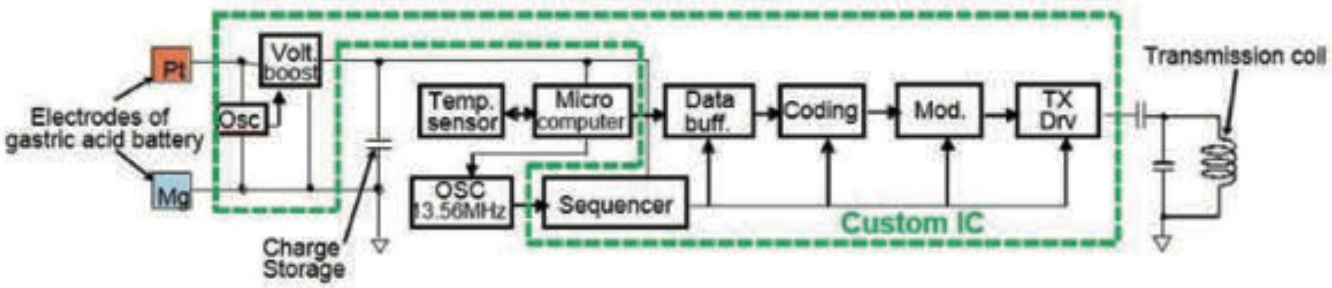
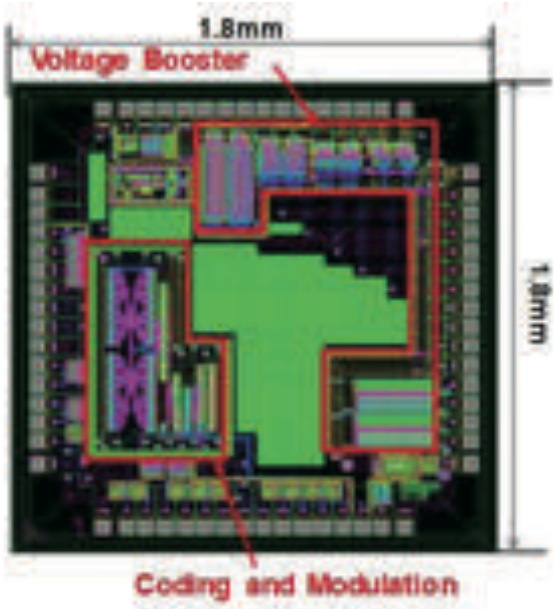



図1　飲み込み型深部体温計のシステム概略図

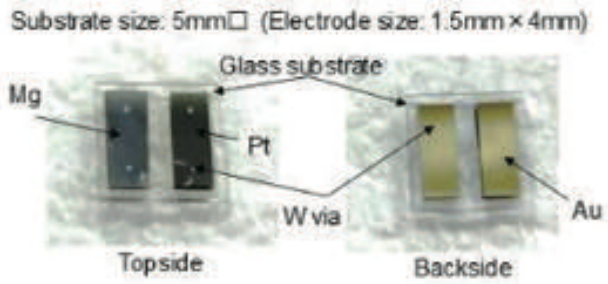



(0.6μm, 5V / CMOS)

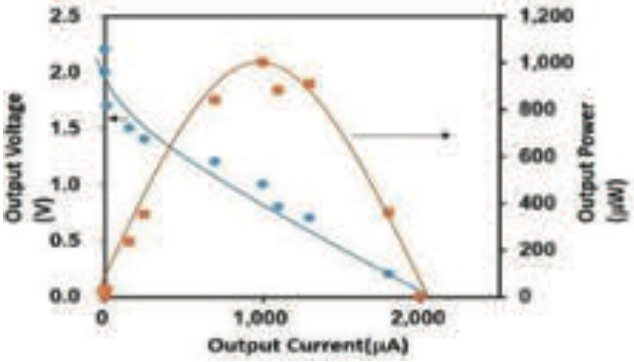
図2　コンセプト検証用カスタム IC の外観

胃酸発電を利用した飲込みデバイスは古くから知られており [5]、近年でも服薬管理デバイス [6] や胃内への長期留置を前提にした飲込みデバイス [7]の報告がある。一方、胃酸そのものを電解質としてキャビティ内に設けた多孔質セラミックフィルタに取り込む構造の電池の提案 [8]もなされている。しかし、これらはいずれもデバイスの発電電極が胃酸に浸漬されている状態を前提としており、発電が実質的に停止する十二指腸以降の小腸および大腸内での動作は考慮されていない。胃部平均通過時間は１時間程度であるので [9]、我々の目標である「睡眠中の深部体温の計測」を実現するには胃酸発電環境喪失後も、数時間にわたりデバイスへのエネルギー供給を可能にする必要がある。

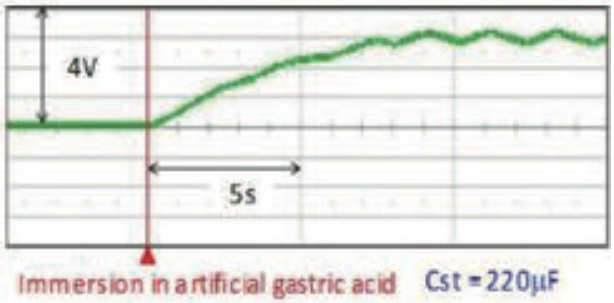
我々は、胃酸発電した電荷を、昇圧回路を介して積層セラミックスコンデンサ（MLCC）に蓄電することで、胃を通過後の腸内においても深部体温測定が可能なシステムを提案する。本研究では、まず各機能要素の妥当性を実証する。次に、それらを結合した小型実装基板を用いてコンセプト検証用のシステムを構築し、基本動作を確認する。これにより、胃酸電池駆動飲み込み型深部体温計の小型化、および実現可能性を実証する。




(a) ガラス貫通配線基板に形成した Mg-Pt 薄膜胃酸電池




(b) 試作した胃酸電池の発電特性

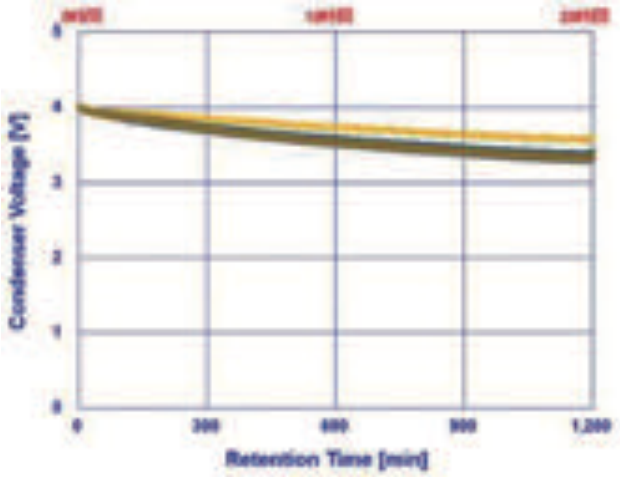



(c) 昇圧・蓄電特性

図3　昇圧･蓄電性能検証結果

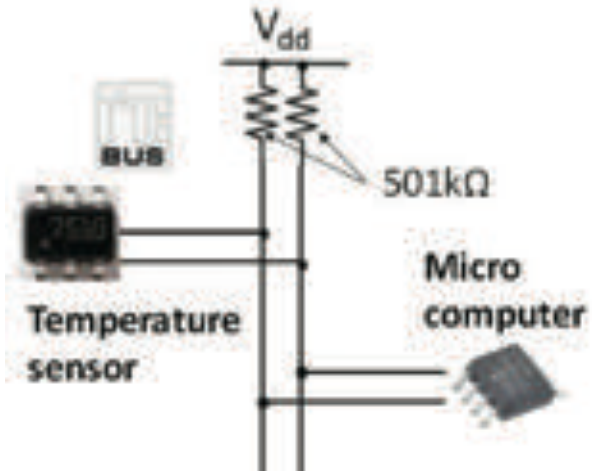
## ２．システム設計と機能要素予備検証

図１に、我々がコンセプト検証用に設計した飲み込み型深部体温計のシステム概略図を示す。まず、胃酸電池の発電出力によって共振回路を動作させる。これを用いて昇圧回路を駆動させて MLCC に電荷を貯める。この電気エネルギーを用いて、マイコンを駆動し、温度センサへの電力を供給する。そして、取得した温度データをデータバッファに格納、符号化、変調し、LC タンクを用いて体外受信器にデータを送信する。

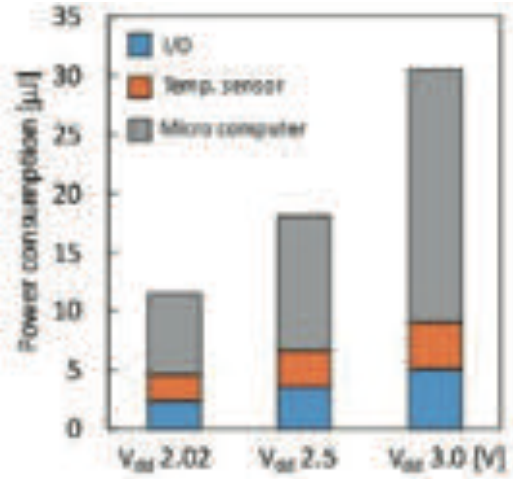



220μF/6.3V 品<3216 サイズ>, 評価数 n=10

図4　MLCC の長時間電荷保持特性(室温)




(a) 計測部インターフェース




(b) 一回の測温当たり消費エネルギー

図5　測温部構成と消費エネルギーの評価

このセンサシステムを成立させるために、電源系、センシング（測温）処理、RF 伝送の 3 ブロックにつき、予備設計を行い、所望性能の確認実証実験を行った。なお上記 3 ブロックの一部は、低消費電力化と小型化を目的としてカスタム IC で機能実現している（図 1 緑破線内）。設計・試作したコンセプト検証用カスタム IC の外観を図 2 に示す。ダイサイズは 1.8mm 角である。

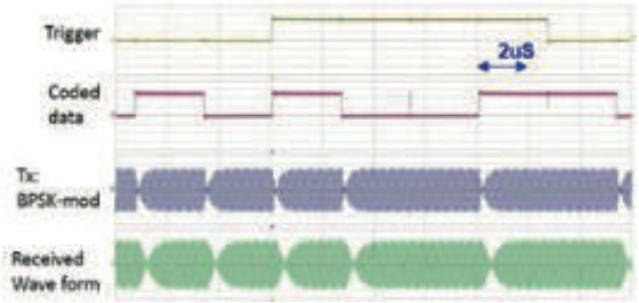
〈2･1〉電源系　　前述のとおり、胃酸発電は、胃部通過後、実質的に停止する。また、発電用電極の材料・寸法にも依存するが、発電圧・電流の安定化が困難である。これらの課題がシステム動作に与える制約を最小化するために、胃酸電池の出力を回路で昇圧し、昇圧した電荷を MLCC に蓄積する電源系を検討した。後段のセンシング処理、高周波（RF）伝送を IC 処理で実現することを考慮すると、3V 程度の充電電圧を達成することが目標となる。

予備検討として、発電電極材料に Mg と Pt を用いた胃酸電池を MEMS 技術によって作製した（図 3 (a)）。貫通配線ガラス基板上の表面に、これらの薄膜をスパッタ法により形成した。また、裏面には、はんだ実装用の Au 電極を形成した。チップ状にすることで、電子部品と同様にハンドリングし、プリント基板に表面実装できるようにした。この胃酸電池を人工胃液に浸漬し、その発電特性を評価した（図 3 (b)）。その結果、出力電圧が約 0.9V のときに電力は最大化し、約 1mW に達した。

次に、この発電電力を昇圧回路への入力とし、回路出力に接続した容量 220μF の MLCC を充電した。カスタム IC 上に設計した昇圧回路は、低電圧から発振できるリング発振回路とインダクタが不要な Cross-Gate-Voltage- Multiplier[10]の 4 段縦続接続で構成されている。本方式は大型外付け部品が不要で小型実装に適した組み合わせである。実験結果を図 3 (c)に示す。胃酸電池を人工胃液に浸漬された後、約 10 秒程度で、コンデ

ンサの充電電圧が 3V 程度にまで到達することが確認された。

一方、胃部でコンデンサに充電された電荷は、その後のセンシング動作を可能とするために、体から排泄されるまでの 10 数時間にわたり充電電荷を保持することが必要となる。一般に、積層セラミックコンデンサ(MLCC)は回路のバイパスコンデンサやリップル除去の目的で利用され、長時間の電荷保持は想定されていない。このため部品としての実力確認のため、大容量 MLCC における電荷の長時間保持特性を測定した。結果を図４に示す。初期電圧として 4V に充電した端子電圧を 10GΩ以上の入力抵抗で連続モニタした。室温で 20 時間放置後のコンデンサ電圧は、3.2V 以上の値が保持されており、充電電荷数では 80%以上が保持される実力であることが判明した。したがって、MLCC は体内で 10 数時間のセンサ駆動を実現するためのエネルギー蓄積用に充分利用できることが検証できた。




Data rate: 188kHz, $f_c$ = 12MHz

図6　データ符号化・変調方式検証

〈2･2〉センシング(測温)処理　　本システムでは、測温データの取得、シリアルデータ伝送のための符号化、および搬送波の変調を、温度センサ、マイコン、カスタム IC の 3 つの IC で実現する。測温パラメータの変更や異種センサ搭載時のシステムフレキシビリティを確保するために、汎用低消費電力マイコン（マイクロチップ・テクノロジー社 PIC16LF1503）に I²C インターフェースを介して、汎用低消費電力・デジタル温度センサ(TI 社 TMP112)を接続する構成を採用した。一方、RF 伝送のためのデータ符号化と変調は、カスタム設計した IC のハードウェアで実現する。これは、搬送周波数が後述の様に 10MHz 以上となるため、符号化・変調をソフトウェアで実現することは、消費電力面での課題が大きく採用は困難と判断したためである。

提案した測温部での消費エネルギーの検証結果を図５に示す。I²C インターフェースにおけるプルアップ抵抗を 501kΩ としたとき、1 回の測定あたりの消費エネルギー量は 10～30μJ であった。この値は、図３の検証実験で胃酸発電により昇圧され、MLCC に蓄電されたエネルギー量の 3%以下である。プルアップ抵抗をさらに大きくすることで、エネルギー消費量をより抑制できることも期待される。以上より、本構成による体内温度の間欠測定は、エネルギー収支上可能であることが結論づけられた。

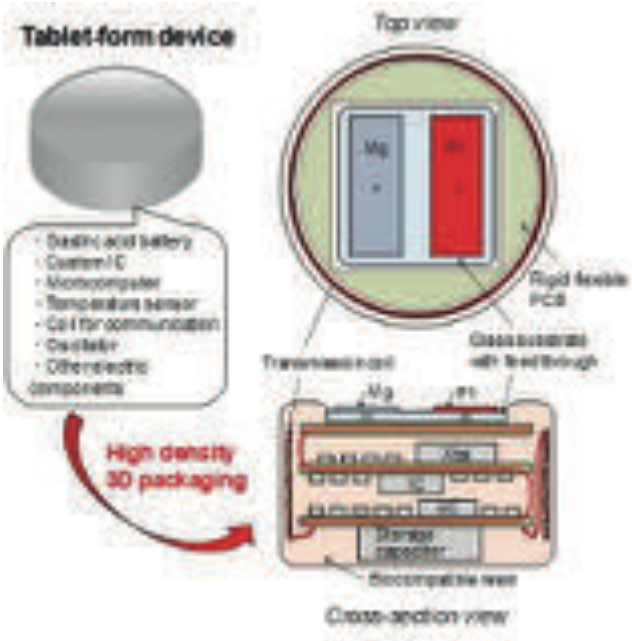



図7　目標実装形態の一例

なお、技術的には、カスタム IC 部分にマイコン・温度センサ部分を加えてワンチップ LSI とすることも可能である。しかしながら、この場合、カスタム IC のチップ面積が増大し、製造可能な

プロセスも限定されるため、シングルユースデバイスが要求するコストを実現できない可能性が極めて高い。このため我々は、消費電力とハードウェア原価のバランス設計を行い、図１に示すシステム構成に決定した。

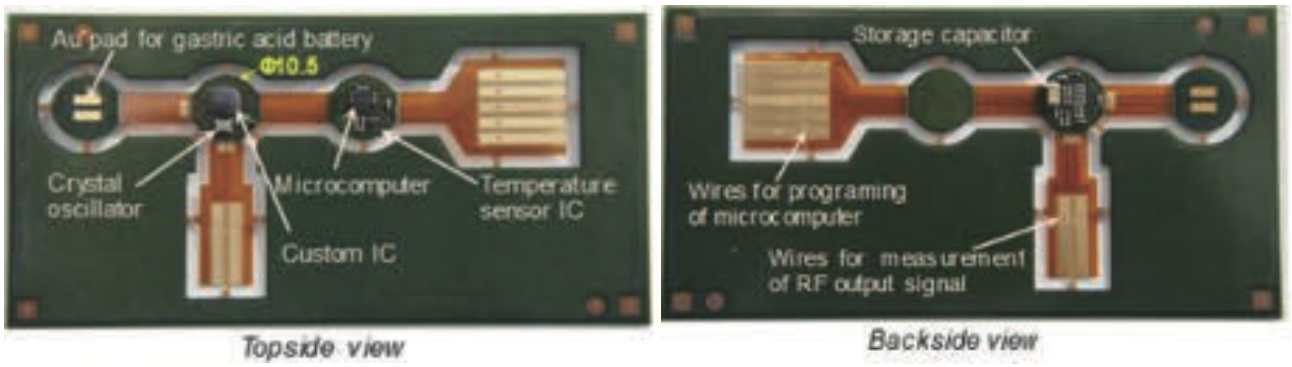



図8　コンセプト実証用の小型実装基板

〈2･3〉RF 伝送　　飲み込み型深部体温計は、主要消化管(胃・小腸・大腸)の通過を想定しているため、通過部位や内壁との接触状態に依存しない通信方式が必須となる。よって、通信のロバスト性確保の視点からは、電磁波(RF)通信が唯一の選択肢となる。また、低消費電力での動作が必須のため、通信エネルギーの生体吸収損失を最小化することも要求される。電磁波の生体吸収は、サブ GHz 領域から高周波数領域で急激に損失が増大することが知られており、吸収損失最小化の視点からは、低い周波数の選定が望ましい。一方、低周波数では電磁波の波長が長くなるため、送信アンテナを小型化すると効率が低下するという課題がある。我々は以上の背景を考慮し、本研究では、搬送波周波数として 13.56MHz を用いた電磁結合通信を選定した。

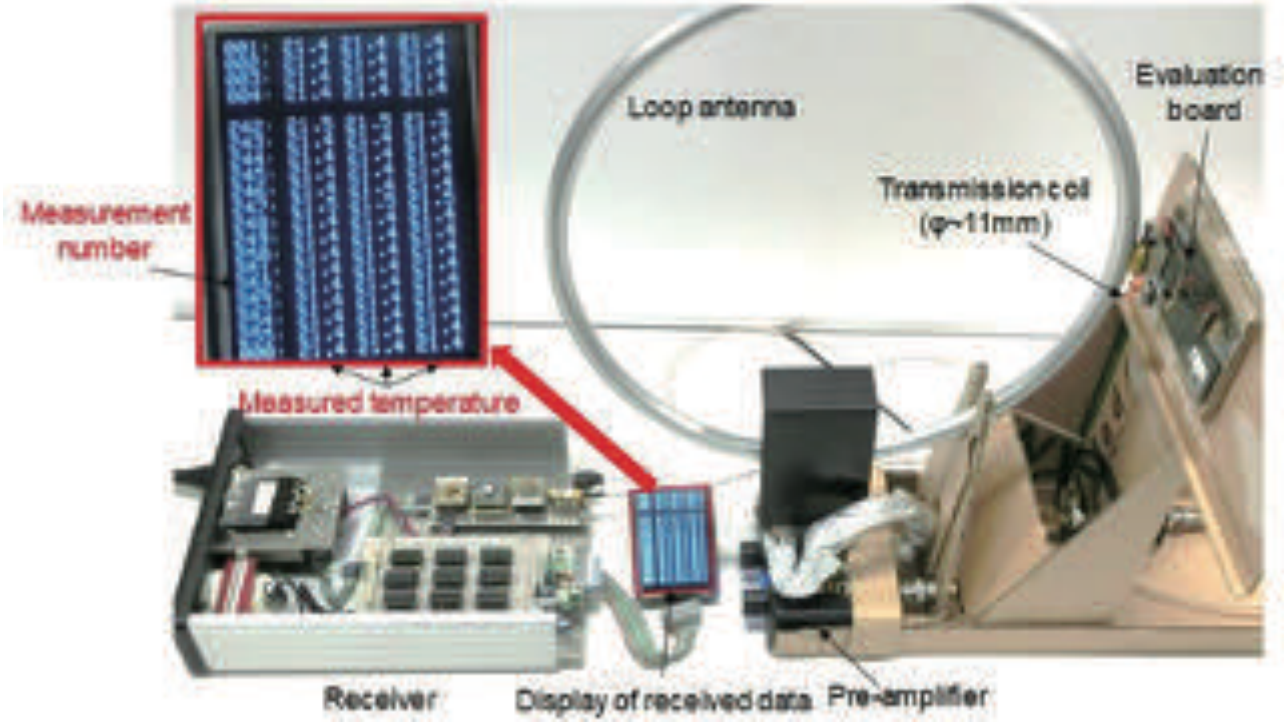



図9　測温データの電磁気結合通信実験

また、符号化方式と変調方式は、小規模・省電力でカスタム IC 化が可能な、マンチェスター符号化と二位相偏移変調（BPSK)を採用した。送信出力部には共振回路を採用し、駆動電力損失の最小化を図っている[11]。図６にデータ送信部の機能確認結果を示す。１回の計測で送信する温度データ量は数バイトと極めて小さいため、RF の予備発振やプリアンブル等を含め１回の送信に必要な時間は約 1ms と見積もられる。この場合、通信に必要なエネルギー量は、一回当たり約 3μJ であることを確認できた。

## ３．コンセプト実証

以上の通り、図１に示すシステム構成要素の妥当性が確認された事を踏まえ、必要要素を統合したコンセプト実証モデルを検討した。最終実装形態の目標を図７に示す。外形は、直径 8mm 程度の錠剤型を目指しており、基板と電子部品を内包し、錠剤形状表面に発電用金属電極が露出する構造を想定している。

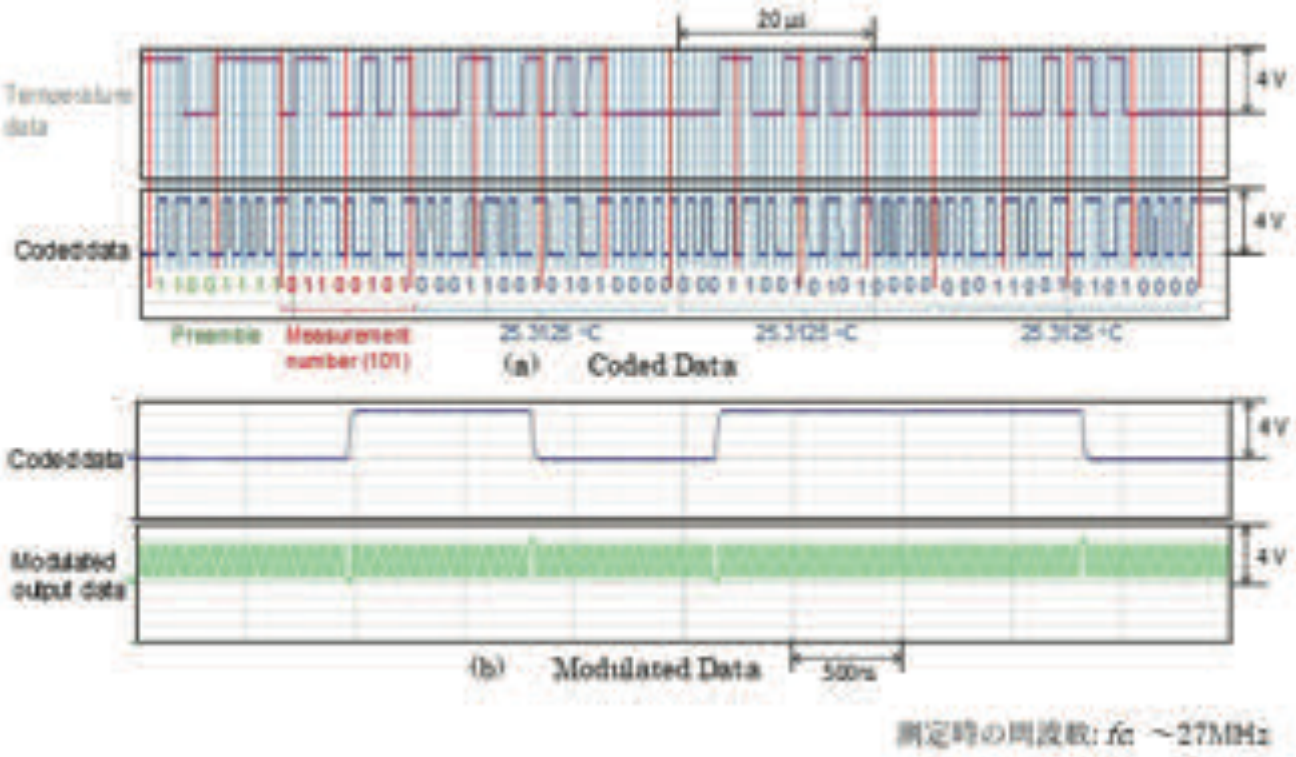



**図10　データ波形の例（a)測温データおよびマンチェスター符号化された波形（b）符号化データと伝送コイルを駆動する変調出力波形**

図８に、今回試作したコンセプト実証用の小型実装基板を示す。リジッド・フレキシブル基板を採用し、カスタム IC はワイヤーボンドによる COB 実装、その他 IC やチップ部品は SMT にて実装している。伝送用コイルは基板折り込み後に接続する工程を想定している。直径 10.5mm のリジッド基板３枚の面積に、全ての電子部品が収まっていることがわかる。試作した胃酸電池チップも、この円形基板内に収まる。より小さな部品を採用し、部品や配線のレイアウト、システムを最適化することで、さらに小型化することは可能である。したがって、錠剤サイズのデバイスの実現可能性が示唆された。

この実装検討基板を用いて、飲み込み型深部体温計の実証実験を行った。実験系の写真を図９に示す。中央部の輪がループアンテナ、右側が図８

に示した実装基板に伝送用コイルを接続した実証用モデル、左側が受診系となっている。左上に拡大した受信画面に受診した測温データが再生されていることが確認できる。コンセプト実証モデルの内部信号波形を図 10 に示す。図 10 (a)上段は、温度センサ・マイコンからの測温データをカスタム IC でデータレート変換した出力であり、下段は当該データがマンチェスター符号化された波形である。一方、図 10 (b)は符号化データと伝送コイルを駆動する変調出力波形であり、送信データが BPSK 変調されている事が確認できた。

今回の検証システムでは、1 回の測定に伴う伝送データ量は、プリアンブル(8bit)、測定回数 ID(8bit)、温度データ 3 回送出(16bit×3 回)の計 64bit であり、データ 1bit に搬送波 64 サイクルを割り当てるプロトコルとした。搬送波周波数が 13.56MHz のとき、プリアンブル前のダミー搬送波出力と併せた RF 出力時間は、1 回の測定データ伝送毎に約 600μs となり、予備検証で想定した所要時間: 1ms 以下での伝送動作が可能であることを確認した。

## ４．まとめ

本研究では、胃酸電池の電気エネルギーを用いて駆動する飲み込み型深部体温計のコンセプト実証を行った。実用化を想定し、製品安全性と現実的な商品性および製造原価を考慮したシステム設計を行い、予備検証により各機能要素の妥当性を実証した。さらに、検証済みの機能要素を結合し、小型実装基板上でのシステム基本動作を確認した。これにより、想定する用途に適用できる飲み込み型深部体温計の実現可能性を示すことができた。各機能要素およびシステムの最適化検討を進めることで、最終目標形態である小型錠剤形状に実装できると考えられる。本研究は、日常的に使用できる小型で安全な飲み込み型デバイスの実現に向けた大きな一歩となるだろう。

## 謝辞

本研究は,公益財団法人中谷医工計測技術振興財団の支援によって行われました。

## 参考文献

1) R. C. Eberhart, A. F. Hogrefe: “A commandable ingestible temperature monitor”, Proceedings of the Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, p.812 (1988)
2) “Bodycap, E—Celsius”, http://www.bodycap-medical.com/en/
3) 中村:「飲み込み型デバイスの歴史と最新動向」, IEEJ Journal, Vol.137 No.8,pp. 552-555 (2017)
4) S. Yoshida, H. Miyaguchi, T. Nakamura: "Feasibility study of ingestible sensor platform powered by gastric acid battery for daily health care", IEEE-NANO, 2016, pp. 724-727 (2016)
5) 村田程夫　他 :「pH 測定医用カプセルの新しい試み」, 医用電子と生体工学, Vol.8, No.4, p.296（1970）
6) H.Hafezi, et al.: "An Ingestible Sensor for Measuring Medication Adherence", IEEE TRANSACTIONS ON BIOMEDICAL ENGINEERING, VOL. 62,NO.1, pp.99-109 (2015)
7) P. Nadeau, D. El-Damak, D. Glettig, Y. L. Kong, S. Mo, C. Cleveland, L. Booth, N. Roxhed, R. Langer, A. P. Chandrakasan, and G. Traverso, “Prolonged energy harvesting for ingestible devices,” Nat. Biomed. Eng., vol. 1, pp. 22, (2017)
8) Hikaru Jimbo, Norihisa Miki: "Gastric-fluid-utilizing micro battery for

micro medical devices", Sensors and Actuators B 134, pp.219-224 (2008)

9) 日本保健物理学会:「ICRP 新消化管モデル専門研究会報告書（1）～ Publ.100 の解説」, 日本保健物理学会専門研究会報告書シリーズ, Vol.6 No.2 (2008)

10) Y.-R. Wang and Z.-G. Yu: “A high-efficiency cross-coupled charge pump for flash memories,” in 2010 2nd International Conference on Advanced Computer Control (ICACC), vol. 3, March 2010, pp. 130-133 (2010)

11) S.Itoh and S.Kawahito: "A low-power trnasmitter design for inductive data link with class-F switching operation", IEICE Electronics Express, 4(2), 42-47 (2007)

**発表論文**

1.吉田 慎哉, 宮口 裕, 中村 力,「胃酸電池によって駆動する低消費エネルギー小型飲み込み型深部体温計のコンセプト実証」, 第 9 回集積化 MEMS シンポジウム講演予稿集, 02am2-B-3

2. Shinya Yoshida, Hiroshi Miyaguchi, Tsutomu Nakamura, “Development of Basic System of Ingestible Core Body Thermometer with Small Size and Low Energy Consumption Powered by Gastric Acid Battery”, IEEE Sensors2017, 1181

# 平成 28 年度（第 33 回）
# 奨励研究助成　研究成果報告

インテグリンが生み出す力の定量評価を目指した超分子メカノプローブの開発

（北海道大学電子科学研究所　助教　相良　剛光）

無髄神経を検出する多点ラマン散乱計測法

（京都府立医科大学大学院医学研究科　助教　熊本　康昭）

ピエゾ抵抗型力センサによる微小量血液の粘度計測

（東京大学 IRT 研究機構　特任研究員　NGUYEN THANH VINH）

3 次元 CT 画像ガイド下インターベンションを実現するための血管治療用デバイスの開発

（岡山大学大学院保健学研究科　講師　渡辺　彰吾）

アミリンを標的とした近赤外／2 光子励起蛍光プローブの開発と糖尿病病態解明への応用

（京都大学薬学研究科　助教　渡邊　裕之）

膜タンパク質を材料とした新規細胞内電位計測法の開発

（東京工業大学工学院機械系　日本学術振興会特別研究員(PD)　榛葉　健太）

新規脳深部イメージング手法の開発と応用

（京都大学大学院薬学研究科　助教　永安　一樹）

超並列単一細胞プリンタの開発ーハイスループット細胞機能計測に向けて

（豊橋技術科学大学大学院工学研究科　講師　永井　萌土）

注１　顔写真は研究責任者です。

注２　所属等は助成研究実施時または執筆された当時のものです。

# インテグリンが生み出す力の定量評価を目指した超分子メカノプローブの開発

研究責任者　北海道大学　電子科学研究所
スマート分子材料研究
助　教　　相良　剛光

## １．はじめに

近年、機械的刺激が細胞の分化・分裂・細胞死などに深くかかわっていることが分かりつつあり、細胞が外部に力を及ぼすメカニズムや、外部から力を受けた時の細胞内シグナル伝達などを解明しようとする研究が世界中で盛んに行われている。機械的刺激はガンなどの疾患に関しても重要な因子の一つとなることが分かっており、細胞の機能と機械的刺激の相関関係に関する研究分野は、人類の健康的な社会の実現という観点からも、より一層発展することが容易に予想される。特に、細胞と細胞外マトリクス（ECM）の接着機構の解明は、ほぼすべての正常な接着性細胞が細胞接着斑を形成して ECM と接着し、そこで機械的な刺激のやり取りを外部と行っているため、非常に重要な研究ターゲットとなってきた[1)]。

これまでのプロテオミクスやイメージング技術の進歩により、細胞が ECM に接着する際は膜貫通タンパク質であるインテグリンが主要な役割を果たしており、タリンやビンキュリンなどの他の多数のタンパク質を介して細胞内のアクチンフィラメントとつながった構造を形成し、力を伝達していることが分かってきた。このように、細胞接着斑内の構成分子は次第に明らかになりつつあるが、その一方で、「インテグリンなどのレセプターが分子レベルで生み出す微細な力を、高精度かつ定量的にイメージングする技術」が、細胞が機械的刺激を生み出すメカニズムを解明する上で極めて重要な要素技術であるにもかかわらず、いまだ発展途上である。イメージングの分野ではこれまでに様々な蛍光プローブが開発され、生命現象の解明に多大な貢献をしてきた。にもかかわらず、分子レベルで機械的刺激を検出することに成功している蛍光プローブの報告例はいまだ限られている。これは、現状の技術では“機械的刺激”と“蛍光特性の変化”をうまくリンクさせることができていないためである。

最近、インテグリンユニット単体をターゲットとしたメカノ蛍光プローブがいくつか報告され始めている[2)-4)]。これらのメカノプローブは「ポリエチレングリコール鎖やペプチド鎖を単純に水中で伸ばす際に必要な力」と「導入されたクロモファー間の共鳴エネルギー移動効率」との相関関係を利用しているものであり、極めて小さい力（数 pN）を評価している。しかし、ある一定以上の力を印加するとポリマー鎖が完全に伸び切ってしまい、それ以上の力を定量評価することができない。最近、インテグリンが生み出すと想定される力の範囲は数 pN~150pN 程度であることが報告され[5)]、この力の範囲をカバーする定量的

な蛍光イメージング法が求められている。一方で、単一の蛍光団内の共有結合を機械的刺激により切断することでも蛍光特性の変化を達成することができると考えられるが、共有結合を切断するには非常に大きい機械的刺激（数 nN）が必要であり、単一のインテグリンが生み出す程度の力では切断できないため、このアプローチは使用できない。

我々はこれまでに機械的刺激に応答して発光特性が変化する分子集合体に関する研究を行ってきた[6)-15)]。それらの材料は機械的刺激により分子集合構造が変化し、発光部位の相関配置が変化することで材料全体の発光特性の変化を達成している。原理的には共有結合を切断する必要がないため、細胞が生み出すような微細な力の可視化ツールとしては極めて有用なはずである。しかし、そのような微細な力を検知できるほど鋭敏で、かつ汎用性がある材料はいまだに開発されていない。これは、個々の発光部位の相関配置を機械的刺激により分子レベルで変化させる際に、その分子レベルからみれば非常に大きく、膨大な数の分子で構成される微結晶や、液晶のドメイン全体に力を印加する必要があるからである。結果として、材料全体の発光特性を変えるために必要な力が相対的に大きくなってしまう。以上の考察を踏まえ、我々は数年前、二十個程度のダンベル状の両親媒性分子用いて機械的刺激に応答して発光色が変化するミセルを開発した[16)]。このミセルは、他の材料に共有結合を介して導入でき、例えばガラスビーズの表面に導入した場合、水中で振とうするだけでガラスビーズ同士がぶつかり、表面に導入されたミセルに機械的刺激が印加され、ビーズ全体の発光色変化が確認された。すなわち、機械的刺激に応答するユニットを構成する分子数を減らすことで、発光色変化に必要な力を大幅に抑えることに成功した。しかし、それでもなお、細胞などに印加される極めて微小な機械的刺激を検知するには至らなかった。

## ２．内容

以上の背景を踏まえ、最近我々は、超分子化学の分野で長年研究されてきたインターロック分

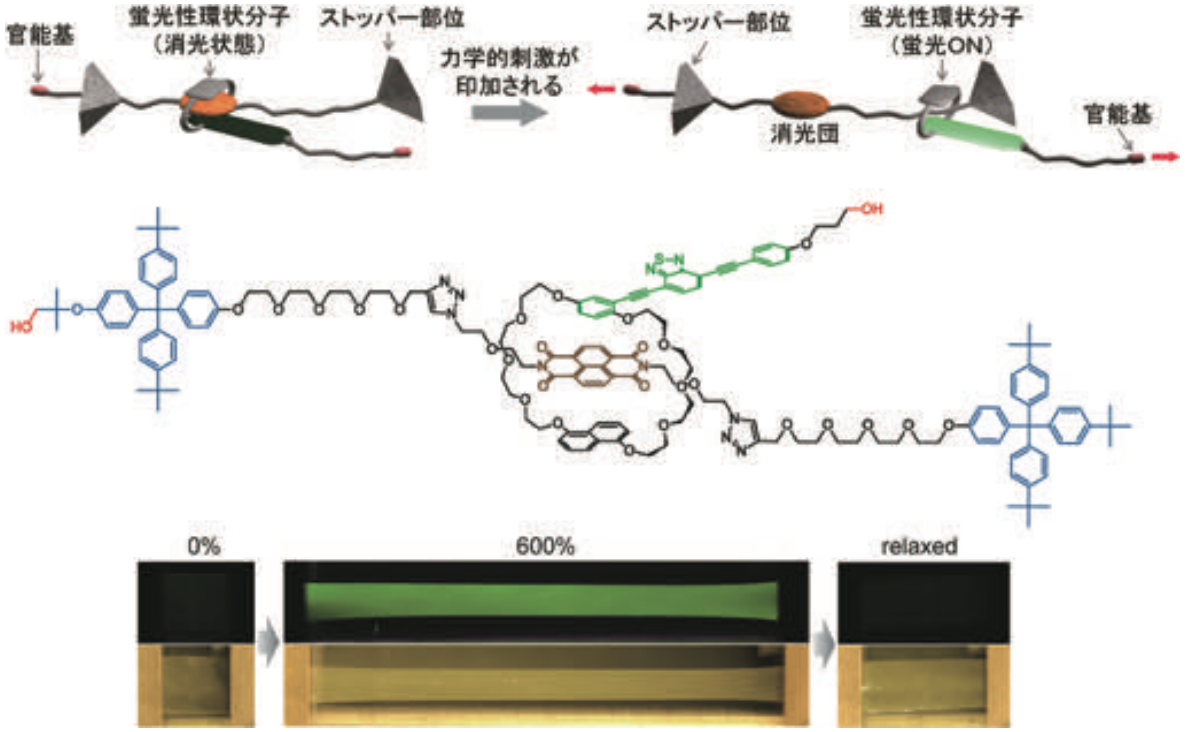



図1　ロタキサン型超分子メカノルミノフォアの動作原理（上段）、具体的な分子骨格（中段）、作製したポリウレタンフィルムが伸縮により蛍光を ON/OFF スイッチングする様子（下段）

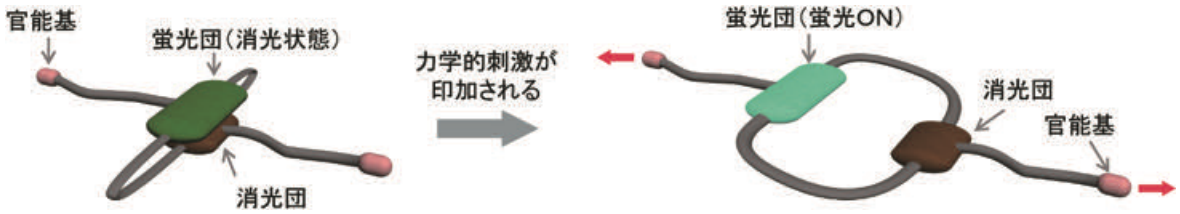


図2　シクロファン型超分子メカノルミノフォアの動作原理

子の一つであるロタキサンを最小構成分子数の分子集合体とみなし、全く新しい動作原理に基づく機械的刺激応答性発光材料を構築した（図１）[17]。開発した"超分子メカノルミノフォア"とも呼ぶべきロタキサンは、発光部位を持つ環状分子（シクロファン）と、消光団と立体的にかさ高いストッパー部位からなるロッド状分子で形成される。機械的刺激が印加されていない状態では、消光団がシクロファンに包摂され、シクロファンからの発光は完全に消光される。しかし、いったん機械的な刺激が加わると、シクロファンが消光団からスライドして離れ、その結果、シクロファン由来の発光が消光されず、強い蛍光が観察されるようになる。このロタキサンの特徴は、ロタキサンを構成するたった二つの分子で機械的刺激による発光特性変化が達成できる点、そして、ロタキサンを構成する二つの分子が共有結合を介して連結されていないので、共有結合を切断することなく小さな力で消光団をシクロファンより離すことができ、発光を ON 状態にできる点にある。また、ストッパー部位、およびシクロファンには柔軟なポリマー鎖などを共有結合を介して導入するための水酸基が導入されており、ポリマーからの機械的刺激が直接ロタキサン部位に効率よく伝達される仕組みとなっている。実際にポリウレタンを共有結合を介して導入して作製したフィルムは、繰り返し伸縮により発光を ON/OFF スイッチングできる画期的材料となった。このロタキサン型超分子メカノルミノフォアでは、機械的刺激に応答する分子集合体ユニットの構成分子数が 2 分子のみであるため、極めて小さな力で発光特性を変化させることができるはずである。しかし、図１のロタキサンは合成が煩雑であり、最終化合物までに 30 ステップが必要となり、今後様々な材料に適用していく際には実用的とは言いにくい。

そこで本研究では、ロタキサンより簡単な構造を持つ超分子メカノルミノフォアを作成することを目的として、シクロファンの環状構造に着目した。具体的なシクロファン型メカノフォアの動作原理を図２に示す。この環状構造には電子ドナー性の蛍光団と電子アクセプター性の消光団が一つずつ導入されており、柔軟なリンカー鎖で連結されている。また、蛍光団、および消光団には、引っ張る力が直接伝わるように末端に官能基を持つリンカーがそれぞれ一本ずつ導入される。この分子構造により、力が印加されない状態では、蛍光団と消光団が電荷移動相互作用により会合し、蛍光団からの蛍光が消光団により消光される。しかし、いったん機械的刺激が印加されると、蛍光団から消光団が離れ、メカノフォアは強蛍光状態となる。

## ３．成果

### 3.1　分子設計と合成ルートの確立

今回設計したシクロファン型超分子メカノルミノフォアの分子構造を図３に示す。このシクロファン１は発光部位として 9、10-bis(phenylethynyl) anthracene 骨格を持ち、消光団としてニトロベンゼンを持つ。消光団と蛍光団はテトラエチレングリコール鎖で連結されており、さらに、消光団と蛍光団には末端に水酸基を持つアルキル鎖が導入されている。実際に行った合成スキームを Scheme1 に示した。当初テトラエチレングリコール鎖ではなく、より長いヘキサエチレングリコール鎖を使用することを検討していたが、各ステッ

プでの精製が煩雑となり、テトラエチレングリコール鎖を用いる分子設計とした。他にもいくつかの合成ルートを試みたが、高収率で目的物を得ることができなかった合成スキームも多かった。今回開拓した Scheme1 に示した合成ルートは、比較的容易にかつ収率良く行えるため、今後類似のシクロファン構造を得る際には非常に有益であると考えられる。

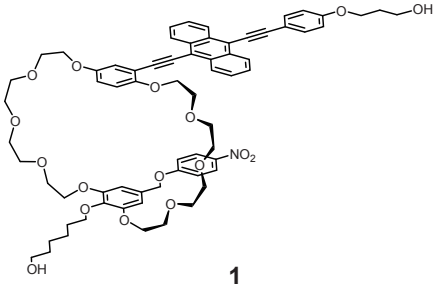
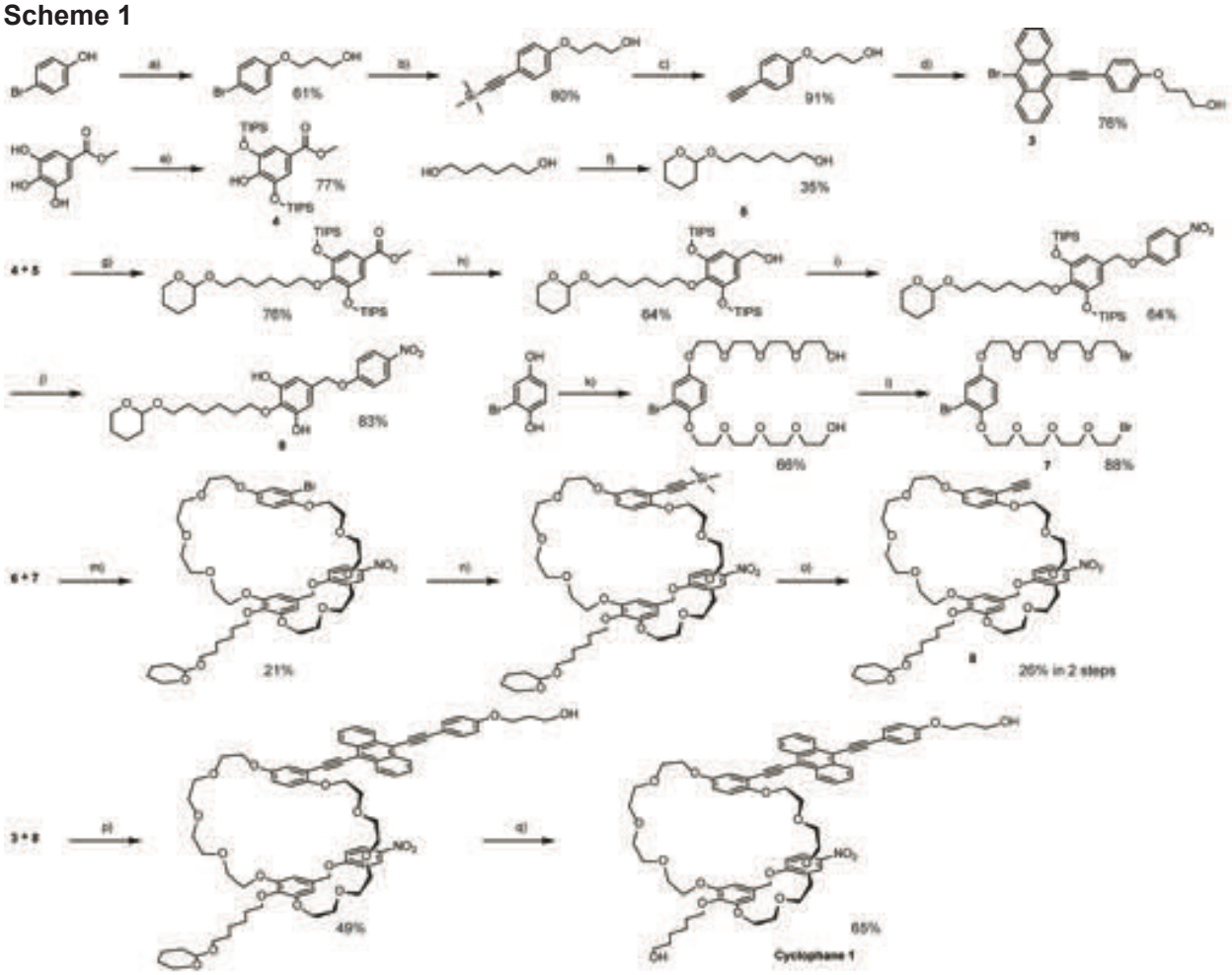



図3　本研究で設計・合成したシクロファン1

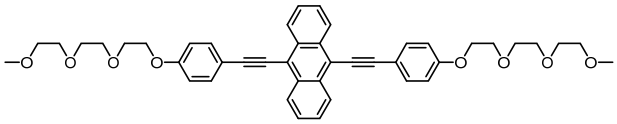
### 3.2　シクロファン 1 の物性評価

得られたシクロファン 1、及びリファレンス化合物 2（図４）の吸収・蛍光スペクトル測定を行った（図５）。1 の吸収スペクトルでは、400 ~500 nm の波長領域の吸収帯がリファレンス化合物と大幅に異なることがわかった。これは蛍光団が基底状態で消光団であるニトロベンゼン部位と相互作用をしていることを意味している。一方で蛍光スペクトルでは、リファレンス化合物と同じ 498、524nm にピークが観察され、強度が 25% 程度に減少することがわかった。シクロファン 1 では蛍光団からの蛍光が完全には消光されなかったものの、分子設計指針はおおよそ問題ないことが示されたと考えている。

**Scheme 1**




Conditions: a) $K_2CO_3$, DMF, 80 °C, 24 h; b) trimethylsilylacetylene, $Pd(PPh_3)_4$, CuI, $Et_2NH$, THF, 70 °C, 18 h; c) TBAF, THF, r.t., 2h; d) $Pd(PPh_3)_4$, CuI, $Et_2NH$, THF, 70 °C, 23 h; e) TIPSCl, $Et_3N$, DCM, r.t., 5 h; f) 3,4-dihydro-2*H*-pyran, PPTS, DCM, r.t., 12 h; g) $PPh_3$, DIAD, toluene, 0 °C → r.t., 12 h; h) $LiAlH_4$, THF, 0 °C → r.t., 3 h; i) $PPh_3$, DIAD, toluene, 0 °C → r.t., 8 h; j) TBAF, THF, 0 °C → r.t., 2 h; k) $K_2CO_3$, LiBr, MeCN, 80 °C, 12 h; l) $PPh_3$, $CBr_4$, DCM, 0 °C → r.t., 4 h; m) $K_2CO_3$, DMF, 80 °C, 36 h; n) trimethylsilylacetylene, $Pd(PPh_3)_4$, CuI, $Et_2NH$, THF, 70 °C, 18 h; o) TBAF, THF, r.t., 2h; p) $Pd(PPh_3)_4$, CuI, $Et_2NH$, THF, 70 °C, 24 h; q) TFA, MeOH, r.t., 1 h.



2

図4　リファレンス化合物2の分子骨格

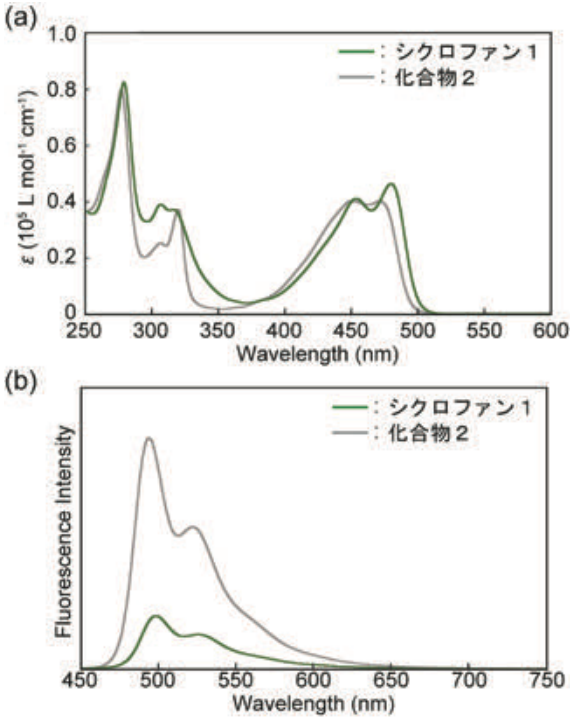



図5　化合物1及び2のクロロホルム溶液の
(a)吸収スペクトルと(b)蛍光スペクトル

## 4．まとめ

本研究では、ロタキサン型超分子メカノルミノフォアよりも単純な構造を持ち、汎用性が高いと考えられるシクロファン型メカノルミノフォアを創製するための第一ステップとして化合物1を設計・合成し、溶液中で蛍光団がどの程度消光団に消光されるかを精査した。残念ながら溶液中ではリファレンス化合物の蛍光強度と比較して25％程度の蛍光強度が観察される結果となったが、今後消光団を変更ないし、分子骨格自体を変更することで機械的刺激を印加する前の蛍光強度を限りなく0に近づけることができると考えている。


## 謝辞

本研究は中谷医工計測技術振興財団の助成により行われた。採択して頂いた当時は、助教として新しく着任して間もなく、本助成により実験に必要不可欠な装置を買うことができた。また、シクロファン型メカノルミノフォアの開発においても今後の研究に向けて基礎的な知見を数多く得ることができ、大変感謝している。


## 参考文献


1) B. Geiger, J. P. Spatz, A. D. Bershadsky, *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* **2009**, *10*, 21-33.

2) D. R. Stabley, C. Jurchenko, S. S. Marshall, K. S. Salaita, *Nat. Methods* **2012**, *9*, 64-67.

3) M. Morimatsu, A. H. Mekhdjian, A. S. Adhikari, A. R. Dunn, *Nano Lett.* **2013**, *13*, 3985-3989.

4) Y. Chang, Z. Liu, Y. Zhang, K. Galior, J. Yang, K. Salaita, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 2901-2904.

5) K. Galior, Y. Liu, K. Yehl, S. Vivek, K. Salaita, *Nano Lett.* **2016**, *16*, 341-348.

6) Y. Sagara, T. Kato, *Nat. Chem.* **2009**, *1*, 605-610.

7) Y. Sagara, S. Yamane, M. Mitani, C. Weder, T. Kato, *Adv. Mater.* **2016**, *28*, 1073-1095.

8) Y. Sagara, T. Mutai, I. Yoshikawa, K. Araki, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 1520-1521.

9) Y. Sagara, T. Kato, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 5175-5178.

10) Y. Sagara, S. Yamane, T. Mutai, K. Araki, T. Kato, *Adv. Funct. Mater.* **2009**, *19*, 1869-1875.

11) Y. Sagara, T. Kato, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 9128-9132.

12) Y. Sagara, T. Komatsu, T. Ueno, K. Hanaoka, T. Kato, T. Nagano, *Adv. Funct. Mater.* **2013**, *23*, 5277-5284.

13) Y. Sagara, A. Lavrenova, A. Crochet, Y. C. Simon, K. M. Fromm, C. Weder, *Chem. Eur. J.* **2016**, *22*, 4374-4378.

14) Y. Sagara, K. Kubo, T. Nakamura, N. Tamaoki, C. Weder, *Chem. Mater.* **2017**, *29*, 1273-1278.

15) Y. Sagara, C. Weder, N. Tamaoki, *Chem. Mater.* **2017**, *29*, 6145-6152.
16) Y. Sagara, T. Komatsu, T. Ueno, K. Hanaoka, T. Kato, T. Nagano, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 4273-4280.
17) Y. Sagara, M. Karman, E. Verde-Sesto, K. Matsuo, Y. Kim, N. Tamaoki, C. Weder, *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 1584-1587.

# 無髄神経を検出する多点ラマン散乱計測法

研究責任者　京都府立医科大学　大学院医学研究科
細胞分子機能病理学
助　教　　熊本　康昭

## １．はじめに

現在の医療現場では、末梢神経の術中検知は術者の目視と解剖学的知見に頼り行われている。そのため、周辺組織と判別しづらい直径１mm 以下の末梢神経は誤って切断されてしまう場合がある。

研究責任者はこれまで、多点ラマン散乱計測装置を開発し、ラット生体組織表面の 32 点のラマンスペクトルを５秒で測定することに成功している [1]。さらに、得られたスペクトルを判別分析することにより、感度 96.2%、特異度 99.2%、正確度 97.5%で、末梢神経を結合組織及び骨格筋組織と識別することに成功している [1]。一方で、有髄神経に比べて散乱が弱い無髄神経（図１）の正確な検出は、周辺組織から発する自家蛍光やラマン散乱の影響により、難しいケースがあった。臓器周辺の自律神経は概ね無髄神経であるため、無髄神経を検出できなければ、癌摘出手術後の臓器機能障害（排便障害、勃起障害、排尿障害など）を防ぐことはできない。

## ２．内容

本研究では、散乱光が比較的微弱である無髄神経を検出するため、周辺組織のラマン散乱や自家蛍光の影響を抑えた多点ラマン散乱計測法を設計・構築した。

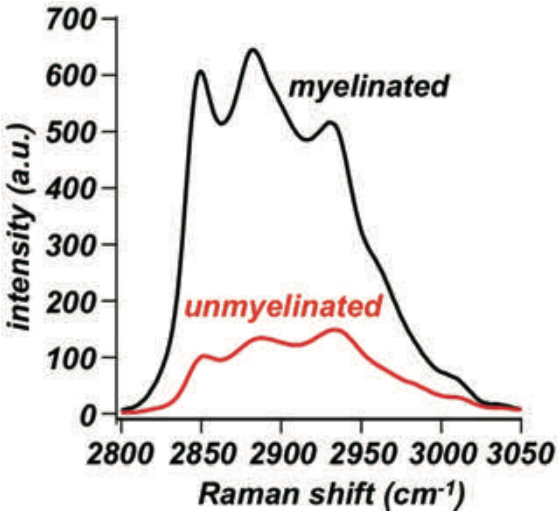



**図１　末梢神経のラマンスペクトル。有髄神経（myelinated）と無髄神経（unmyelinaed）**

## ３．成果

開発した多点ラマン計測光学系を図２に示す。波長 532nm のレーザー光をマイクロレンズアレイにより分割し、対象組織の複数箇所からラマン散乱光を同時励起する。ファイバーバンドル、分光器、及び CCD カメラにより、複数箇所からのラマン散乱光をそれぞれ測定する。従来の装置 [1] と比べて焦点深度が浅くなるように設計したことにより、直径 0.1 ミリの対象組織直下の組織か

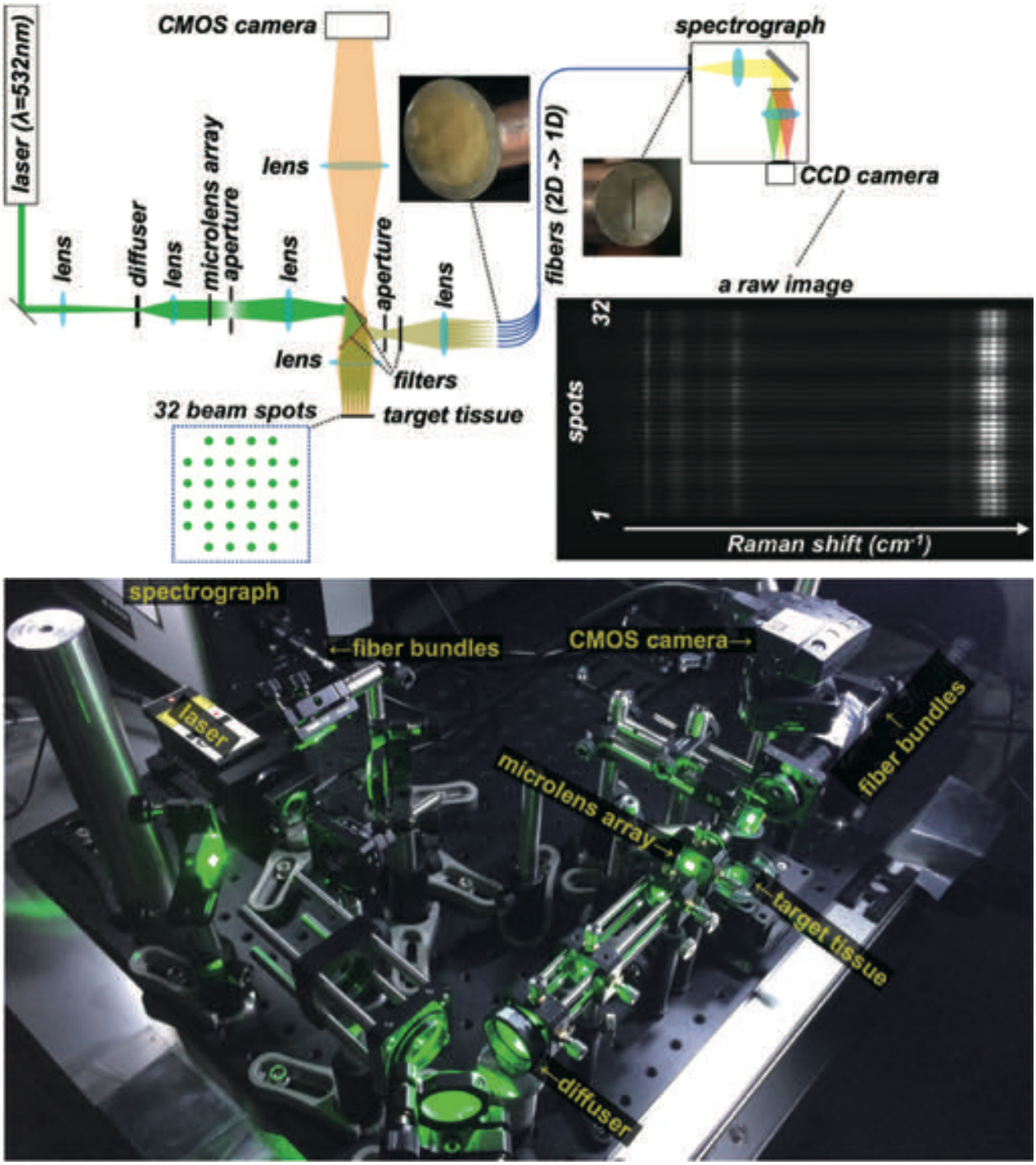



図2　開発した多点ラマン計測系の概略図（上）と写真（下）

ら生じる迷光の影響を軽減できる。また、マイクロレンズアレイの焦点位置に開口を配置し、対象組織へのレーザー照射領域をラマン測定領域に限定し、測定領域以外からのラマン散乱光や自家蛍光を軽減した。さらに、迷光を除去するため、結像レンズの前側焦点位置に開口を挿入した。この開口の直径と形状は、ファイバーを伝搬しうる乱光成分をブロックしないように設計した。他に、各ビームスポットの光量のムラを抑えるために、拡散板を導入している。

図３は、ラット摘出組織を試料とした場合の測定結果の一例であり、末梢神経を骨格筋組織上に配置し露光時間 10 秒で測定したものである。32 のビームスポット下の組織から、十分な信号対雑音比のスペクトルを取得できている。末梢神経と骨格筋組織から得られたスペクトルには、差異を

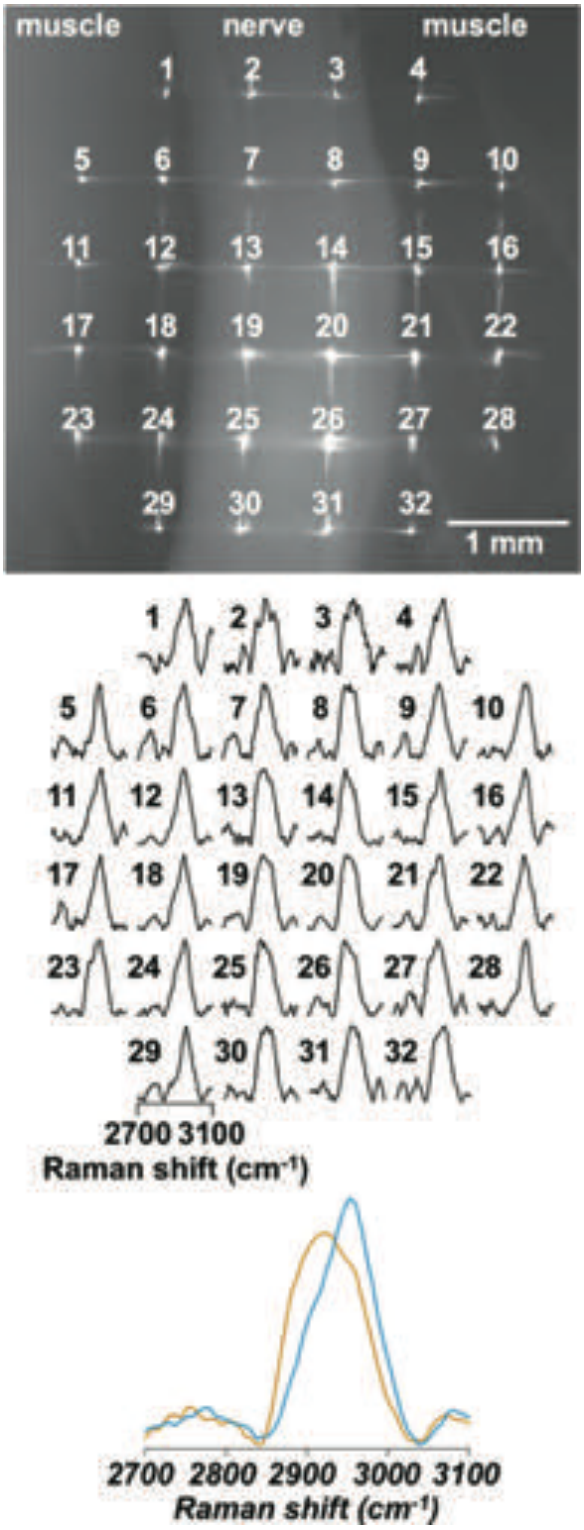



図3　開発した光学系によるラット摘出組織測定結果。明視野画像とビームスポット（上）、取得したスペクトル（中）、神経と骨格筋それぞれの平均スペクトル。

確認できる。判別分析を行うことにより、開発した光学系を用いて末梢神経を正確に検知できると期待される。実験は京都府立医科大学動物実験規程に沿って実施した（承認番号 M29-171）。

次に、自家蛍光の影響を抑えられる近赤外励起のラマン測定による神経検出を検討した。図４は、ラット摘出組織（有髄神経、無髄神経、結合組織、骨格筋組織、脂肪組織）の波長 785nm 励起スペクトルである。神経とその他の組織とのスペクトルの明瞭な違いを確認できることから、判別分析により神経とその他の組織とを正確に識別できると期待できる。これを踏まえて、波長 785nm レーザーを用いた多点ラマン計測光学系を開発し、神経検出を試みた。しかし、使用した光源の出力が低いため、励起光を分割する多点測定では、10 秒以内に神経を正確に検出することはできなかった。高出力の近赤外光源を利用することでこの点は解決できる。

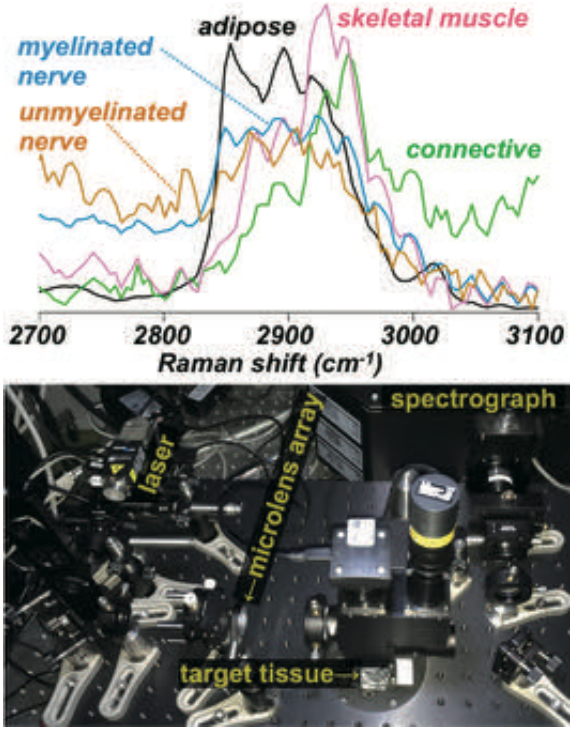



図４　近赤外多点ラマン計測光学系の検討。波長 785nm 励起の神経およびその他の組織のスペクトル（上）と多点光学系。

## ４．まとめ

末梢神経の多点同時ラマン検知では、対象の周辺組織から発するラマン散乱光や自家蛍光の影響が問題となる場合がある。本研究では、周辺組織のラマン散乱や自家蛍光の影響を抑えられる光学系として、従来設計を改良した波長 532nm 励起多点ラマン計測系と、新設計の波長 785nm 励起多点ラマン計測系を開発した。今後、高出力の近赤外レーザー光源を導入することにより、10 秒以内に無髄神経を正確に検知できる術中システムを早期に実現したい。

## 謝辞

本研究は、公益財団法人中谷医工計測技術振興財団の技術開発研究助成により行ったものである。当財団に心よりの感謝の意を表したい。

## 参考文献および発表論文

1) Y. Kumamoto et al.， Sci. Rep. 7， 845 (2017).

# ピエゾ抵抗型力センサによる微小量血液の粘度計測

研究責任者　東京大学　IRT 研究機構
マイクロマシン研究分野
特任研究員　NGUYEN THANH VINH

## １．はじめに

近年、医療現場では低侵襲な血液採取を用いた検査が望まれており、数 μL の微小量の血液サンプルで検査可能なデバイスの研究・開発が盛んに行われている。血液に関する重要な検査項目の一つに、血液の粘度がある。通常、血液の粘度の正常な値は 3-4 mPa·s であるが、コレステロール等の物質が多くなると粘度が上昇する [1)]。その結果、血管に加わる圧力が強くなり、高血圧、動脈硬化、脳梗塞などのリスクの上昇につながる。多血症の患者では血液の粘度が 10 mPa·s まで上昇することがあり、血流への抵抗が上がることによって血管にも障害が起きる [2),3)]。一方で粘度が低ければ、貧血や低蛋白血症が疑われる。したがって、血液の粘度を低侵襲かつ正確に計測できれば、健康状態の診断や血管に関する病気の予測に大変役立つ。

本研究で解決しようとする課題は微小量の血液サンプル（数 μL）で計測できる粘度計の実現である。血液の粘度計測において、患者の負担を小さくするためには、この課題を解決しなければならない。

従来の粘度計には、毛細管型、落球型、回転型などの方式があるが、いずれも、液体と固体との相対運動における液体・固体境界面に生じるせん断力と粘性との関係に基づき、粘度を推定してい液体と固体の相対運動を発生させることが必須であるため、少なくとも 50μL 以上のサンプル量が必要であった。そのため、血液の粘度計測のように、多量のサンプルを準備することが難しい用途には不向きであった。

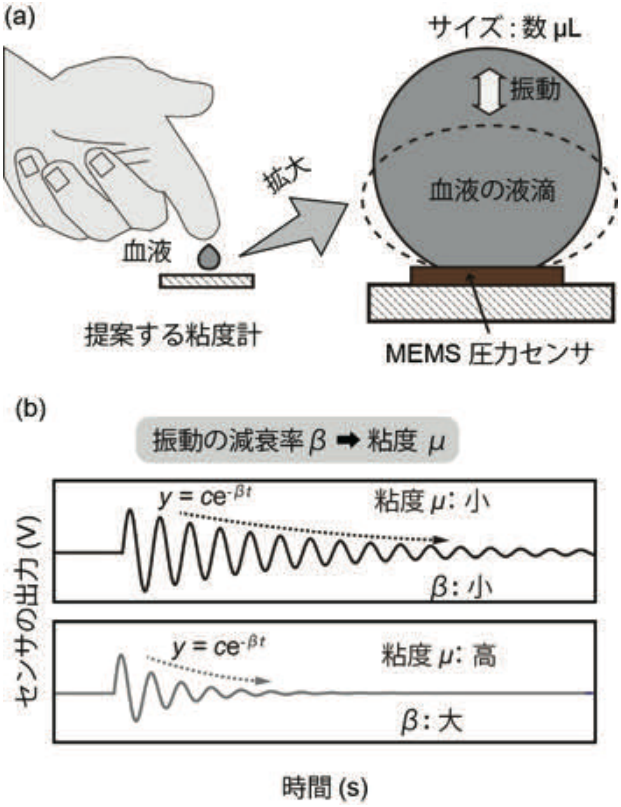



図1(a) 本研究の提案する血液の粘度の計測手法と(b) 粘度計測の原理

## ２．内容

本研究では、従来の粘度計と比べて 10 分の 1 以下のサンプル量で計測可能な粘度計を、MEMS 技術を用いて実現することを目指す。提案する計測原理は従来の粘度計と異なり、図１に示すように、数 μL の微小な液滴の固有振動の減衰率を MEMS 力センサで直接計測し、その振動の減衰率から液滴の粘度を計算する。

提案する粘度の計測手法は液体のスケール効果に基づいたものである。液体の最も重要な性質として表面張力と粘度があり、小さな液滴の運動は重力に加え、表面張力と粘性の影響を受けている。また、液滴が小さければ小さいほど表面張力の影響が大きくなる。例えば、液滴のサイズが cm 程度の時、液体が重力によって平らにされ、液体の溜まりになる。一方、液体が小さくなると、例えば、超撥水表面に液滴を置けば、液滴の形状が球状になるが、重力より表面張力が支配的になるためである [4)]。また、その重力と表面張力の値がちょうど等しくなる Capillary length 呼ばれる代表的な長さが存在し、水の場合の Capillary length は約 2.7mm となる。この Capillary length より小さい半径を持つ液滴の運動には表面張力が支配的な要因となる。本研究で注目する液滴は数 μL であり、直径が数 mm となっているため、表面張力が支配的になる範囲である。この範囲において、液滴の共振の周波数と減衰率はそれぞれ表面張力と粘度に影響される。具体的に、液滴の共振周波数と表面張力との関係は次の式で表される [5),6)]。

$$f \approx \sqrt{\frac{\sigma}{m}} \quad (1)$$

ここで $\sigma, m$ は表面張力と液滴の重さである。また、液滴の共振の減衰率と粘度との関係は次の式で表される [5),6)]。

$$\beta \approx \frac{\mu}{\rho V^{\frac{2}{3}}} \quad (2)$$

ここで $\mu, V, \rho$ は粘度、液滴の体積と液体の密度である。図１(b)に示すように、液体の粘度が高いほど液滴の減衰が速くなる。この関係から、液滴の体積 $V$ が分かる前提で、液滴の共振の減衰率 $\beta$ を計測できれば液体の粘性を推定することが可能となる。

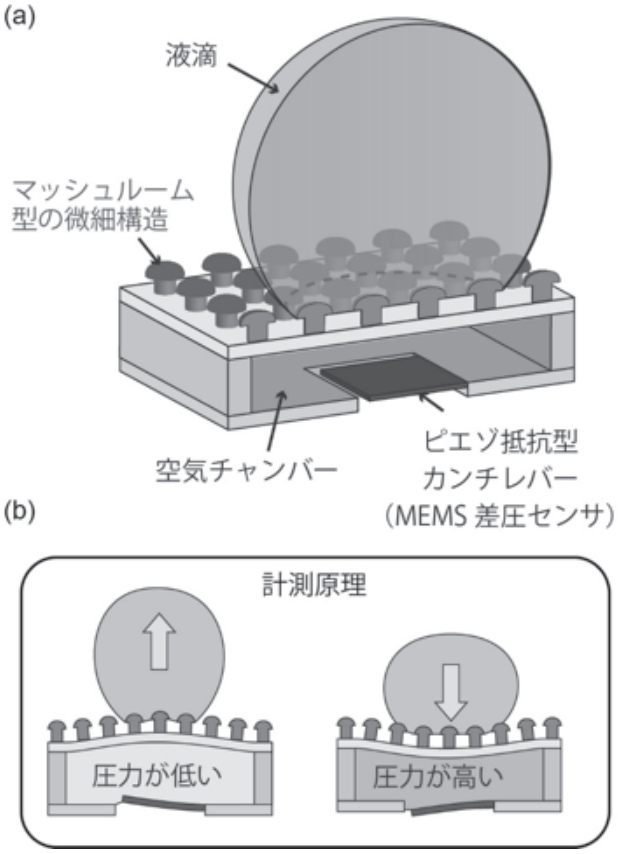



**図２（a）粘度計の構造(b）液滴の振動の計測原理**

本研究では、微小液滴の振動を計測するために、図２(a)のセンサデバイスを提案した。センサデバイスはマッシュルーム型微細構造アレイを有したゴム材の薄いメンブレンとその下の空気チャンバーから構成される。チャンバーの底面に MEMS ピエゾ抵抗型カンチレバーが張り付けられ、カンチレバーの抵抗変化率からチャンバー内部の圧力変化を計測できる。液滴振動の計測原理を図２(b)に示す。メンブレンに滴下された液滴が振動するとき、液滴の重心の移動によって、液滴とメンブレンとの接触面に働く力が変化する。その力変化によりメンブレンの変形が生じ、チャンバーの体積が変化し、チャンバーの内部圧力の変化が生じる。MEMS カンチレバーの抵抗変化率か

らチャンバー内の圧力変化を正確に計測できるため、センサの出力から液滴振動の計測が可能となる。本研究で利用された MEMS カンチレバーは 0.1 Pa 程度の圧力差を計測できるため、液滴の微小な振動でも検知可能である。本センサデバイスでは、液滴の球状を維持するために、マッシュルーム型微細構造アレイのメンブレンを提案した。このマッシュルーム型微細構造アレイによって、水だけではなく、表面張力が低いオイルや有機溶媒などの液滴についても計測が可能である。

研究期間内では、最初にマッシュルーム型微細構造アレイの製作・評価を行った。次に、センサチップとデバイスの製作を行い、デバイスの共振周波数と感度を計測した。試作したデバイスを用いて、液体の粘度計測を行った。最後に、血液の粘度計測および血液の凝固における粘度変化の計測を行ったこと、提案した粘度計測手法の有用性を検証した。

## ３．成果

### 3.1　マッシュルーム型微細構造アレイの製作とその撥水性・撥油性の評価

液滴の共振の計測から液体の粘度を推定するとき、計測の誤差を小さくするために、液滴をできるだけ球状にする必要がある。そのため、液滴を乗せる基板としてマイクロサイズのマッシュルーム型の構造アレイを有したゴム材のメンブレンを製作した。蓮の葉のような疎水性のピラー型微細構造を持つ表面は水を強く弾くため、小さな水滴をその表面に滴下すると液滴が球状と近い形になる。しかし、オイルや有機溶媒のような表面張力が低い液滴をこの表面に乗せると液体が濡れてしまい、球状の液滴が維持できなくなる。一方、マッシュルーム型微細構造を表面に形成することで、オイルや有機溶媒の液体でも球状を維持すること可能である [7),8)]。

マッシュルーム型微細構造アレイの製作プロセスフローを図３ (a)に示す。まず、フォトリソグラフィを用いた AZP フォトレジストのパターニングにより Si ウェハー上に穴状のアレイを形成した。次に、Si の等方性エッチングにより AZP フォトレジストの穴より直径の大きい穴を Si ウェハーに形成した。ウェハーの表面の疎水化を行った後、液体状の PDMS（主剤：硬化剤の比率＝10:1）を流し込み、500 rpm の回転数でコーティングした。オーブン（85℃、1 時間）で硬化させた後、PDMS メンブレンを Si ウェハーから剥がし、表面に $C_4F_8$ コーティングにより表面の疎水化を行った。試作したマッシュルーム型微細構造アレイのメンブレンを図３(b)に示す。メンブレンのサイズは 1cm×1cm となり、また厚みは約 200 μm であった。図３(b)の SEM 写真はマイクロメートルサイズのマッシュルーム型構造が確実に形成されたことを示唆した。マッシュルーム型微細構造の高さは 30 μm 程度となり、マッシュルームのキャップの直径は約 25 μm であった。また、マッシュルーム型構造の間隔 60μm であった。

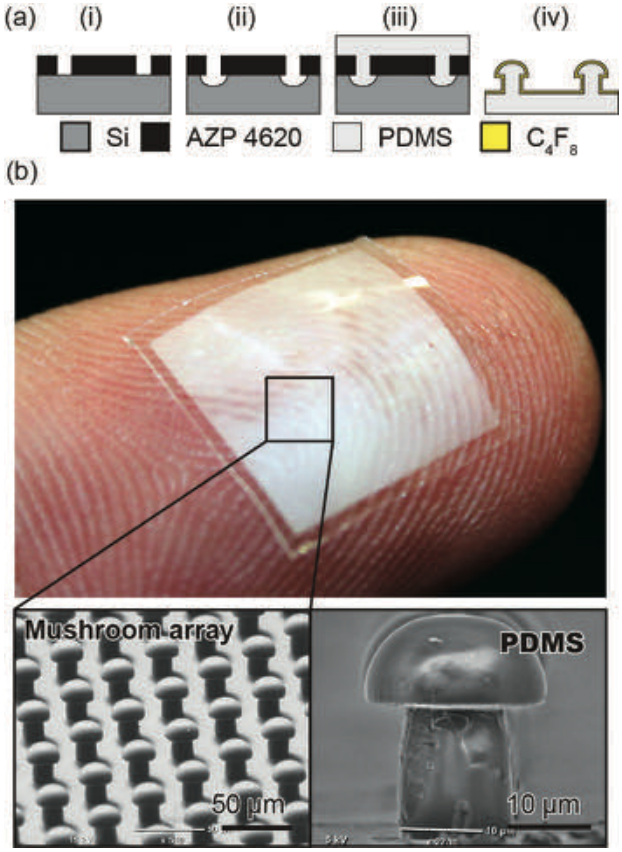



図３ (a)マッシュルーム型微細構造の製作プロセスフロー (b) 試作したマッシュルーム型微細構造アレイの写真

次に、試作した PDMS のメンブレンの撥水性の評価を行った。水とエタノールを混合させ、混合率を変えることで、表面張力の異なる液体サンプルを準備した。各液体サンプルの約 3 μL の液滴を試作したメンブレンに滴下し、液滴とメンブレンとの接触角を計測した。計測結果を図４ (a)に示す。計測結果から、表面張力 22.5 mN/m 以上の範囲において、液滴が Cassie 状態（液滴がマッシュルーム型構造の上面に接触する状態）となり、液滴とメンブレンとの接触角度は高かった（120 度以上）。表面張力が 22.5 nN/m 以下の場合、液滴が

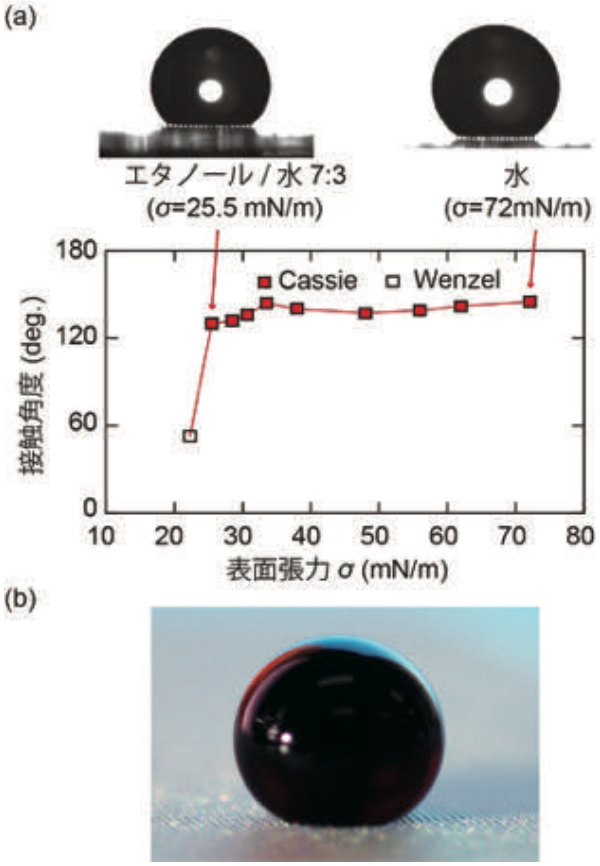



**図４ (a) 試作したマッシュルーム型微細構造アレイと様々な液体との接触角の計測結果 (b) マッシュルーム型微細構造アレイに滴下された血液の液滴の写真。**

Wenzel 状態（液体がマッシュルーム型構造の壁面に濡れた状態）になってしまい、接触角は 60 度以下に低下した。この結果から、試作したマッシュルーム型微細構造アレイは水だけではなく、25.5 mN/m 以上の表面張力の液体の場合でも液滴を球状と近い形状に維持できることが示唆された。

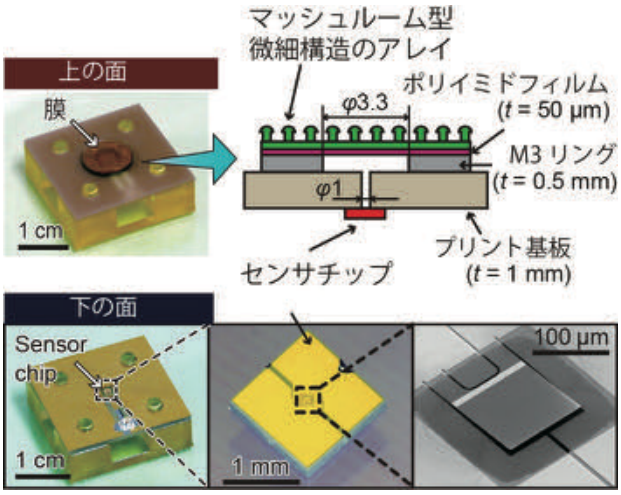



**図５ パッケージングしたセンサデバイスとピエゾ抵抗型カンチレバーの写真**

### 3.2 センサデバイスの製作と評価

試作したマッシュルーム型微細構造アレイのメンブレンとピエゾ抵抗型カンチレバーを用いて、センサデバイスのパッケージングを行った（図５）。まず、ピエゾ抵抗型カンチレバーのセンサチップをプリント基板に貼り付け、センサチップと基板とのワイヤボンディングを行った。センサチップの裏掘り穴の位置に基板の貫通穴を形成することで、基板の上下の差圧を計測可能である。次に、薄い金属リング（M3 ワッシャ）をプリント基板の裏面に貼り付けた。最後にマッシュルーム型微細構造アレイのメンブレンを両面カプトンテープでリングに貼り付け、デバイスを完成させた。利用したカンチレバーのサイズと厚みはそれぞれ 100 μm × 125 μm と 0.3 μm であった。また、カンチレバー型の差圧分解能は約 0.1 Pa であった [9]。

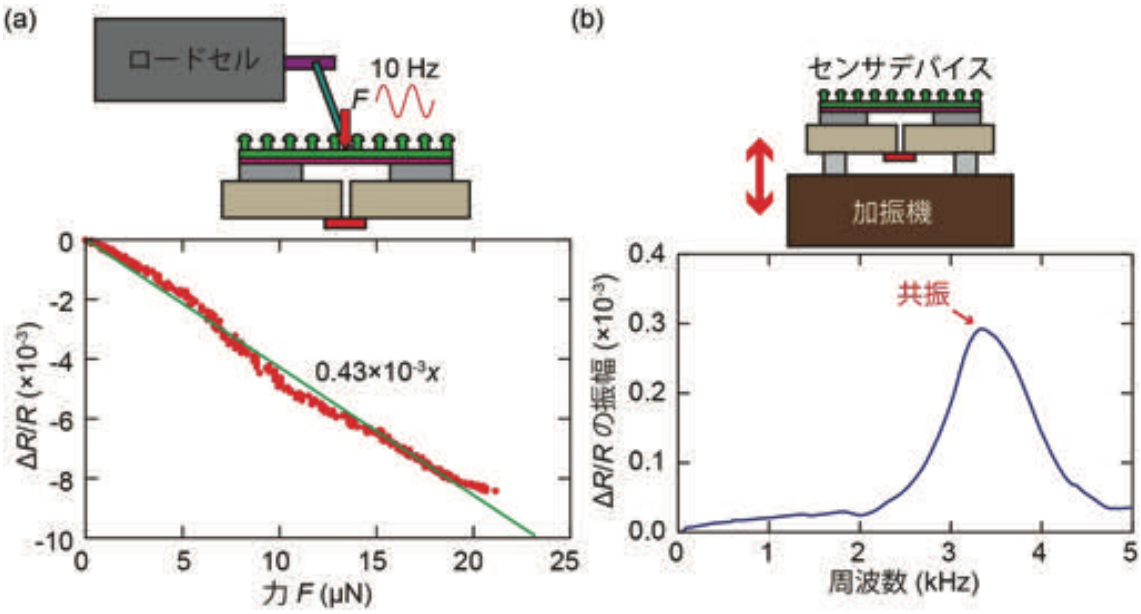



図6　試作したセンサデバイスの感度と周波数応答特性

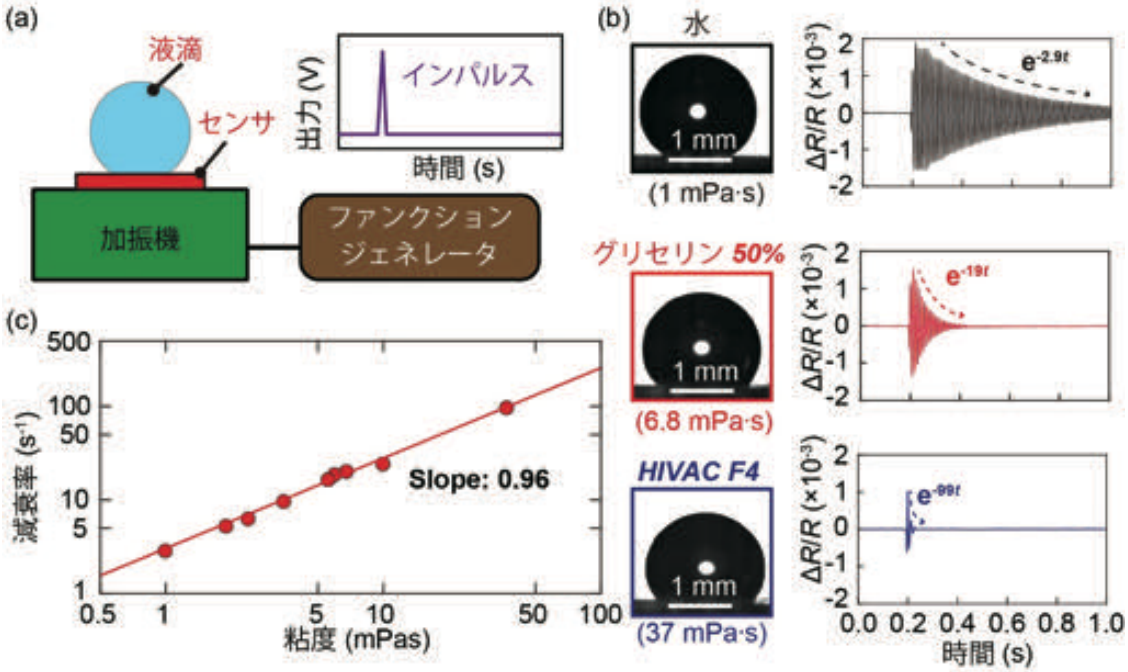



図7（a）粘度計測のセットアップの概要図（b）異なる表面張力の液滴の共振（c）液体の粘度と液滴の共振の減衰率

次に、センサデバイスの感度及び周波数特性を計測した。図 6 (a)にセンサデバイスのメンブレンに加える垂直方向の力とカンチレバーの抵抗変化率との関係を示す。計測結果からカンチレバーの抵抗変化率は加えた力と比例することを確認した。また、センサの周波数特性の評価を行った結果から、センサデバイスの共振周波数は約 3.3 kHz 程度となった（図 6 (b)）。数 μL の液滴の 1 次モードの共振周波数は 100 Hz 程度であるため、試作したセンサデバイスは微小液滴の共振を計測

するために十分高い共振周波数を持つことが確認された。

### 3.3　液滴振動の計測

試作したセンサデバイスを用いて、液体の粘度の液滴の共振の減衰率との関係を検証した。実験セットアップを図 7 (a)に示す。センサデバイスを加振機に張り付け、ファンクションジェネレータを用いてインパルス波形を加振機に入力した。センサの出力を自作アンプ回路で 1000 倍に増幅した後、スコープコーダで記録した。実験では 1 mPa·s から 40 mPa·s 程度までの粘度範囲の液体を利用した。それぞれの液体について、3μL の液滴をピペットを用いてセンサのメンブレンに滴下し、加振機により共振を発生させた。

図 7 (b)は水（粘度: 1 mPa·s）、グリセリン 50%（粘度: 6.8 mPa·s）とシリコンオイル HIVAC F4（粘度: 37 mPa·s）の場合の実験結果を示す。センサの出力から計算された減衰率は水：2.9 ($s^{-1}$)、グリセリン 50%：19 ($s^{-1}$)、HIVAC F4：99 ($s^{-1}$)となった。

液滴の粘度と計算された減衰率との関係を図 7 (c)に示す。この結果から液滴の粘度が高くなれば、減衰率も高くなることが示され、理論と一致した傾向であった。この関係から、粘度と減衰率との比例係数を求め、次に血液粘度の推定を行った。

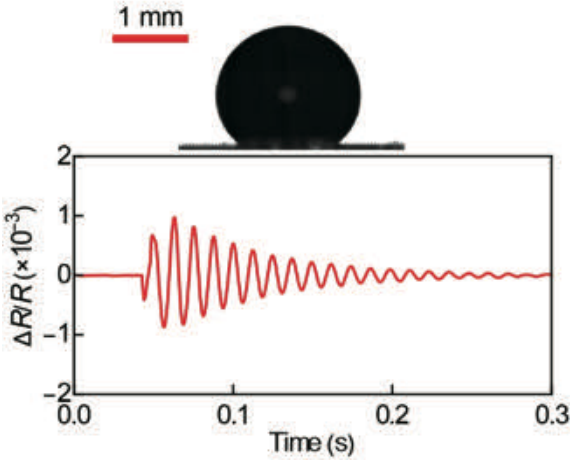



図8　血液の液滴の振動

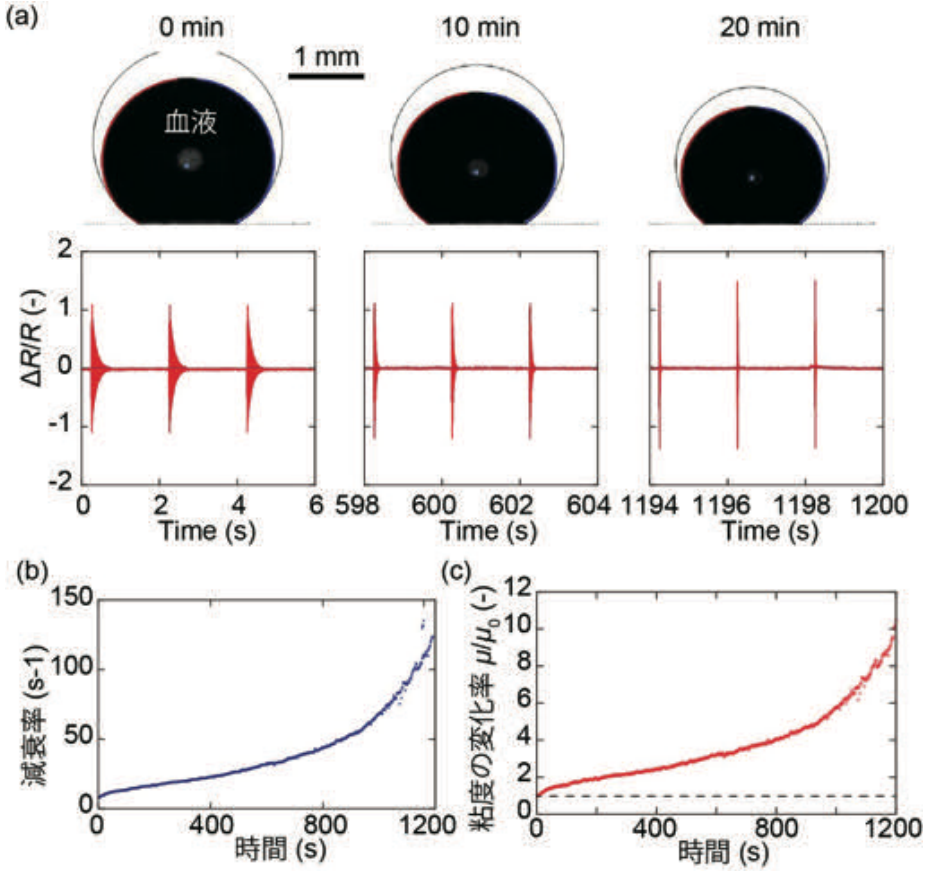



図9　血液粘度のリアルタイム計測

### 3.4　血液の粘度計測

試作したセンサデバイスを用いて血液の粘度計測を行った。実験では子牛の血液(Whole blood)を利用した。実験の前に血液の粘度を市販粘度計（Kyoto Electronics Manufacturing Co.,　EMS-1000）を用いて計測した。計測結果から、実験で使用した子牛の血液の粘度は 5.5±1.0 mPa·s となり、水の粘度の 5 倍程度であった。

次に、血液の液滴（体積：3 μL）をセンサのメンブレンに乗せて、加振機で振動させた。その時のセンサの応答を図８　に示す。センサの応答から計算された減衰率と図 7 (c)のデータから求めた粘度と減衰率との関係から血液の粘度を求めた。3 回の計測結果から求めた子牛の血液の粘度は 5.9±0.1 mPa· s となり、市販粘度計による計測結果とほぼ同じ値となった。

最後に、血液の凝固過程における粘度変化のリアルタイムモニタリングを行った。最初に 4.5 μL 程度の血液の液滴をセンサのメンブレンに滴下し、加振機を用いて 2 秒ごとにインパルスを与えた。20 分間にセンサの応答の記録及び液滴の撮影を同時に行った。実験結果を図 9 に示す。時間とともに血液の液滴は蒸発していたため、体積が段々に小さくなった。また、図 9 (a)のグラフから、センサの応答の減衰も速くなったことがわかった。振動の減衰率及び液滴の体積から求めた粘度の変化率（計算された粘度と実験が始まった時の粘度との割合）を図 9 (b)に示す。計測結果から血液の凝固により粘度が高くなることが示唆された。最初の 10 分間は血液の粘度は 3 倍程度に高くなったが、その後急に高くなって、実験開始から 20 分間後に最初の粘度の 10 倍になった。

上記の実験結果から提案したセンサは数μL の血液の粘度を数秒で計測でき、また、リアルタイムで粘度の変化をモニタリングできることが示された。

## ４．まとめ

本研究では、MEMS 圧力及びマッシュルーム型微細構造アレイを有したメンブレンから構築された小型粘度計の製作に成功した。提案した粘度計は数 μL と非常に少ないサンプル量で粘度を正確に計測できることを検証した。また、一回の計測時間も非常に短いため、リアルタイムで微小液滴の粘度変化のモニタリングも可能である。試作した粘度計を用いて、血液の粘度および血液の凝固過程における粘度の変化の計測を行った。計測結果から、空気中に置かれた 4.5μL の血液の液滴の粘度が 20 分間で 10 倍に高くなったことを示した。

## 謝辞

本研究の一部は、公益財団法人中谷医工計測技術振興財団の奨励研究助成（平成 28 年度）により行われた。ここに深く感謝申し上げます。本研究のデバイス製作のため用いたフォトマスクは、東京大学 VDEC の電子線描画装置 F5112 を用いて作製した。

## 参考文献および発表論文

### 参考文献

[1] Baskurt OK, Meiselman HJ, "Blood rheology and hemodynamics", *Seminars in Thrombosis and Haemostasis*. 29: 435–450, 2003.

[2] Lenz C, Rebel A, Waschke KF, Koehler RC, Frietsch T, "Blood viscosity modulates tissue perfusion: sometimes and somewhere", *Transfus Altern Transfus Med.* 9 (4): 265–272, 2008.

[3] Kwon O, Krishnamoorthy M, Cho YI, Sankovic JM, Banerjee RK, "Effect of blood viscosity on oxygen transport in residual stenosed artery following angioplasty", *J Biomech Eng.* 130 (1): 011003, 2008.

[4] D. Quere, "Wetting and roughness", *Annual Review of Materials Research*, vol. 38, pp. 71-99, 2008.

[5] J. S. Sharp, "Resonant properties of sessile

droplets; contact angle dependence of the resonant frequency and width in glycerol/water mixtures", *Soft Matter*, vol. 8, no. 2, pp. 399-407, 2012.

[6] S. Mettu and M. K. Chaudhury, "Vibration Spectroscopy of a Sessile Drop and Its Contact Line", *Langmuir*, vol. 28, no. 39, pp. 14100-14106, 2012.

[7] T. L. Liu and C.-J. C. Kim, "Turning a surface superrepellent even to completely wetting liquids", *Science*, vol. 346, no. 6213, pp. 1096-1100, 2014.

[8] A. Tuteja, W. Choi, J. M. Mabry, G. H. McKinley, and R. E. Cohen, "Robust omniphobic surfaces", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 105, no. 47, pp. 18200-18205, 2008.

[9] H. Takahashi, N. M. Dung, K. Matsumoto, and I. Shimoyama, "Differential pressure sensor using a piezoresistive cantilever", *Journal of Micromechanics and Microengineering*, vol. 22, no. 5, 2012.

## 発表論文

[1] **Thanh-Vinh Nguyen,** Hidetoshi Takahashi, and Isao Shimoyama, "Measuring droplet vibration using a mems-based pressure sensor," *2017 ANNUAL Conference Flow17 for Microfluidic*, Paris, France, July 3-5, 2017.

[2] **Nguyen Thanh-Vinh**, Hidetoshi Takahashi, and Isao Shimoyama, "MEMS-based pressure sensor with a superoleophobic membrane for measuring droplet vibration," *The 19th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (TRANSDUCERS2017)*, pp. 1152-1155, Kaohsiung, Taiwan, June, 2017.

[3] Hiroshi Saito, **Nguyen Thanh-Vinh** and Isao Shimoyama, "A gas sensor using capillary waves on ionic liquid droplet," *The 34th SENSOR SYMPOSIUM on Sensors, Micromachines and Applied Systems*, International Conference Center Hiroshima, Hiroshima, Nov, 2017.

## 受賞

The 19th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducers2017), **Outstanding Paper Award**

**Paper title:** "MEMS-based pressure sensor with a superoleophobic membrane for measuring droplet vibration"

# 3 次元 CT 画像ガイド下インターベンションを実現するための血管治療用デバイスの開発

研究責任者　岡山大学大学院保健学研究科
検査技術科学分野
講　師　　渡辺　彰吾

## １．はじめに

近年、心疾患は日本人の死因において癌に次いで第 2 位を占める。また、心疾患のうち約 4 割が虚血性心疾患であるが、虚血性の心不全を含めると全体の最大 8 割を占める。実は医療費の占める割合を傷病別に分類したデータでは、悪性新生物、すなわちがんの医療費よりも、循環器系の疾患にかかる医療費の方が上回っている（平成 27 年度国民医療費の概況：厚生労働省統計データ(http://www.mhlw.go.jp/toukei/list/37-21.html)）。狭心症や心筋梗塞を含む虚血性心疾患は欧米のみならず、我々日本人にとっても大きな負担となる病気である。虚血性心疾患は、冠動脈が動脈硬化を主とする原因で狭窄をきたしたり、血管が閉塞したりして心筋に血液が行き渡らなくなることにより起こる疾患である。動脈硬化は、血管壁に酸化 LDL を貪食した泡沫細胞が蓄積して、内腔が狭くなったりしている状態のことを指す[1]。虚血性心疾患に対する治療として現在、一般に PCI（percutaneous coronary intervention）とよばれる治療法が行われている。外科的手術である内胸動脈や大伏在静脈を用いた心臓バイパス手術に比べ患者への侵襲が格段に少なく、治療手技も一時間程度で終了するため、負担の少ない治療法である[2]。PCI はまず、局所麻酔を行った後で、シースというカテーテルを出し入れするための管を血管に挿入する。次にカテーテルを冠動脈入口部まで挿入し、その後ガイドワイヤを狭窄・閉塞部位を超えて通過させる。このワイヤに沿ってバルーンを進め、目的の部位でバルーンをふくらませることで、血管を拡張するという手術である[3]。PCI は手技が容易である反面、再狭窄といって治療した部位が再び狭窄を起こすことがアキレス腱となっていた。最近ではバルーンを膨らませるだけでなく、金属のメッシュ状の筒であるスタントを留置することで再狭窄率が減少しており、しかも薬剤溶出性ステント（Drug Eluting Stent: DES）を用いることで再狭窄率は数パーセントというレベルにまで低減することに成功している。さらに、完全閉塞病変（Chronic total occlusion: CTO）と呼ばれる病変に対する PCI も新たな手技の開発によって、DES を用いた PCI 治療の成功率が高まってきている。このため、以前では治療の対象にならなかったような病変部位に対しても PCI 治療の適応が広がっており、これまでより多くの患者を救うことができるようになった。しかし、いまだ解決できていない問題点もある。例えば、この治療法は術中エックス

線を照射しながら透視をする必要がある。これにより、患者だけでなく術者である医師も大量に被曝してしまうという問題点が生じる。また、難易度の高い病変に対して治療を行うためには確認のために造影剤を大量に使用してしまうケースにも遭遇する。造影剤はしばしば造影剤腎症を引き起こし、腎臓に不可逆的なダメージを与えてしまうために、狭心症はよくなっても結局、維持透析を開始しなくてはならない症例では QOL(生活の質)の低下を引きおこしてしまう。これらの問題点を解決できる新たな PCI 戦略が求められている。近年頻脈性不整脈に対して行われているアブレーション治療には、バイオセンス Carto3(ジョンソン・エンド・ジョンソン株式会社)[4-6]や EnSite NavX (St.Jude Medical、 Atrial Fibrillation Division、 Inc.)[7]といった磁気や電気抵抗を利用したものなど様々な被曝軽減のための新しい技術が使用されている。一方、冠動脈疾患の PCI 治療として、術者の被曝量を低減するために CorpathSystem (Corindus Vascular Robotics) [8]といったロボットを用いるシステムが開発され、臨床応用されている。これらに着想を得て、今回我々は位置情報を、エックス線以外の方法で取得し、あらかじめ取得した CT 画像情報をもとに作成した 3 次元バーチャル画像上に位置情報をプロットすることで、カーナビゲーションの様にガイドワイヤを導くシステムを導入することを目指した。この方法によって医師・患者共に被爆することなく PCI を遂行することが可能となる。目的実現のため、まず以下の 3 つのテーマを設定した。

1) 位置情報を取得するセンサの精度調査
2) 位置のずれを防止するための新型ガイディングカテーテルの性能精査
3) CT 画像情報へ現在の位置情報を重ねたバーチャル 3 次元画像ウォークスルー

これら 3 つのテーマについて開発を進め、データを比較・検討した。

## ２．内容

### 2.1 位置情報を取得するセンサの精度調査

位置情報を安全かつ高精度に取得する方法として磁気を用いる案を採用した。従来、自動車や携帯電話などに使用されてきた小型超高感度磁気センサ（Prolific 社）（図１）と傾斜磁場発生装置(電子磁気工業株式会社)（図２）を使用して精度調査を行った。超高感度磁気センサの空間分解能は ±40 μm、傾斜磁場発生装置の発生磁界強度は±4000 mG である。電源電圧 60 V に設定した傾斜磁場内で、y 軸方向にセンサをそれぞれ 0.5 mm ずつと 0.1 mm ずつ動かした際の位置情報を取得した。

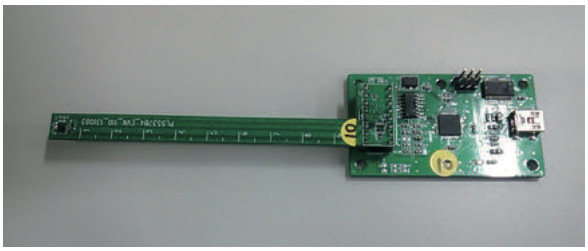


図１ 磁気センサ

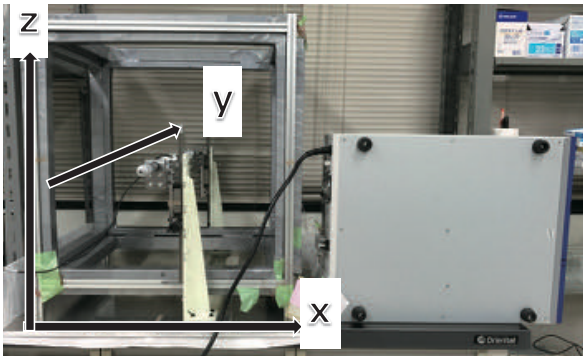



図2 傾斜磁場発生装置

### 2.2 位置のずれを防止するための新型ガイディングカテーテルの性能精査

ガイディングカテーテルは通常冠動脈入口部に引っ掛ける形で使用する。例えば慢性完全閉塞病変にガイドワイヤを通過させる際には閉塞部の抵抗が強いと作用・反作用の関係で推進力がガイディングカテーテルに伝わってしまい、ガイディングカテーテルが外れてしまう事例にしばしば遭遇する。ガイディングカテーテルが動いてしまうと当然、中を通っているセンサ付きのガイド

ワイヤの位置も動いてしまうので、仮想上の位置と現実の位置にずれが生じる。この問題を解決するために、血管内で固定できる新型ガイディングカテーテルの開発から独自に行った。カテーテルにバルーンをつけて血管内で膨らませて、圧力で固定するというものである（図３）。ラットの大動脈径がヒトの冠動脈径とほぼ同じ(約 3 mm)であることから、ラットの大動脈内で総腸骨動脈分岐部から新型カテーテルを挿入し、3 cm ほど進ませた後、バルーンを 3 回 0.1 ml の PBS で拡張し（図４）、血管内皮への障害がどの程度であるかを CD31 免疫染色にて確認した。本実験では、動脈硬化を起こしやすい SHRSP5/Dmcr ラットを使用し、動脈硬化の進行度を胆汁酸値で推定した。

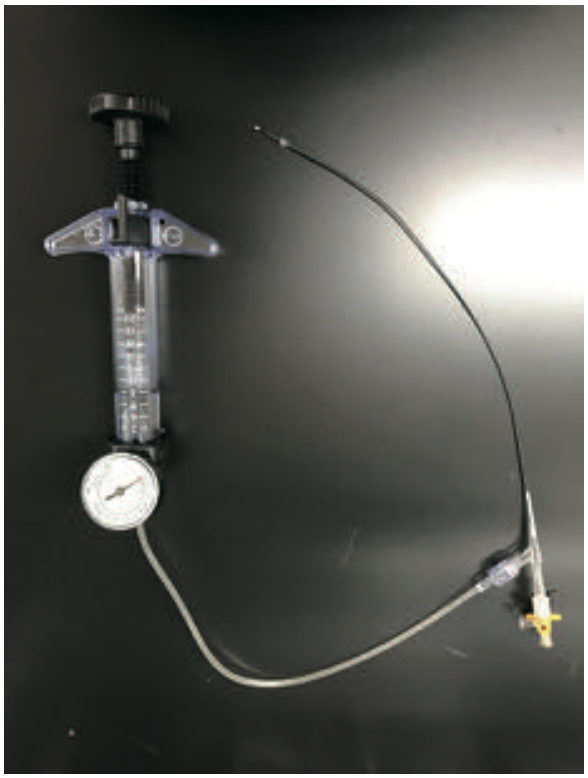


図3　作成したバルーンカテーテル

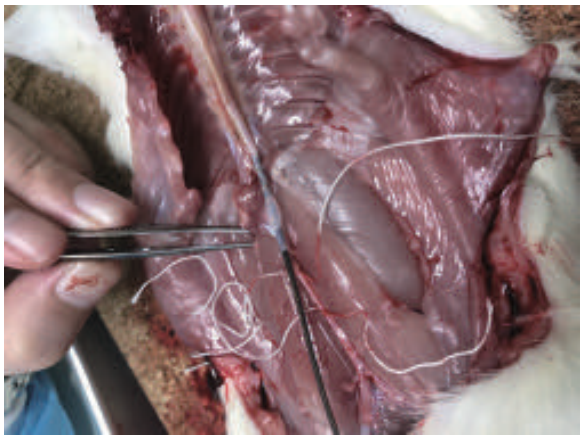


図4　ラット大動脈を使用した確認実験

図5　ウレタン製の心臓ファントム

### 2.3　CT 画像情報へ現在の位置情報を重ねたバーチャル 3 次元画像ウォークスルー

#### (1) 心臓ファントムによる心臓の再現

まずパイロットスタディとして、正常心臓の CT 画像情報を基に、3D プリンタ(株式会社クロスメディカル)を使用してウレタン製の心臓を作成した。この 3D 心臓模型を用いて得られた CT 画像情報をもとに 3 次元画像構築ソフトを用いて冠動脈内腔のウォークスルー画像構築がどの程度可能であるかを以下の手順で検討した（図５）。

#### (2) ファントム画像と位置情報の重ね合わせ

上述で取得したファントムを Dual Source CT (Siemens AG)によって撮影し、DICOM データとして得た。これを OmegaSpace (株式会社ソリッドレイ研究所)にて 3D バーチャル画像として再構成を行い、任意の位置情報を画像上にプロットして徐々に移動させることで冠動脈内と心臓俯瞰図上を移動するウォークスルー動画を作製し

た。位置情報を入力した状態で移動の自由度と画像構築の状況を確認した。

### (3) 症例の画像情報を用いた冠動脈ウォークスルー画像構築

次に、実際の症例データを用いてウォークスルー画像構築を行った。本研究を開始するにあたって岡山大学病院の倫理委員会へ研究計画書(研1704-02)を提出し、委員会の承認を得てからデータ取得および解析を実施した。インフォームドコンセントの元に同意が得られた症例の CT 画像情報を連結匿名化して取得した。なお、患者は以下の 3 群に分けてデータ取得を行った。

グループ 1：胸痛があるが冠動脈に動脈硬化病変のない患者

グループ 2：.石灰化による狭窄病変がある患者

グループ 3：高度な石灰化による狭窄又は閉塞病変が複数の冠動脈に認められる患者

患者の心臓 CT を撮影後、(3 群各 20 例ずつ) 60 例を岡山大学病院に導入されているザイオステーション(ザイオソフト株式会社)を使用して冠動脈のウォークスルー映像を作成し、解析を行った。CT は冠動脈内に造影剤を流し入れた状態で、Dual Source CT (Siemens AG) を使用し、0.5 mm 間隔で撮影を行った。冠動脈内に病変がある例については病変部のラベリングができないか検討した。また、石灰化の病変について閾値を様々に変化させて冠動脈内腔とどのように区別ができるか検討を行った。さらに、完全閉塞病変およびそれに近い病変については閉塞部位の色調を変えることで容易に認識できるように解像度の条件を変えて画像構築を行って検討した。

## ３．成果

### 3.1　位置情報を取得するセンサの精度調査

0.5 mm 間隔の移動ではセンサ位置情報と実際の位置は高精度で一致しており、ほぼ直線状に位置していた。一方で、0.1 mm 間隔の移動では一部動きを捕捉できず、若干直線とはずれる部分も認められた（図６）。

現時点でのセンサの位置精度では 0.5 mm までは補足できるという高い精度を持っていることが分かった。これは肺動脈や下肢動脈のカテーテル手術には十分応用できるレベルである。しかし冠動脈という大変細い血管に使用するには今後さらなる精度の向上が必要である。実際の PCI で安全に使用できるだけの水準に達しているとは言い難いものの、少なくとも中枢側の血管に関しては安全に位置情報を確認しながら実施できるめどが立ったと言える。

今後の改善点としては、今回使用したセンサは 4 mm ×4 mm という大きさであるのに対し、ヒトの冠動脈は直径 2～4 mm であるため、さらなる工夫と共に新たな作品が必要である。実際の冠動脈の中で使用するためには今後一層の小型化・薄型化が求められる。また電源を必要とするので配線についても考慮する必要があるがワイヤ自体に通電性を持たせるなどの工夫で対応できると考えている。

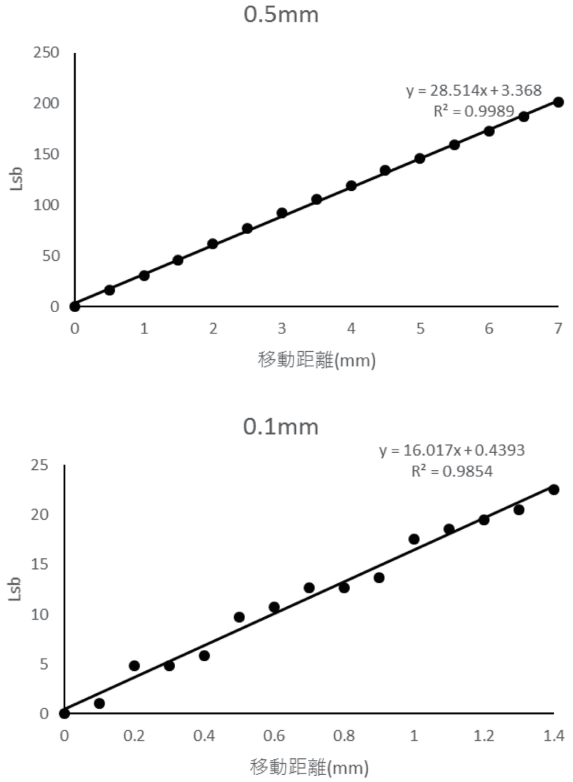



図6　距離と出力電圧の関係

### 3.2　位置のずれを防止するための新型ガイディングカテーテルの性能精査

作製したバルーンカテーテルの 1 度目の使用（図 7 .b）ではコントロール（図 7 .a）に対し一部血管内皮細胞の欠損している箇所を認めた。2 回目の再使用（図 7 .c）では広範囲にわたり血管内皮細胞の欠損を認め、血管傷害を起こしていることが確認された。1 視野における血管内皮の残存割合を定量的に評価した結果、初回使用に比べて再使用群において極めて大きな血管傷害を起こすことが明らかとなった。

今回の結果から、血管内皮の増生による狭窄を防ぐためにカテーテルは 1 度使用した後は廃棄することが望ましいということが確認された。このことは通常の医療器具がシングルユースであることを考えると当然の結果であると言える。一方、初回使用でも当初予想していたよりもバルーンによる血管内皮の傷害の程度は少なく、軽度であった。通常冠動脈の PCI で行われるバルーン拡張術では、32～40 %の頻度で術後に再狭窄、つまり血管傷害を来すことが知られていることから、新型ガイディングカテーテルの成績は従来型バルーンとほぼ同等であると考えられ、現在再狭窄治療に用いられている薬剤溶出性バルーンを用いることを前提とすれば有効である可能性が示された。しかしながら、本来は病変ではない箇所に対してバルーンを拡張することは新たな病変を作りだす危険性があるため、その適応は極めて慎重にならざるを得ないと考えられえる。例えば、さらに傷害性の少ない素材を用いるか、または他の方法でずれないようにするなど、さらなる検討が必要である。

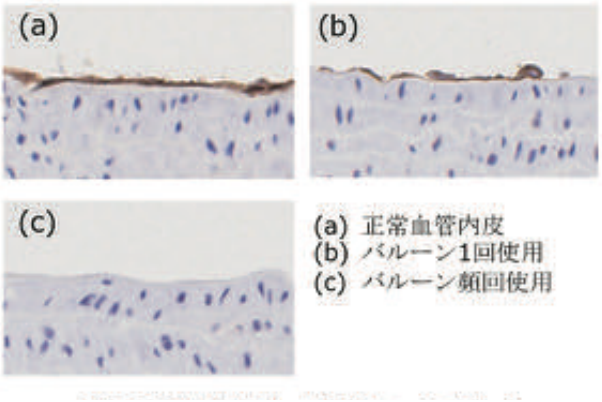



図7　CD31（血管内皮細胞）の免疫染色

### 3.3　CT 画像情報へ現在の位置情報を重ねたバーチャル 3 次元画像ウォークスルー

#### (1) 心臓ファントムによる心臓の再現

3D プリンタによるウレタン製心臓ファントムは冠動脈内腔まで再現することができた（図 5）。実験には造影剤を使用することを考え、末梢血管には内部を循環できるよう小さな穴を空けたモデルにした。また、水中に沈めるとより透明度が増すのでカテーテルのずれなど位置関係を確認することが可能である。ウレタン心臓の CT 画像を元にしたバーチャル画像の結果から、正常血管においては高い精度で CT 画像から 3 次元画像を構築できることが明らかとなった。この心臓ファントムは今後、新たなカテーテルや磁気センサもしくは心臓エコーなどでの位置情報取得の際に動物実験前のパイロット実験への利用が期待される。

#### (2) ファントム画像と位置情報の重ね合わせ

このファントムを CT 撮影した画像情報を用いて 3 次元バーチャル画像を構築し、そこへ仮想の位置情報を重ね合わせたバーチャルウォークスルー画像を作成した（図 8）。通常ヒトの冠動脈を CT 装置によって撮影する際は、CT 値のコントラストを大きくするために造影剤を用いる。

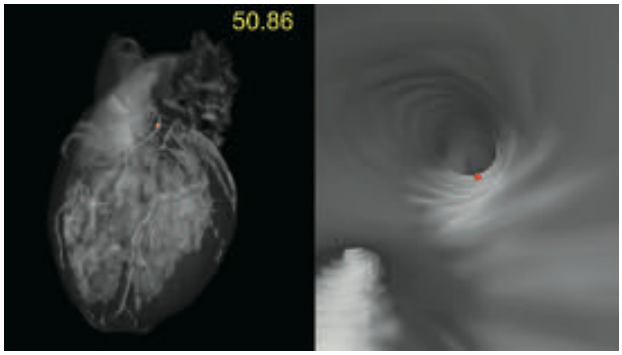



図8　3 次元 CT から作成したバーチャル画像

今回の撮影に用いたファントムはウレタン製であり、造影剤を冠動脈内に注入すると、造影剤のCT 値とウレタンで作成した冠動脈血管の CT 値が非常に近いため、冠動脈壁と内腔を分離して画像構築することができなかった。しかし一方で、空気の CT 値とのコントラストが大きかったため、造影剤を注入しない条件で撮影することにより解像度の高い冠動脈壁の CT 像を得ることができた。撮影した CT 画像から作製した 3D は冠動脈の分枝などを正確に表現できていた。また、位置情報を入力することにより、任意の位置に進んだり戻ったりすることが可能で、心臓の俯瞰図も同時に表示することができた。しかし一方で、末梢まで進むと解像度が悪くなり、詳細な表示が難しかった。

移動の自由度は高く、任意の位置にはどのようにでも進むことができた。また、現在位置を把握する方法は術者にとっても利用価値が高く、この手法での臨床応用に大きな利点となるものと考えられる。しかし一方で、末梢血管の画像構築は今よりもさらに高い精度が求められる。また、拍動していない心臓と生体内情報の位置情報には大きな隔たりがあることもまた事実である。呼吸や拍動の影響をどのように計算して補正するかについては今後さらに検討が必要である。

### (3) ヒトの冠動脈ウォークスルーの解析

患者冠動脈の造影 CT 画像情報から構築した 3D バーチャル画像では特定の CT 値を抽出することにより、石灰化部位を白色、閉塞部位を黄色に着色して表現した（図９）。

健常人でウォークスルーを確認すると、冠動脈基部に比べて末梢へ進むにつれて、冠動脈がぼやけた状態になっていた。次に、石灰化による狭窄病変がある患者では石灰化部位の表面をどこまで精密に再現できるか条件を複数設定して評価を行った。しかし、境界線を明瞭に表現することは十分にできなかった。 高度な石灰化による狭窄又は閉塞病変が複数の冠動脈にて多数確認できる患者では前述の石灰化に加え、閉塞している部分の着色を行った。図８と異なり造影剤部分を抽出しないよう、 閉塞部位のみ切りだし、着色した画像を元画像に加算する形で表現した。

さらに、末梢の血管をどこまで正確に画像構築できるかについて、血管径と CT 値との関係性を調べた（図 10）。冠動脈基部である太い冠動脈（血管径が 4.5 mm）でははっきりとした像が構築できるが、2.5 mm まで細くなるとやや冠動脈内腔表面の画像構築に難渋する。このように画像をうまく構築しにくい部位では CT値 が200前後と、冠動脈基部の CT 値 450 に比べて大きく低下していた。血管径と CT 値の関係を示す（図 11）。2.0 mm になると設定しているオパシティカーブ(不透明度曲線)では血管をうまく遅くできずに内腔を持った血管として表現できないが、閾値を下げることで血管として表現することができた。一方でやや中枢側の同じ 2.0 mm の血管では十分な CT 値がえられる場所もあり、この部位では明瞭に血管内腔を表現できたことから血管径よりもむしろ造影剤の注入量及びタイミングが画像構築のキーポイントとなると考えられた。

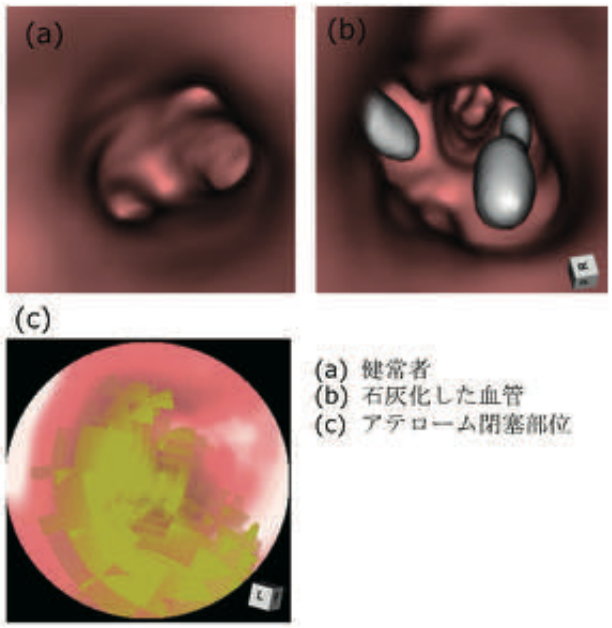
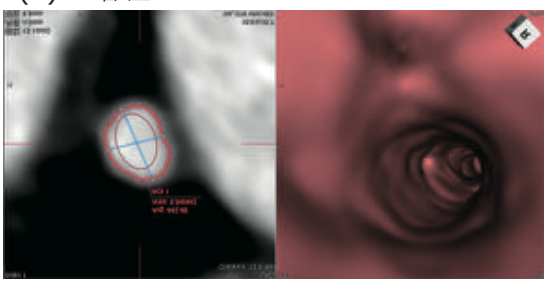
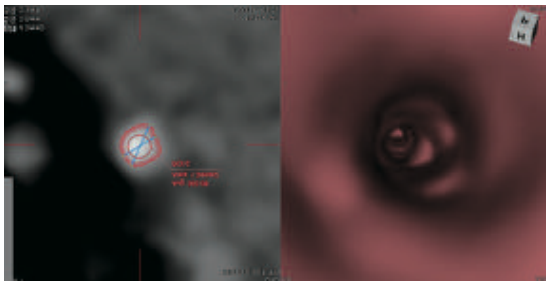



図9 実際の患者 CT 画像から再現した冠動脈内ウォークスルー画像

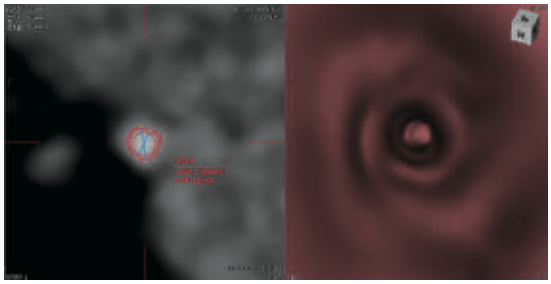
(a) 血管径4.5 mm



(b) 血管径2.5 mm



(c) 血管径2.0 mm (表層部)



(d) 血管径2.0 mm (深部)

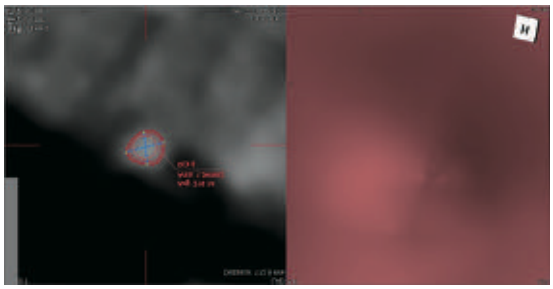


図 10　冠動脈内の CT 値と血官径の見え方

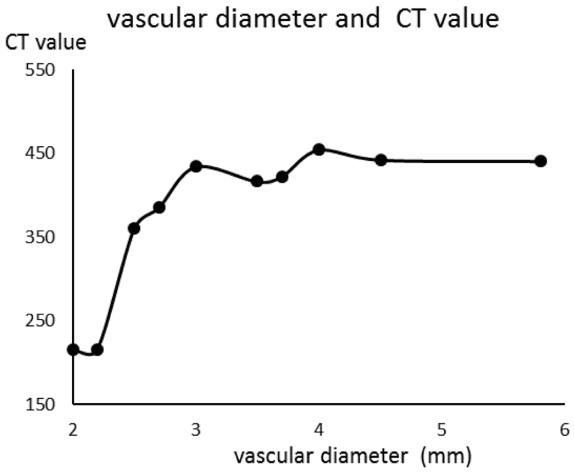



図 11　血官径と CT 値の関係

石灰化や閉塞病変を着色することにより冠動脈内腔をわかりやすく可視化することができたが、一方で冠動脈内腔の表面をどこまで精細に表現できるかは大きな課題であることが明らかとなった。例えば、CT 値は撮影条件によって同一患者でもばらつきが生じることや周囲の CT 値と大差のない部分があることなどから境界を明瞭に提示することは極めて困難である。

もう一つの大きな課題は CT 値の低下に伴う解像度の低下である。末梢の血管になるにつれて血管径が小さくなる。今回の検討でも、末梢の血管では CT 値が下がってしまい、コントラストが下がるため精密に画像構築することが困難であった。特に血管径が 3.0 mm より細くなると CT 値が大きく落ちる傾向がある（図 11）。この理由として、通常の造影 CT では比較的冠動脈の中枢部に合わせて撮像するために、末梢の血管まで十分な造影剤が注入されていない状態での撮影を行っていることも原因の一つとして考えられる。また、今回使用しているソフトでは末梢血管は冠動脈基部の半分ほどの大きさになっているにも関わらず同じ大きさで表示するシステムになっているため、末端部では pixel が引き伸ばされることになり、解像度が大きく低下してしまう原因の一つであると考えられる。冠動脈の先端付近までガイドワイヤを進めることが求められるため、この部分をどのように画像処理するべきであるかについては更に検討が必要である。

## 4．まとめ

新たな冠動脈治療法の基盤となる技術の開発を行い、作成したデバイスの評価を行った。原理的にはほぼ完成しており生体実験へむかって次のステップに進むべきプロジェクトもあれば、一方で新たな課題が明確になったものも認められた。これらの構想により被曝を減らす PCI 手術は将来性が高いことから、知的財産権を取得した上で企業との連携が重要である。

## 謝辞

最後になりましたが、本研究をご支援いただきました中谷医工計測技術振興財団に深く感謝いたします。

## 参考文献および発表論文

1) 国立循環器研究センター(2011)「病気について虚血性心疾患」, http://www.ncvc.go.jp/cvdinfo/disease/ischemic-heart-disease.html
2) Stefanini GG1, Byrne RA, Windecker S, Kastrati A, State of the art: coronary artery stents - past, present and future. EuroIntervention. 2017; 6:706-716.
3) Emedicinehealth experts for everyday emergencies(2017) Percutaneous Coronary Intervention (PCI) https://www.emedicinehealth.com/percutaneous_coronary_intervention_pci/article_em.htm
4) Yuan Y, Long D, Sang C, Tao L, Dong J, Ma C, A practical guide for building a highway between atria during transseptal puncture without radiation. Anatol J Cardiol. 2017; 6:470-472.
5) Sciarra L1, Dottori S, De Ruvo E, De Luca L, Pitrone P, Rebecchi M, Zuccaro L, Lanzillo C, Minati M, Lioy E, Calò L, The new electroanatomical Carto3 mapping system: three-dimensional right ventricular fast anatomical map resolution in comparison to magnetic resonance image. J Cardiovasc Med (Hagerstown). 2011; 6:434-5.
6) Bourier F1l, Fahrig R, Wang P, Santangeli P, Kurzidim K, Strobel N, Moore T, Hinkel C, Al-Ahmad A, Accuracy assessment of catheter guidance technology in electrophysiology procedures: a comparison of a new 3D-based fluoroscopy navigation system to current electroanatomic mapping systems. J Cardiovasc Electrophysiol. 2014; 1:74-83.
7) Barbero U1, Budano C1, Golzio PG1, Castagno D1, Gaita F1, Combining electromagnetic navigation and 3-D mapping to reduce fluoroscopy time and achieve optimal CRT response. Pacing Clin Electrophysiol. 2017;
8) Mahmud E1, Dominguez A2, Bahadorani J2, First-in-human robotic percutaneous coronary intervention for unprotected left main stenosis. Catheter Cardiovasc Interv. 2016 Oct;88(4):565-570.

## 発表論文

特許出願中のため差し控えている。

# アミリンを標的とした近赤外/２光子励起蛍光プローブの開発と糖尿病病態解明への応用

研究責任者　京都大学　薬学研究科
病態機能分析学分野
助　教　　渡邊　裕之

## １．はじめに

現在、生活習慣病のひとつである糖尿病の患者数は日本国内では約 1000 万人を超えており、2030 年には世界で 5 億人を超えることが予測されている。糖尿病の大半を占める 2 型糖尿病(T2DM)患者において、膵臓における膵β細胞量の減少がその発症の原因のひとつと考えられており、病状の悪化を防ぐには早期における診断・治療が重要と考えられている [1), 2)]。膵β細胞から分泌される 37 アミノ酸からなるペプチドホルモンであるアミリンの凝集体を主構成成分とする膵島アミロイドの沈着は、T2DM の特徴のひとつであり、また、その蓄積量は T2DM の重症度との相関が示唆されていることから(図 1)、アミリンは糖尿病の診断および治療に有用な標的分子となりうると考えられる [3), 4)]。しかしながら、発症原因とされる膵β細胞量の減少との関連性など明らかになっていないことは多く、そのため、アミリン凝集体を主構成成分とする膵島アミロイドの沈着の生体イメージングは、糖尿病の病態解明さらには早期における診断・治療における有効な手段となり得る。

近年、放射線被爆の恐れがなく、簡便な使用が可能かつ高解像度の画像が得られる蛍光プローブを用いた生体イメージングが注目されており、特に生体透過性が高い近赤外領域に励起・蛍光波長を有するプローブの開発研究が盛んに行われている [5), 6)]。しかしながら、蛍光プローブを用いた生体イメージングは生体深部の観察が難しいことから、深さ情報が少なく、正確な 3 次元的情報を得ることは難しい。一方、2 光子励起顕微鏡を用いた生体イメージングは、撮像視野は狭いものの、光による組織へのダメージが少なく、さらに生体深部を含めた 3 次元的情報を高解像度で得ることが可能であるため、基礎研究のみならず、治療のモニタリングや早期診断への応用も期待されている [7), 8)]。

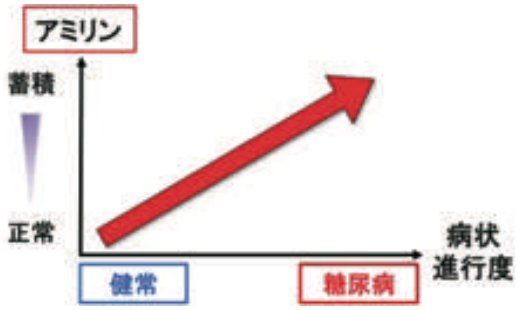
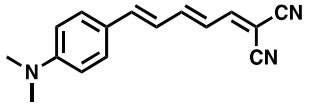



図1　アミリンの蓄積と 2 型糖尿病との関係

アミリン凝集体は、アルツハイマー病の原因タンパク質のひとつとされるβ-アミロイドタンパク

質(Aβ)凝集体と同様のβシート構造をとることで膵臓へ沈着する[9]。そのため、Aβ凝集体に結合する化合物はアミリンに結合する可能性が高く、筆者らはこれまでに、この概念を基盤としたいくつかのアミリンを標的とした核医学イメージングプローブを報告している[10), 11)]。そこで本研究では、筆者らがこれまでに開発してきた近赤外蛍光 Aβイメージングプローブの中で、2 光子励起イメージングへの応用可能性が計算科学的に報告されている DANIR 2c （図２）[12), 13)]の近赤外／2 光子励起蛍光イメージングプローブとしての有用性について評価を行った。




**DANIR 2c**

**図2 DANIR 2c の化学構造**

## ２．方法

### 2.1 アミリン凝集体存在下における蛍光スペクトルの測定

最終濃度が 5 μM になるように希釈した DANIR 2c および最終濃度がそれぞれ 1 μM、5 μM になるように調製したアミリン凝集体を 10% DMSO 溶液に溶解した。室温で 30 分間インキュベートした後、励起波長 560 nm における蛍光スペクトルを測定した。

### 2.2 アミリン凝集体を用いた結合飽和実験

最終濃度が 3.9 - 4000 nM になるように希釈した DANIR 2c もしくはチオフラビン S、および最終濃度が 2.0 μM になるように調製した Aβ(1-42)凝集体を 10% DMSO に溶解し、室温で 30 分間インキュベートした。各濃度における蛍光強度を測定し、GraphPad Prism 6.0 で飽和曲線を作成し見かけの $K_d$ 値を求めた。

### 2.3 アミリンモデルマウス膵臓切片を用いた in vitro 蛍光染色

DANIR 2c を 30% DMSO 溶液を用いて 100 μM に希釈した。膵臓切片を DANIR 2c (150 μL)と 30 分間インキュベートさせた後、30% DMSO で 30 分間洗浄し、蛍光顕微鏡を用いて観察した。さらに、隣接切片を用いてチオフラビン S 溶液 (100 μM、150 μL)とインキュベート後、上記と同様の方法で洗浄、観察を行った。

### 2.4 アミリンモデルマウス膵臓切片を用いた ex vivo 蛍光染色

DANIR 2c 溶液 (500 μM、溶媒; 20% DMSO および 80% プロピレングリコール)を 50 μL アミリンモデルマウス尾静脈より投与した。投与後、5 分後に IVIS spectrum を用いて撮像した。投与 30 分後に屠殺、膵臓を摘出、SCEM で包埋し、ヘキサンバスにより凍結させた。ミクロトームを用いて厚さ 20 μm の連続切片を作製し、蛍光顕微鏡を用いて観察した。洗浄後、同一切片を用いてチオフラビン S 溶液 (150 μL)で染色し、観察を行った。

### 2.5 正常マウスを用いた 2 光子励起蛍光イメージング

左脇腹を開腹し、膵臓を露出した正常マウスにイソフルラン麻酔下、DANIR 2c 溶液 (500 μM、溶媒; 20% DMSO および 80% プロピレングリコール)を尾静脈より投与した。投与 1 分後から 30 分後まで、2 光子励起顕微鏡 (FV1200MPE-BX61WI)を用いて膵臓を経時的に撮像した。

### 2.6 アミリンモデルマウスを用いた 2 光子励起蛍光イメージング

左脇腹を開腹し、膵臓を露出したアミリンモデルマウスにイソフルラン麻酔下、DANIR 2c 溶液 (500 μM、溶媒; 20% DMSO および 80% プロピレングリコール)を尾静脈より投与した。投与 30 分後、2 光子励起顕微鏡を用いて膵臓を撮像した。

## ３．結果

### 3.1　アミリン凝集体存在下における蛍光スペクトルの測定

アミリン凝集体と混和した際の蛍光スペクトルを図３に示す。アミリン凝集体の濃度に依存して DANIR 2c の蛍光強度が増大したことから、DANIR 2c がアミリン凝集体に対して結合性を有すること、およびアミリン凝集体を明瞭に描出できる可能性が示唆された。また、アミリン凝集体結合時の最大蛍光波長は 684 nm であり近赤外領域であった。

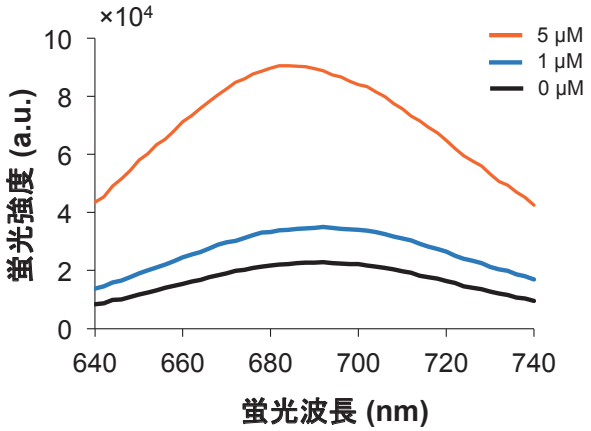



図3　アミリン凝集体存在下、非存在下における DANIR 2c の蛍光スペクトル

### 3.2　アミリン凝集体を用いた結合飽和実験

アミリン凝集体に対する結合親和性を定量的に検討するため、アミリン凝集体と結合した際に生じる蛍光上昇を指標にした結合飽和実験を行い、見かけの $K_d$ 値の算出を行った 。その結果、DANIR 2c の $K_d$ 値は 80.5 nM であり、アミロイド蛍光染色試薬であるチオフラビン S の $K_d$ 値 (791 nM)に比べ低い値を示した。以上の結果より、DANIR 2c がアミリン凝集体に対する強い結合親和性を有することが明らかとなった。

### 3.3　アミリンモデルマウス膵臓切片を用いた in vitro 蛍光染色

アミリンモデルマウス膵臓切片の in vitro 蛍光染色を行うことで、アミリン凝集体に対す結合性を確認した（図４）。その結果、切片上に DANIR 2c 由来の蛍光像が観察され、隣接切片をチオフラビン S により染色したところ、DANIR 2c の染色部位と一致した。以上の結果より、DANIR 2c はいずれもアミリンモデルマウス膵臓切片上のアミリン凝集体に対して、結合性を有することが示された。

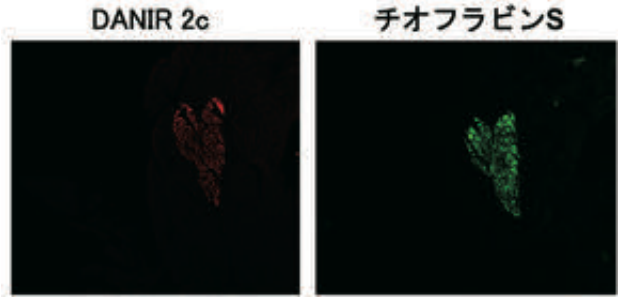



図４　アミリンモデルマウス膵臓切片の DANIR 2c (左)およびチオフラビン S (右)による in vitro 蛍光染色画像

### 3.4　アミリンモデルマウス膵臓切片を用いた ex vivo 蛍光染色

アミリンモデルマウス膵臓切片の ex vivo 蛍光染色を行うことで、マウス生体内における、DANIR 2c のアミリン凝集体に対する結合性を確認した（図５）。その結果、in vitro 蛍光染色実験と同様、膵臓切片上に DANIR 2c 由来の蛍光像が観察され、同一切片をチオフラビン S により染色したところ、DANIR 2c の染色部位と一致した。以上の結果より、DANIR 2c はアミリンモデルマウス生体内においてもアミリン凝集体に対して、結合性を有することが示された。

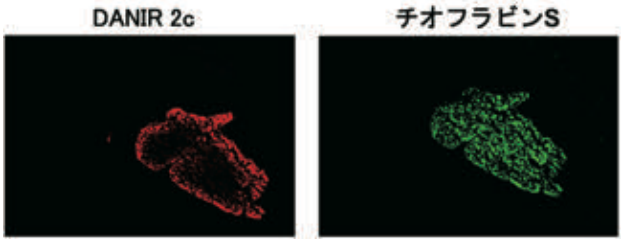



図5　Ex vivo における DANIR 2c を投与したアミリンモデルマウス膵臓切片の蛍光画像(左)、および同一切片を用いたチオフラビン S による蛍光染色画像(右)

### 3.5　正常マウスを用いた 2 光子励起生体蛍光イメージング

DANIR 2c の 2 光子励起蛍光イメージングプローブとしての有用性および膵臓内挙動を評価するために、正常マウスの膵臓を 2 光子励起蛍光顕微鏡を用いて経時的に観察した（図６）。その結果、投与 1 分後には血管が描出され、その後膵臓組織へ移行すること、さらに、経時的に蛍光強度が減弱していく様子が観察された。

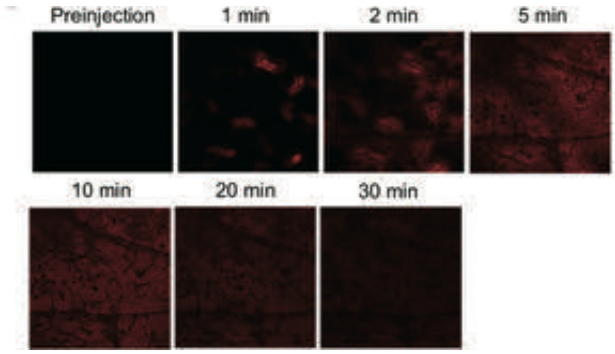



図6　DANIR 2c を投与した正常マウスの膵臓における 2 光子励起蛍光画像

以上の結果から、DANIR 2c がマウス生体内において 2 光子励起蛍光イメージングプローブとして機能すること、投与早期に膵臓に取り込まれ、その後継時的に膵臓から消失することが示唆された。

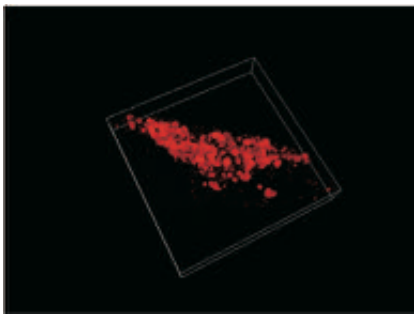


図7　DANIR 2c を投与したアミリンモデルマウスの膵臓における 2 光子励起蛍光画像

### 3.6　アミリンモデルマウスを用いた 2 光子励起生体蛍光イメージング

DANIR 2c のアミリン凝集体を標的とした 2 光子励起蛍光イメージングプローブとしての有用性を評価するために、アミリンモデルマウスの膵臓を 2 光子励起顕微鏡を用いて観察した。その結果、マウス膵臓内のアミリン凝集体を明瞭に描出することに成功した。

## ４．結論

アミリン凝集体を用いた in vitro における検討において、DANIR 2c がアミリン凝集体に対する強い結合親和性を示すことを明らかにした。また、モデルマウスの膵臓切片を用いた蛍光染色実験においてアミリン凝集体を明瞭に描出できることが明らかとなった。さらにモデルマウスを用いた *ex vivo* 実験において、マウス生体内へ投与した DANIR 2c がアミリン凝集体へ結合することが示された。2 光子励起顕微鏡を用いた正常マウス膵臓の生体イメージングにおいて、DANIR 2c が 2 光子励起蛍光イメージングに応用可能なこと、およびアミリンイメージングに適した膵臓内挙動をとることを認めた。さらに、マウス膵臓内のアミリン凝集体を 2 光子励起顕微鏡を用いた生体イメージングによって明瞭に描出することに成功した。以上より、DANIR 2c が膵島アミリンを標的とした 2 光子励起蛍光イメージングプローブとして有用であり、糖尿病病態解明研究への応用可能性が示された。

## 謝辞

本研究は、中谷医工計測技術振興財団平成 28 年度奨励研究助成および京都大学蛍光生体イメージング室の支援によって行われたものであり、ここに深謝致します。

## 参考文献および発表論文

1) Holman, N.; Young, B.; Gadsby, R. *Diabet Med* **2015**, *32*, 1119-1120.

2) Zheng, Y.; Ley, S. H.; Hu, F. B. *Nature reviews* **2018**, *14*, 88-98.

3) Marzban, L.; Park, K.; Verchere, C. B. *Exp Gerontol* **2003**, *38*, 347-351.

4) Hoppener, J. W.; Ahren, B.; Lips, C. J. *N Eng J Med* **2000**, *343*, 411-419.
5) Willmann, J. K.; van Bruggen, N.; Dinkelborg, L. M.; Gambhir, S. S. *Nat Rev Drug Discov* **2008**, *7*, 591-607.
6) Staderini, M.; Martin, M. A.; Bolognesi, M. L.; Menendez, J. C. *Chem Soc Rev* **2015**, *44*, 1807-1819.
7) Kim, D.; Moon, H.; Baik, S. H.; Singha, S.; Jun, Y. W.; Wang, T.; Kim, K. H.; Park, B. S.; Jung, J.; Mook-Jung, I.; Ahn, K. H. *J Am Chem Soc* **2015**, *137*, 6781-6789.
8) Kim, H. M.; Cho, B. R. *Chem Rev* **2015**, *115*, 5014-5055.
9) Sun, Y.; Wang, B.; Ge, X.; Ding, F. *Phys Chem Chem Phys* **2017**, *19*, 28414-28423.
10) Yoshimura, M.; Ono, M.; Watanabe, H.; Kimura, H.; Saji, H. *Sci Rep* **2014**, *4*, 6155.
11) Yoshimura, M.; Ono, M.; Watanabe, H.; Kimura, H.; Saji, H. *Bioconjugate Chem.* **2016**, *27*, 1532-1539.
12) Cui, M.; Ono, M.; Watanabe, H.; Kimura, H.; Liu, B.; Saji, H. *J Am Chem Soc* **2014**, *136*, 3388-3394.
13) Murugan, N. A.; Zalesny, R.; Kongsted, J.; Nordberg, A.; Agren, H. *Chemical Commun* **2014**, *50*, 11694-11697.

# 膜タンパク質を材料とした新規細胞内電位計測法の開発

研究責任者　東京工業大学　工学院機械系
八木研究室
日本学術振興会特別研究員(PD)　　榛葉　健太

## 1．はじめに

ヒト iPS 細胞は、再生医療における細胞ソースとして注目が集まっている。ヒト iPS 細胞から分化誘導した神経細胞を移植することで、これまで治療が困難であった中枢神経系の疾患に対する有効な治療法となることが期待される。iPS 細胞から分化した神経細胞が機能を獲得したことを確認するために、細胞内電位を計測し、活動電位の発生やシナプス結合の有無が指標とされる [1]。従来、細胞内電位の計測にはパッチクランプ法が用いられるが、高い侵襲性から長期間の評価は困難であり、ヒト iPS 細胞由来神経細胞の分化・成熟過程を連続的に評価することはできない。そこで、本研究では、ヒト iPS 細胞由来の神経細胞に対して、長期間にわたり細胞内電位を計測するための手法の開発を目指す（図 1 参照）。

本研究では、細胞と電極のインタフェースとして、connexin と呼ばれる膜タンパク質を用いる。connexin は、ギャップ結合においてチャネルを形成するタンパク質であり、細胞膜中で 6 つの connexin が集まり connexon と呼ばれる構造を形成する。Connexon 同士が結合することで、細胞間のギャップ結合が形成される。細胞が発現した connexon と、電極上に形成した人工細胞膜に埋め込んだ connexon を結合させることにより、細胞内電位の計測が可能になる。また、ギャップ結合は小分子も通過できるため、電気計測・刺激に加えて、薬理刺激も可能である。

Connexin は脂質二重膜中のみで機能するため、デバイスの作製にあたって脂質二重膜を安定して形成する方法が必要である。ここで、長期計測を考えた場合、膜の安定性が重要となる。安定して脂質二重膜を形成する方法としては平滑な基板上に膜を展開させる方法が報告されている [2]。

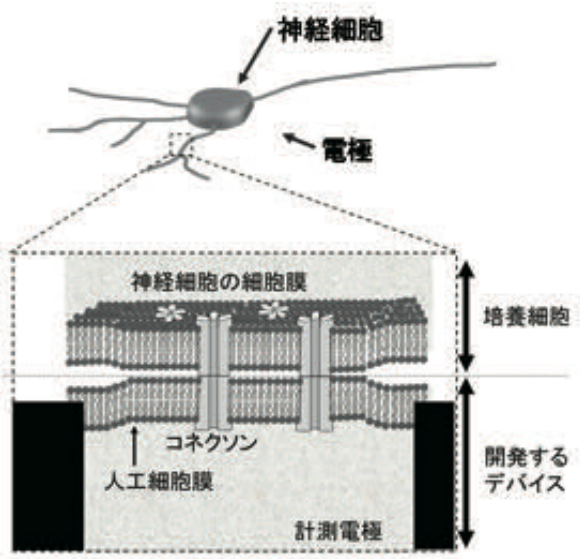



図1　開発する計測デバイス。神経細胞と計測電極部が、膜タンパク質であるコネクソンを介して結合した状態を目指す。

しかし、平滑面に膜を形成した場合、膜と基板の距離が近いことで膜タンパク質が正しい形状をとることができないことが懸念される。そこで、本研究では多孔平面状において脂質二重膜を形成することを目指す。

本研究では、人工細胞膜中に埋め込んだconnexinを用いて神経細胞に対して、細胞内電位計測を行うことができるデバイスの開発を目指す。そのために、基盤技術となる、1）任意形状の脂質二重膜を形成する技術、および 2）対象とした膜タンパク質を無細胞タンパク質合成試薬により合成する方法の確認を本研究の目的とした。

## ２．研究方法

### 2.1　様々な素材上での脂質二重膜の形成

多孔性の平面を構成する材料として、ハイドロゲルの１種であるアガロース、および直径 50 nm の穴を有するメンブレンフィルタ（Nuclepore Hydrophilic Membrane、Whatman）を用いた。また、コントロールとして親水化処理を施したガラスを用いた。

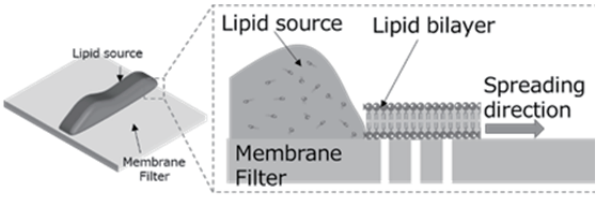



**図2　脂質二重膜の自発展開実験。親水性表面を有するフィルタ上で、リン脂質から構成される二重膜が自発的に形成される。**

脂質二重膜を展開させる手法（図２）は、以下の通りである [2]。最初に、クロロホルムに溶解させた 13 mM L-α-Phosphatidylcholine from egg yolk (Sigma)および 1.3 mM N-(Fluorescein-5-Thiocarbamoyl)-1,2-Dihexadecanoyl-sn-Glycero-3-Phosphoethanolamine(Flu-DHPE、Thermo Fisher)を 99：1 のモル比で混合した。次に、脂質溶液を減圧チャンバ内で減圧し、溶媒であるクロロホルムを蒸発させた。その後、脂質を基板上に塗布した。最後に、100 mM NaCl および 10 mM Tris-HCl から構成される緩衝液を脂質の上から満たした。

脂質が展開する様子は、Flu-DHPE の蛍光を取得することで観察した。観察には、位相差顕微鏡、共焦点ユニット、およびレーザから構成されるシステムを用いた。5 分ごとに 12 枚の蛍光画像を取得した。

### 2.2　膜の展開速度の評価

脂質二重膜を自発展開させると、展開速度が実験を始めた時刻からの時間に応じて変化することが知られており [3]、その変化は以下の式で表される。

$$\mathbf{v} = \left(\frac{\boldsymbol{\beta}}{\boldsymbol{t}}\right)^{\frac{1}{2}}$$

ここで、t [s]および v [m/s]は、それぞれ実験開始からの経過時間および時刻 t における展開速度である。また、β[m²/s]は展開係数であり、用いた材料などに依存した値を示す。

### 2.3　膜の流動性の確認

脂質二重膜を構成する分子は、側方拡散が起こるために高い流動性を示す。そこで、fluorescent recovery after photobreaching (FRAP) 法（図３）を用いて膜の流動性を確認した。最初に、形成した脂質二重膜に励起光を照射し、一部を退色させた。その後、退色領域の蛍光輝度を 20 分間観察し、輝度の回復が起こるかを評価した。

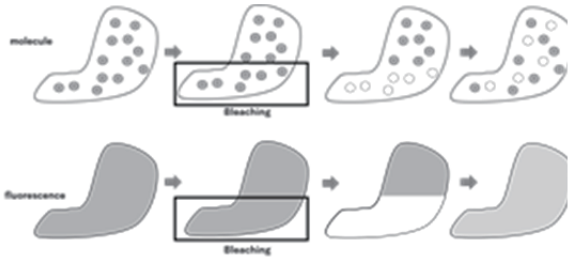



**図3　FRAP 実験の概要。形成された脂質二重膜に流動性がある場合、側方拡散により退色領域の蛍光輝度が回復する。**

### 2.4　無細胞タンパク質合成

膜タンパク質を合成するために無細胞タンパク質合成を行った。試薬として PURE frex 2.0（ジーンフロンティア社)を用い、製品に添付されたプロトコルに沿って実験を行った。タンパク質は、ギャップ結合の形成に関わるタンパク質である Connexin 43 を対象とした。鋳型 DNA は、pTagRFP-CX43（Evrogen）を用い、PCR 反応によりタンパク質合成に必要なリボソーム認識部位、T7 プロモーターを付加した。合成した DNA は、精製した後シーケンサーにより配列が正しく合成されたことを確認した。Connexin 43 タンパク質が合成できたことは、ウェスタンブロット法を用いて評価した。最初に ATTO 社製の既成ゲルを用いて SDS-PAGE を行った。次に、セミドライ式のブロッティングによりタンパク質をメンブレンに転写した。ウシ血清アルブミンによりブロッキングを行った後、一次抗体および二次抗体を反応させた。シグナルの検出には SuperSignal™ West Dura Extended Duration Substrate (LifeTechnologies)を用いた。

## ３．成果

### 3.1　展開速度と温度の関係

図４に、親水化したガラス基板上での 22℃、33℃時の膜の展開様子を示す。脂質をバッファーに浸した３分から５分後を開始時とした。いずれの温度においても、脂質スポットが強い蛍光を発した。さらに、時間の経過に伴って、強い蛍光部分の外側に、弱い蛍光を発する領域が広がった。弱い蛍光領域と蛍光が観察されなかった領域の境界を白い点線で示す。22℃では、１時間後蛍光領域の面積は 0.077 mm²から 0.220 mm²に拡大した（図４(a)および(b)）。33℃では、１時間後、蛍光領域の面積は 0.164 mm²から 0.533 mm²に拡大した（図４(c)および図４(d)）。

撮影した画像から算出した弱い蛍光領域の展開速度を図５に示す。結果を両対数グラフに示すと、開始から１時間、いずれの温度でも、弱い蛍光領域の展開速度が低下した。図５の直線は最小二乗法を用いて速度変化を算出した近似直線を表す。傾きは、22℃では-0.40、33℃では-0.52 であった。また、33℃での近似直線は、22℃より高い値をとった。以上は、33℃での弱い蛍光領域の展開速度が、22℃より高いことを示す。

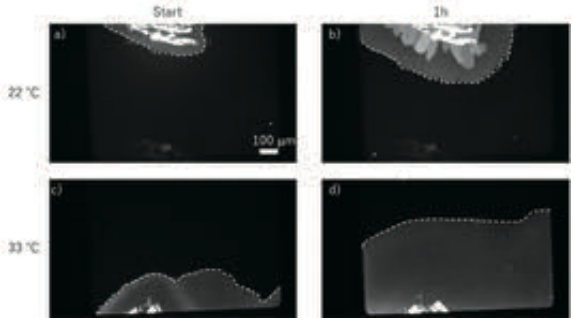



**図４　異なる温度での脂質二重膜の展開。画面中の弱い蛍光領域が形成された脂質二重膜を示す。また、破線は展開した脂質二重膜の縁を示す。**

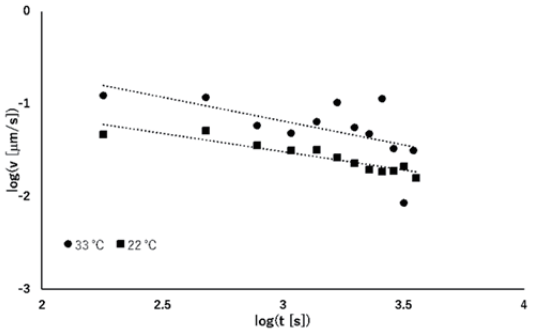



**図５　異なる温度での展開速度の時間変化。理論式から時間変化は傾き-0.5 の直線となるが、実測値は理論直線とよく一致した。また、計測時間を通じて、33 度での値の方が、22 度での値より高かった。**

22℃での展開速度の時間変化の傾きは、約-0.40 と理論値と近い値をとった。また、展開速度は先行研究 [4]の egg-PC を用いたシリコン上での脂質の展開速度と近い値となった。以上から親水化したガラス基板上で展開した蛍光領域は自発展開により生成された脂質二重膜であったと考えられる。また、33℃で自発展開を行った結果も、展開速度の傾きは-0.52 と理論値と近い値であった

ことから、33℃でも脂質二重膜が展開したと考えられる。図４に示したように、33℃での展開速度は22℃での展開速度より高かった。温度を上げたことにより、脂質二重膜内では相転移が起こり、脂質二重膜内の炭化水素部分は固体に近いゲル状態からより液晶状態に転移し、脂質分子がより高い流動性を示したことが理由であると考えられる。

### 3.2　メンブレンフィルタ上での自発展開

図６に、メンブレンフィルタ上で膜を展開させた様子を示す。開始時から強い蛍光領域と弱い蛍光が観察され、弱い蛍光領域が時間の経過につれ徐々に拡大した。蛍光域の面積は 0.059 mm²（図６(a)）から 0.184 mm²（図６(b)）に拡大した。

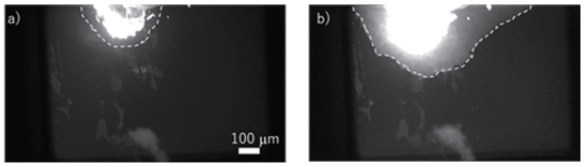



**図6　メンブレンフィルタ上での脂質二重膜の自発展開。破線は形成された脂質二重膜の縁を示す。**

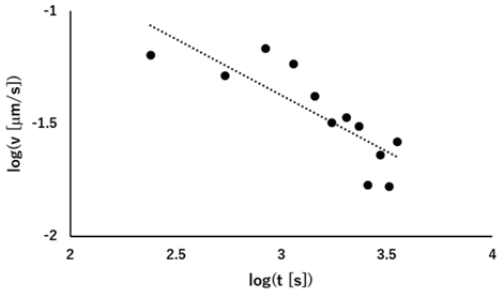



**図7　展開速度の時間変化。近似直線の傾きは -0.5 となり、理論式と一致した。**

また、展開速度の時間変化について、近似直線の傾きは-0.5 であった（図７）。したがって、親水処理を行ったガラス基板と同様に、メンブレンフィルタ上でも脂質二重膜が形成できることが示された。さらに、形成された脂質二重膜が、流動性を有することを確認するために、FRAP 実験を行った。結果を図８に示す。60 倍の対物レンズを通した励起光の照射により、面積 0.011 mm²の退色領域が観測され（図８(a)）、1200 s 後までに蛍光輝度が回復した（図８(b)）。図９に画像解析の結果を示す。メンブレンフィルタ上では照射により輝度値が 96 %まで退色したが、1080 s 後に 100 %まで回復した。黒い領域は円形に近く、理論式から求めた拡散速度は 1.56 μ²/s であった。以上から、従来用いられてきたシリコン基板、ガラス基板などの平滑面でなく、多孔性の形状を有するメンブレンフィルタ上でも脂質二重膜が形成できることが示唆された。

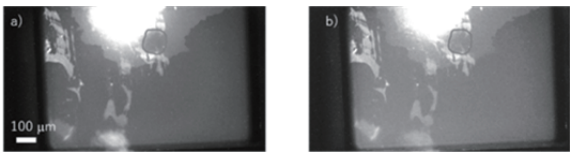



**図8　メンブレンフィルタ上に展開した脂質二重膜に対する FRAP 実験。**

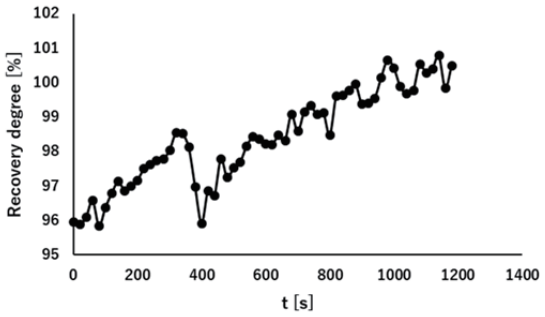



**図9　FRAP 実験における蛍光輝度の回復。**

メンブレンフィルタ上では開始時から薄い蛍光領域が展開する現象が見られた。これは先行研究による固体基板上での自発展開法と合致する [3]。さらに、近似直線の傾きは-0.5 であり、理論式と一致した。また、展開した弱い蛍光領域に FRAP 実験を行った結果、退色した領域の蛍光強度が回復し、蛍光領域が流動性を持つことが示された。拡散速度は、1.56 μ²/s であり、先行研究 [4]で報告された egg-PC によって生成した脂質二重膜の拡散速度 0.1~1μ²/s と近い値となった。以上から、メンブレンフィルタ上に展開した薄い蛍光領域は脂質二重膜だと考えられる。

今後は、メンブレンフィルタ上に形成した脂質二重膜に膜タンパク質を埋め込み、平滑面上に形成された脂質二重膜と多孔性平面状に形成された脂質二重膜のどちらが膜タンパク質の機能を維持できるかの評価を行う。

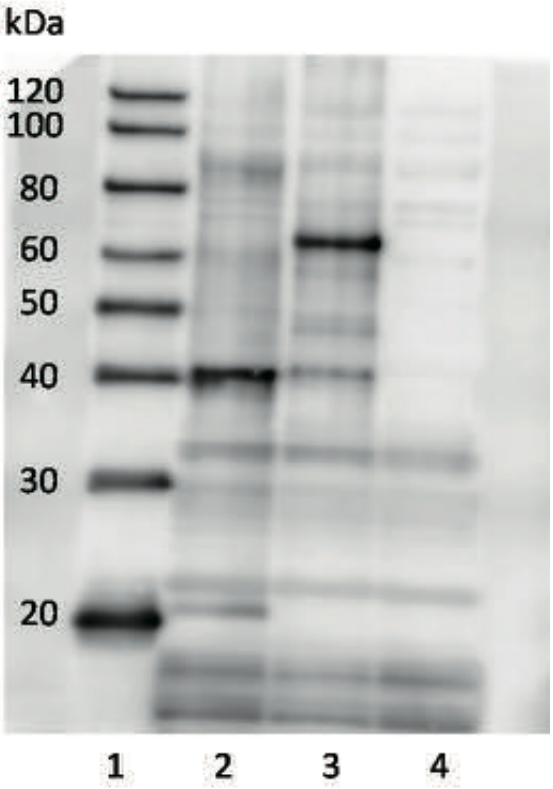



**図10　Connexin43 タンパク質の検出。レーン 2 が Connexin43,レーン 3 が Connexin43-RFP を泳動したレーンを示す。それぞれ 40 kDa, 70 kDa 付近にバンドが見られることから、目的としたタンパク質が合成できたことが示された。**

### 3.3　Connexin タンパク質の合成の確認

図 10 に、ウェスタンブロット法を用いて、合成した Connexin43 タンパク質を検出した結果を示す。比較のため、DNA を添加しない条件（レーン 4)、および Connexin43 に赤色蛍光タンパク質が付加されたタンパク質の DNA を入れた条件（レーン 3）の 2 つを用意し、実験を行った。レーン 1 はタンパク質の分子量を示すマーカーであり、レーン 2 が Connexin43 タンパク質を合成した条件である。図 10 より、レーン 2 では、Connexin43 の分子量である 43 kDa 付近にバンドがあり、Connexin43－RFP を合成したレーン 3 では融合タンパク質の分子量である 70 kDa 付近にバンドが見られることから、目的としたタンパク質が合成できたことが示された。今後は、合成したタンパク質をリポソームに埋め込み、機能的な評価を行うための実験系を構築する予定である。

## 4．まとめ

本研究では、神経細胞から活動計測を行うための新たなデバイスの開発を目指し、その基盤技術となる脂質二重膜の形成技術の開発、および膜タンパク質が合成できることの確認を実施した。結果、親水性であり直径 50 nm 程度の小孔を有するメンブレンフィルタ上で脂質二重膜が形成できることが示された。また、無細胞合成システムを用いて膜タンパク質である Connexin43 が合成できることを示した。以上から、今後の研究に有効な基盤技術の開発に成功したと結論付けた。さらに、両技術を組み合わせて、膜タンパク質が機能するための条件を検討していくことで、新たなデバイスの開発につながると考えている。

## 謝辞

本研究の一部は、公益財団法人中谷医工計測技術振興財団の技術開発研究助成(奨励研究)の支援を受けて行われました。ここに深く感謝の意を表します。

## 参考文献

1) Shi, Y., P. Kirwan and F. J. Livesey (2012). "Directed differentiation of human pluripotent stem cells to cerebral cortex neurons and neural networks." Nat Protoc 7(10): 1836-1846.

2) Furukawa, K., K. Sumitomo, H. Nakashima, Y. Kashimura and K. Torimitsu (2007). "Supported lipid bilayer self-spreading on a

nanostructured silicon surface." Langmuir 23(2): 367-371.

3) Radler, J., H. Strey and E. Sackmann (1995). "Phenomenology and Kinetics of Lipid Bilayer Spreading on Hydrophilic Surfaces." Langmuir 11(11): 4539-4548.

4) Furukawa, K., Nakashima, H., Kashimura, Y., and Torimitsu, K. (2006). Microchannel device using self-spreading lipid bilayer as molecule carrier. Lab on a Chip, 6(8), 1001–6.

**学会発表**

[1] 彭祖癸，榛葉健太，宮本義孝，八木透，“膜タンパク質アッセイ系を目指したゲル支持二重膜の自発展開法の開発”，第 17 回日本再生医療学会総会，P-02-104，神奈川，2018.

[2] 尻江知彦，榛葉健太，宮本義孝，八木透，“2 種類の高分子フィルムを用いた脂質二重膜形成に関する研究”，医用・生体工学研究会，MBE-18-001，東京，2018.

[3] 彭祖癸，榛葉健太，宮本義孝，八木透，“自発展開法による多孔質フィルム支持型脂質二重膜の形成”，医用・生体工学研究会，MBE-18-011，東京，2018.

[4] Z Peng, K Shimba, Y Miyamoto, T Yagi, “Self-Spreading of Lipid Bilayer on Microfabricated Hydrogel Pattern toward Biosensor Application”, Bio4Apps 2017, Tokyo, Japan, 2017.

[5] 彭祖癸，榛葉健太，宮本義孝，八木透，“自発展開法によるハイドロゲル上への人工脂質二重膜の形成”, 電気学会 C 部門大会, 1544-1545, 香川，2017.

[6] K Shimba, Y Miyamoto, T Yagi, “Hydrogel-Supported Bilayers for Studying Membrane Protein Functions”, 10th Biomedical Engineering International Conference (BMEiCON), Hokkaido, Japan, 2017.

[7] K Shimba, K Shoji, Y Miyamoto, T Yagi, “Self-Spreading Method for Forming Lipid Bilayer on a Patterned Agarose Gel: Toward Precise Lipid Bilayer Patterning”, 39th anuual international conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, Jeju Island, Korea, 2017.

[8] 榛葉健太，庄司一真，宮本義孝，八木透，“膜タンパク質の機能評価に向けたゲル支持二重膜パターニング法の開発”，第 56 回日本生体医工学会大会，宮城，2017.

# 新規脳深部イメージング手法の開発と応用

研究責任者　京都大学大学院　薬学研究科
生体機能解析学分野
助　教　　永安　一樹

## １．はじめに

うつ病などの精神疾患は、特に先進国において疾患負荷の大きな割合を占める重大な社会問題である。精神疾患の多くでは、快・不快や不安・うつ症状といった情動機能の障害が引き起こされていることから、情動の適切なレベルへの制御がどのように行われているのか、というメカニズムを詳細に解明することは、生体の恒常性を維持するための新たな手法を開発する上で極めて重要である。

近年、この情動のうち不安レベルの制御において、セロトニンが重要な役割を果たしていることが、光遺伝学的手法により示されている。また我々は最近、独自に開発したセロトニン神経特異的ウイルスベクターと光遺伝学的ツールを組み合わせることで、セロトニン神経活動の亢進により抗うつ作用が引き起こされることを光遺伝学的手法により見出している。一方、これまでの研究は、神経核内の全セロトニン神経の刺激がもたらす行動学的変化しか解析できておらず、脳内のほぼ全領域へと投射するセロトニン神経のうち「どの回路を構成するセロトニン神経が」「どのタイミングで」活動するのが重要であるのかを解明できていない。その原因として、「どの回路を構成する神経が活動したのか」を自由行動下の動物で計測するツールが未開発であることが挙げられる。

自由行動下で神経活動を計測する手法としては、脳深部のイメージングに用いられているinscopix 社等の既存の in vivo 蛍光顕微鏡があるが、一波長での計測しかできないため「どの回路を構成する神経が活動したのか」を解析できない。そこで本研究では、自由行動下で、多波長励起・多波長計測により回路別の活動解析が可能な、新規脳深部イメージング法の開発と、情動やうつ様状態に関わる行動中の、セロトニン神経活動計測への応用を目指して研究を実施した。

## ２．内容

まずはじめに、セロトニン神経活動を外来性に引き起こし得る刺激について検討を行った。既存の抗うつ薬であるセロトニン再取り込み阻害薬(SSRI)やセロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬(SNRI)は、セロトニンの再取り込みを防ぐことで、シナプス間隙のセロトニン濃度を上昇させるため、セロトニン神経活動自体は抑制するという特徴があり、セロトニン神経活動を外来性に引き起こし得る刺激としては適切ではないと考えられる。そこで、近年、SSRI や SNRI とは異なるメカニズムで、迅速に抗うつ作用を引き起

こすことが報告されている、麻酔薬ケタミンに着目し、検討を行った。

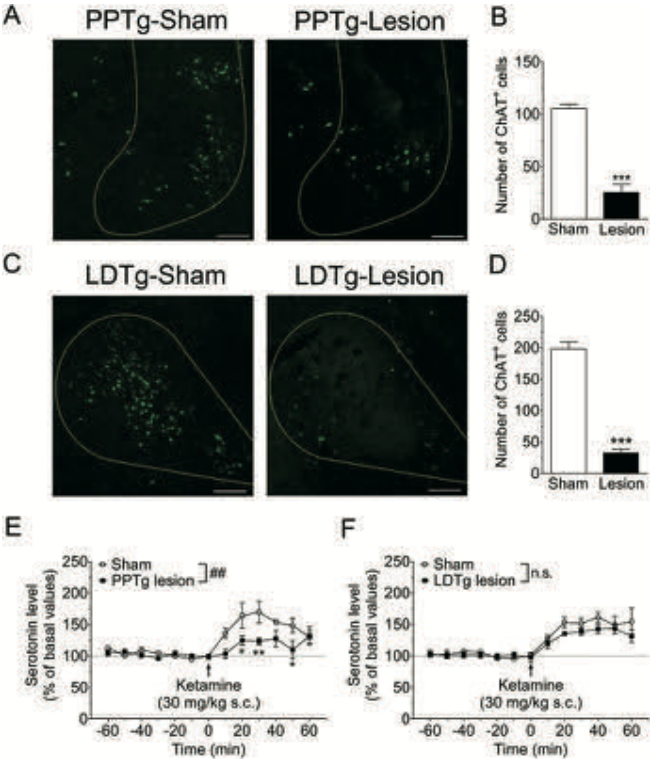



図1　ケタミンによるセロトニン遊離上昇は脚橋被蓋核に依存する

A,C 脚橋被蓋核(PPTg, A)あるいは背外側被蓋核(LDTg, C)を傷害したのち、アセチルコリン神経マーカーであるChAT(緑)に対する免疫染色を行った。B,D ChAT 陽性細胞数の定量結果。***P<0.001 vs. Sham. n=4-5. E,F PPTg あるいは LDTg 傷害後のラットにおける、ケタミンによる前頭前野セロトニン濃度変化。**P<0.01, *P<0.05 vs. Sham, ##P<0.01, n=4-5。

うつ病と関連の深い脳部位である前頭前野皮質に透析プローブを埋め込み、リンゲル液を恒常的に灌流し、灌流後の液をＨＰＬＣにより連続的に分析することで、前頭前野皮質のセロトニン濃度を経時的に測定した。ケタミン（30 mg/kg）をラットに皮下投与することにより、前頭前野皮質セロトニン濃度は上昇した。次に、このセロトニン濃度上昇が、再取り込み阻害によるものではなく、セロトニン神経活動の亢進を介したものであることを示すため、背側縫線核セロトニン神経活動を制御しているアセチルコリン神経核である、背外側被蓋核（LDTg）および脚橋被蓋核（PPTg）を電気的に傷害させたラットを用いて検討を行った。その結果、PPTg 傷害により、ケタミンの前頭前野皮質セロトニン遊離作用は有意に減弱した。一方、LDTg 傷害は、ケタミンの前頭前野皮質セロトニン遊離に有意な影響を与えなかった（図１）。

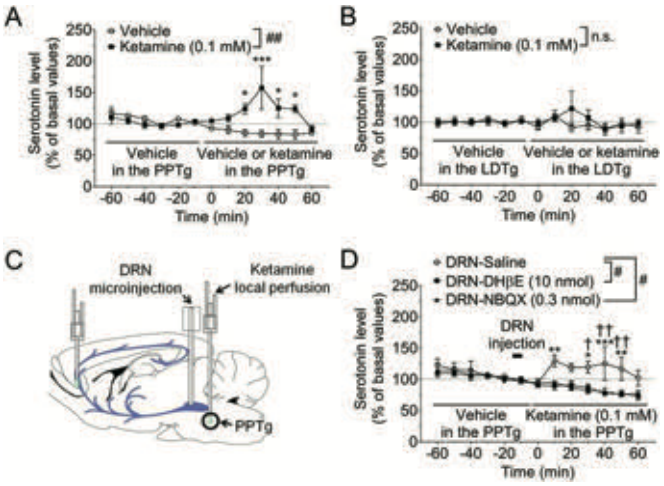



図2　ケタミンは脚橋被蓋核に直接作用し前頭前野セロトニン遊離を引き起こす

A,B 脚橋被蓋核(PPTg, A)あるいは背外側被蓋核(LDTg, B)にケタミンを灌流した際の前頭前野セロトニン濃度変化。***P<0.001, *P<0.05 vs. Sham, ##P<0.01, n=3-6. C プローブ埋め込みの模式図。D 背側縫線核に DHβE あるいは NBQX を局所投与したのち，ケタミンを皮下投与した。*P<0.05**P<0.01,***P<0.001 vs DHβE, †P<0.05, ††P<0.01 vs NBQX, #P<0.05, n=4-6。

さらに、前頭前野皮質セロトニン遊離に対するケタミンの PPTg への直接作用を検討するとともに、セロトニン再取り込みの場である前頭前野へのケタミンの影響を完全に排除して検討を進めるため、PPTg にケタミンを灌流する検討を行った。その結果、PPTg にケタミン（0.1 mM）を灌流するだけで、前頭前野皮質セロトニン遊離は有意に増加した。一方で、LDTg へのケタミンの灌

流は、前頭前野皮質セロトニン遊離に有意な影響を与えなかった。さらに、PPTg へのケタミン灌流によるセロトニン遊離は、背側縫線核へのAMPA 型グルタミン酸受容体阻害薬 NBQX（0.3 nmol）あるいはα４β２ニコチン性アセチルコリン受容体阻害薬 DHβE（10 nmol）の前投与によりほぼ完全に抑制された（図２）。これらの結果は、ケタミンが、PPTg のアセチルコリン神経を活性化させることで、背側縫線核セロトニン神経を間接的に活性化させ、前頭前野皮質セロトニン濃度を上昇させている可能性を強く示唆している。従って、ケタミンを用いることで、SSRI や SNRI と異なりセロトニン神経活動を直接活性化させ得ることが示された。

次に、背側縫線核セロトニン神経活動を in vivo で観察するため、細い光ファイバーを束にしたファイバーバンドルを用いた計測系の構築を行った。ファイバーバンドルを用いた計測系の概略を図３に示す。

まず初めに、本計測系を用いて GFP 陽性細胞のイメージングが可能か調べるため、EGFP 発現プラスミドをトランスフェクションした HEK293T 細胞を用いた検討を行った GRIN レンズの先端を培養液中に刺入していったところ、蛍光を発する 293T 細胞の輪郭がはっきりと観察された（図４）。また、カルシウム依存性蛍光タンパク質である GCaMP6s を発現させた 293T 細胞を用いた場合でも、同様の結果が得られたことから、本計測系を用いることで、蛍光細胞のイメージングが可能であることが示唆される。

次に、蛍光を発現させた脳細胞のイメージングが可能であるか検討するため、EGFP を神経細胞に発現させるアデノ随伴ウイルスベクターを、前障に注入したマウスより作製した脳切片を用いた検討を行った。その結果、EGFP 発現 293T 細胞を用いた場合に比して、蛍光強度が非常に劣るものの、蛍光陽性細胞が観察された（図５）。蛍光強度が著しく低かった理由としては、用いたプロモーターが、hSyn プロモーターと中程度の活性を有するものであったこと、パラホルムアルデヒド固定後の脳組織であったことが、可能性として考えられる。

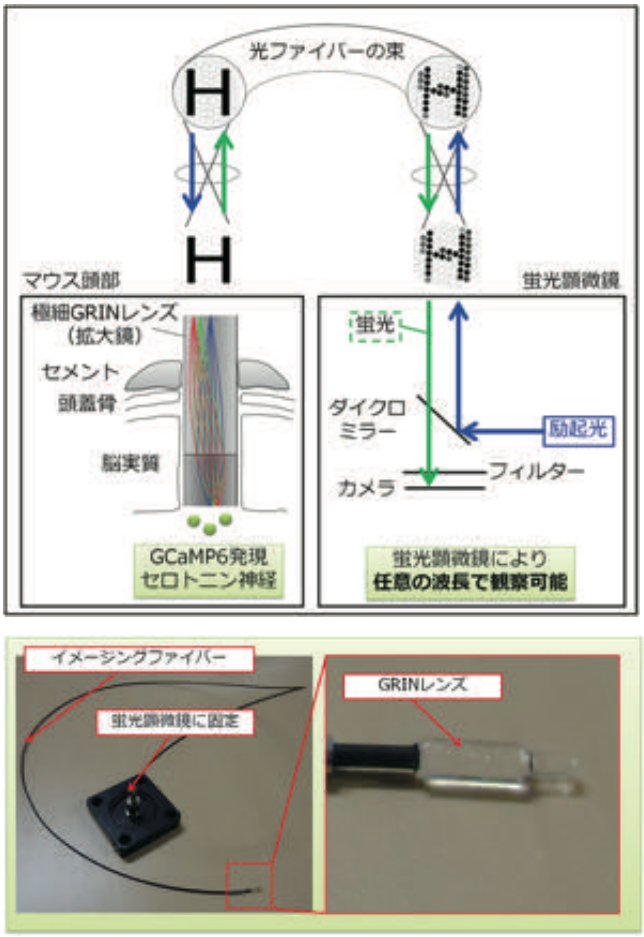



図３　ファイバーバンドルを用いた計測系

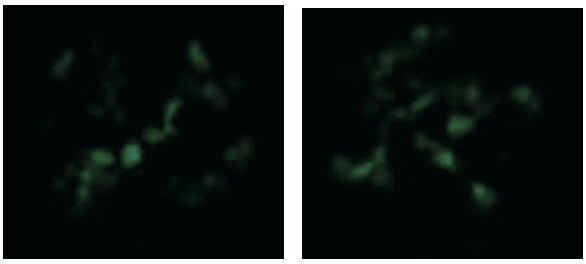


図４　ファイバーバンドルを用いた EGFP 発現 293T 細胞のイメージング

次に、マウス生体内の蛍光をイメージング可能か否か検討するため、マウス背側縫線核のセロトニン神経に、アデノ随伴ウイルスベクターを用いて蛍光タンパク質 Venus あるいは GCaMP6s を発現させ、イメージングを行った。セロトニン合成の律速酵素でありセロトニン神経のマーカー

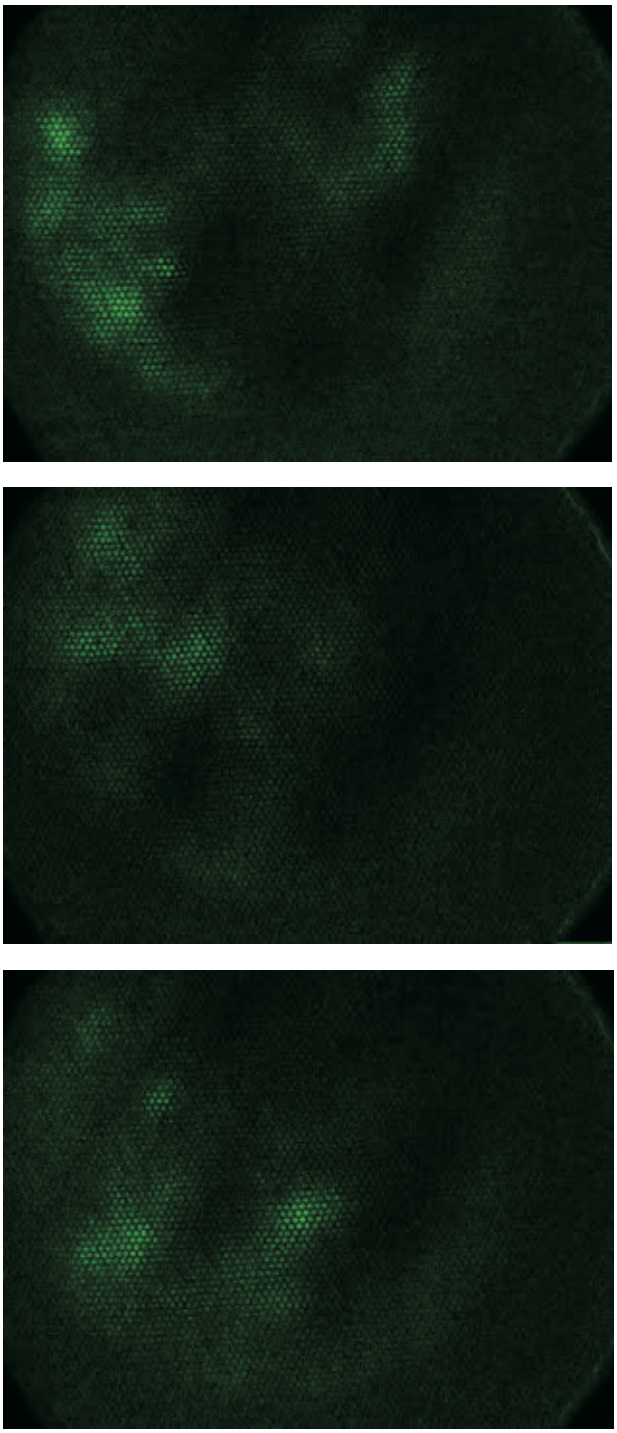


図5　ファイバーバンドルを用いた脳切片のイメージング

でもあるトリプトファンヒドロキシラーゼ２（TPH2）遺伝子のプロモーターの制御下でVenus を発現するアデノ随伴ウイルスベクターを、セロトニン神経核である背側縫線核に注入し、1 カ月間の回復期間ののち、麻酔下脳定位装置に固定した上で、GRIN レンズを刺入した。その結果、背側縫線核直上にレンズ先端を設置した際に、蛍光を発する細胞が観察された（図６Ａ）。次に、

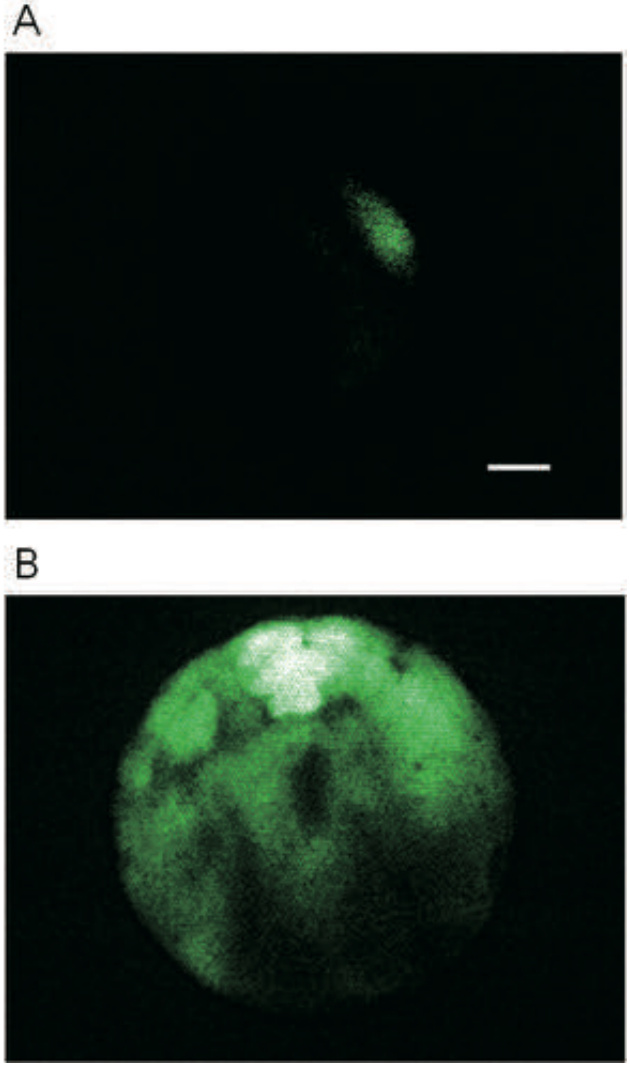



図6　ファイバーバンドルを用いたマウス生体脳のイメージング
A Venus 発現ウイルス感染後の背側縫線核のイメージング。B GCaMP6s 発現ウイルス感染後の背側縫線核のイメージング

TPH2 遺伝子プロモーター下で GCaMP6s を発現させるアデノ随伴ウイルスベクターを、同じく背側縫線核に投与したマウスを用いて検討を行った。その結果、Venus の場合と同様に、背側縫線核直上にレンズ先端を設置した際に、蛍光を発する細胞が観察された（図６Ｂ）。しかしながら、バックグラウンドの蛍光が強く、発火に起因する蛍光強度の経時的な変化は観察されなかった。今

後、用いるファイバーバンドルの素材を変更するとともに、より蛍光強度変化の大きいカルシウム依存性蛍光タンパク質を用いることで、in vivo でのイメージングが可能となると考えられる。

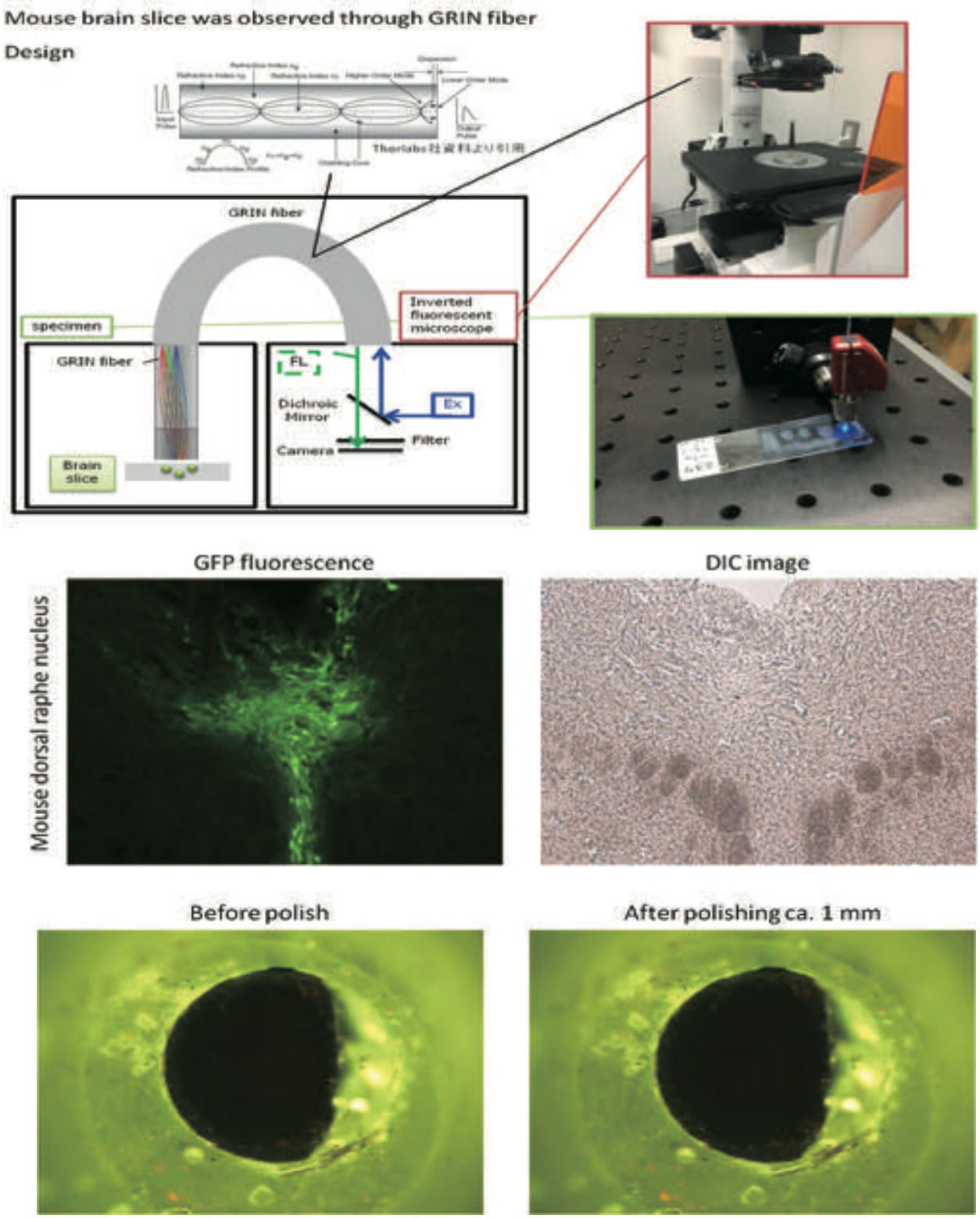



図7　GRIN ファイバーを用いた脳切片のイメージングの試み
上段　計測系の概略。中段　イメージングに用いた脳切片を倒立顕微鏡で観察した結果。下段　同じ脳切片を GRIN ファイバーを通してイメージングした結果。

ファイバーバンドルを用いた計測系では、GRIN レンズとファイバーバンドルの接続部において、深度情報が完全に失われるという特徴がある。そこで、ファイバーバンドルではなく、光ファイバー素線自体を、GRIN レンズ同様の性質を持つ GRIN ファイバーに変更することで、深度情報を維持したままイメージングが可能となるのではないかと考え、次に GRIN ファイバーを用いた計測系の構築を試みた（図７）。

ファイバーバンドルを用いた場合と同様に、セロトニン神経に蛍光タンパク質を発現させたマウスより背側縫線核を含む脳切片を作製し検討に用いた。倒立顕微鏡を用いて脳切片を観察した場合には、GFP 陽性細胞が多数観察された（図７中段）一方で、GRIN ファイバーを用いた場合では明確な蛍光シグナルを得ることはできなかった（図７下段）。GRIN ファイバーのピッチ数が適切でない可能性を考え、焦点面を上下させるとともに、ファイバー先端の削り込みを行ったが、いずれの場合も明確なシグナルを得ることはできなかった。これらの結果は、GRIN ファイバーを用いたイメージングよりも、ファイバーバンドルを用いたイメージング手法の方が優れている可能性を示唆している。

## ３．成果

本研究により、解離性麻酔薬であり、迅速な抗うつ作用を引き起こすことが知られているケタミンが、セロトニン神経活動を亢進させることが明らかになった。また、その際に、アセチルコリン神経核である脚橋被蓋核および背側縫線核内のニコチン性アセチルコリン受容体ならびに AMPA 型グルタミン酸受容体が重要な役割を果たしていることが明らかになった。本研究期間内には、ケタミンを投与した際の、生体内セロトニン神経活動の光計測を行うことはできなかったが、今後、ファイバーバンドルを用いたイメージング装置および逆行性色素と組み合わせることで、ケタミンによる回路選択的なセロトニン神経活動の同定を実施する予定である。

また、ファイバーバンドルを用いた計測系・GRIN ファイバーを用いた計測系の２種類の計測系を構築し、評価を行った結果、ファイバーバンドルを用いた計測系で、良好な結果を得た。一方で、用いたファイバーバンドルと蛍光タンパク質の組み合わせでは、生体内の神経活動の計測には感度が不十分である可能性も示唆され、より高感度の蛍光タンパク質や異なる素材のファイバーバンドルへの切り替えが必要となると考えられる。今後、石英を用いた光ファイバーへの切り替えをはかるとともに、蛍光タンパク質を変更したうえで検討を進めたいと考えている。

## ４．まとめ

解離性麻酔薬であり、迅速な抗うつ作用を引き起こすことが知られているケタミンが、セロトニン神経活動を亢進させることを見出した。ファイバーバンドルを用いた計測系・GRIN ファイバーを用いた計測系の２種類の計測系を構築･評価し、ファイバーバンドルを用いた計測系で、良好な結果を得た。今後、これらの成果に、回路選択的なラベリング法を組み合わせることで、セロトニン神経の回路別活動計測を実施していく予定である。

## 謝辞

本研究は、公益財団法人中谷医工計測技術振興財団の研究助成により行われたものであり、ここに深謝申し上げます。

## 発表論文

1. Ohashi K, Deyashiki A, Miyake T, Nagayasu K, Shibasaki K, Shirakawa H, Kaneko S. TRPV4 is functionally expressed in oligodendrocyte precursor cells and increases their proliferation. Pflugers Arch. in press

2. Miyanohara J, Kakae M, Nagayasu K, Nakagawa T, Mori Y, Arai K, Shirakawa H,

Kaneko S. TRPM2 Channel Aggravates CNS Inflammation and Cognitive Impairment via Activation of Microglia in Chronic Cerebral Hypoperfusion. J Neurosci. 2018 Apr 4;38(14):3520-3533.

3. Kinoshita H, Nishitani N, Nagai Y, Andoh C, Asaoka N, Kawai H, Shibui N, Nagayasu K, Shirakawa H, Nakagawa T, Kaneko S. Ketamine-Induced Prefrontal Serotonin Release Is Mediated by Cholinergic Neurons in the Pedunculopontine Tegmental Nucleus. Int J Neuropsychopharmacol. 2018 Mar 1;21(3):305-310.

4. Asaoka N, Nishitani N, Kinoshita H, Kawai H, Shibui N, Nagayasu K, Shirakawa H, Nakagawa T, Kaneko S. Chronic antidepressant potentiates spontaneous activity of dorsal raphe serotonergic neurons by decreasing GABAB receptor-mediated inhibition of L-type calcium channels. Sci Rep. 2017 Oct 19;7(1):13609.

5. Seiriki K, Kasai A, Hashimoto T, Schulze W, Niu M, Yamaguchi S, Nakazawa T, Inoue KI, Uezono S, Takada M, Naka Y, Igarashi H, Tanuma M, Waschek JA, Ago Y, Tanaka KF, Hayata-Takano A, Nagayasu K, Shintani N, Hashimoto R, Kunii Y, Hino M, Matsumoto J, Yabe H, Nagai T, Fujita K, Matsuda T, Takuma K, Baba A, Hashimoto H. High-Speed and Scalable Whole-Brain Imaging in Rodents and Primates. Neuron. 2017 Jun 21;94(6):1085-1100.e6.

# 超並列単一細胞プリンタの開発—ハイスループット細胞機能計測に向けて

研究責任者　豊橋技術科学大学　大学院工学研究科
機械工学系
講　師　　永井　萌土

## 1. はじめに

細胞機能の理解は医学・薬学分野を発展させる。細胞の機能は、周囲細胞との相互作用で変化する。そのため、複数種の細胞が一定のパターンで集合した 3 次元構造を持つ組織・器官を生体外で再現することが、機能解明に必要である。特にハイスループット細胞機能計測に向けては、単一細胞を 3 次元で緻密かつ超並列的に組み上げる技術とシステムが求められる。本研究では、3 次元の生体組織を再構築するため、流体力・圧力・光を駆使した超並列単一細胞プリンタを創製することを目的とした。

ここでは多点光照射による細胞アセンブリ技術の構築として、Digital Micromirror Device (DMD) を基軸に利用して、任意の形状にパターニングする光学系を構築した。ここでは DMD を用い、レーザー光を多点照射できる光学系を構築し、照射パターンの入出力の関係を調査した。またマルチ照明と多点光硬化により細胞をゲル内に封入し、細胞の生存率調査を行った。

## 2. 光造形 3D シングルセルプリンタの動作原理

超並列単一細胞プリンタにおける主要な機能の概念図を Fig. 1 に示す。まず、細胞へのモノマ

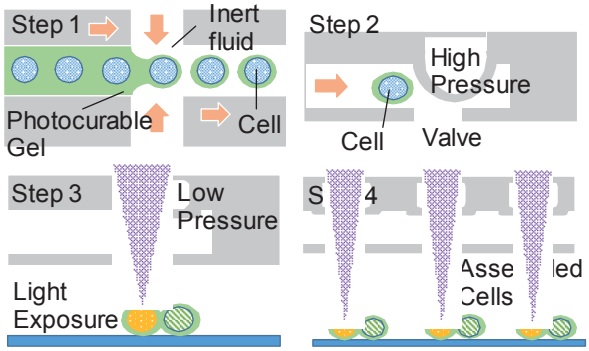



**Fig. 1 Schematic of 3D tissue assembly using a single cell printer.**

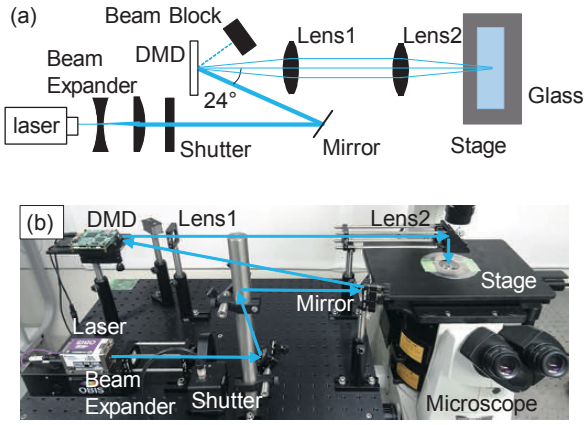



**Fig. 2 Multi-light spots exposure system based on a DMD. (a) Schematic of the optical system. (b) Photo of a built light exposure system.**

一被覆を確実に行うため、単一細胞をゲルで被覆する。このとき生分解性かつ光硬化性ゲルで液滴

を形成する。被覆された細胞は、バルブによって制御する可変開口に流体力で捕獲する。バルブは、複数の開口で一様に動作させるために空圧により作動させる。バルブの開口量を増やし、流路外へ細胞を吐出する。

特に今回報告する部分は、吐出されたモノマー被覆細胞へ選択的に光を照射し、硬化させて細胞を固定する技術である。本技術を利用し、複数の開口で同時に、開口に合わせた多点光照射を行うことで並列に細胞配置を行う。この細胞配置を繰り返し行い、細胞を 3 次元的に構築し、生体外での生体組織の再構築を達成する。

## ３．DMD を用いた多点光照射システムの構築

Fig. 2(a)に光学システムの概要図を示す。多数のマイクロミラーの反射制御により、空間光変調を行う DMD を使い、ピクセル毎の光照射を行った。DLP LightCrafter (Texas Instruments)のミラー部分のみを用いて、光源には 405 nm (青)の OBIS レーザー(COHERENT)を使用した。照射と観察の光学系を分離し、倒立顕微鏡のステージに上から照射を行う光学系を構築した。

Fig. 2(b)に示す光学系を組み立てて使用した。DMD で反射したパターンは、無限遠補正光学系とするため、$f$=100mm の凸レンズを DMD から 100mm の位置に設置することにより平行光にした。パターンはステージから 100mm の位置に設置した $f$=100mm の凸レンズによりステージ上に結像させる。その後パターンはミラーによりステージ上のスライドガラスへ照射した。

## ４．DMD を用いた多点光照射システムの入出力特性

### 4.1　実験方法

構築した光学系を用いて、入力パターンとステージ上に照射された出力パターンの比較を行った。入力パターンは 8 本の直線が並んでいてそれぞれ 1px～8px まで 1px ずつ太さが変わっている。各直線間は 15px で統一した。入力されたパターンは 1px あたり 5.4μm の大きさで DMD 上に出力される。照射パターンは倒立顕微鏡(Nikon ECLIPSE Ti-U)で観察した。明るく白色に照らされているのが照射範囲である。顕微鏡へ照射したパターンを撮影し、ImageJ にて取得した輝度プロファイルから、ナイフエッジ幅にて太さを算出した。

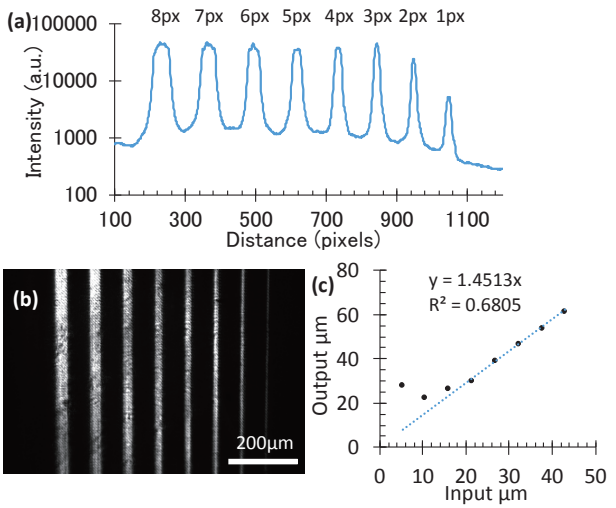



**Fig. 3 Comparison of input and output. (a) Microscope image of irradiated light pattern. (b) Intensity Profile. (c) Relationship between input and output width of light.**

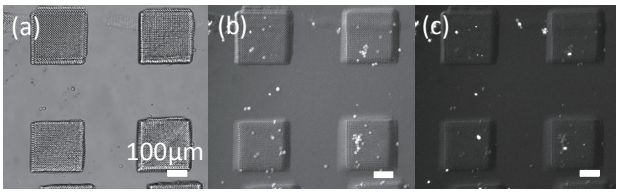



**Fig. 4 Microscope image of encapsulated cells in 2×2 exposed squares. (a)Bright field. Fluorescent images of (b) live and (c) dead cells.**

### 4.2　実験結果

取得した輝度プロファイルを Fig. 3 (a)に、照射されたラインパターンを Fig. 3 (b)に、入力と出力の関係を Fig. 3(c)に示す。入力が 1px のラインは輝度が顕著に低く、硬化に必要な光照射が十分に行えない可能性がある。また、ステージ上に照射されたパターンは DMD 上のパターンと比較して、1.45 倍に拡大されていた。

## ５．多点光照射での並列細胞ゲル内固定

細胞を懸濁した光硬化性モノマーに多点光硬化を行い、細胞を狙いのパターンに固定させた。さらに細胞の生存率を調査した。

光硬化性モノマーには poly(ethylene glycol)diacrylate (PEG-DA、Mn 700、Sigma-Aldrich) を PBS (Life Technologies) に 10w/v%で混合して使用した。重合開始剤には、可視光で反応し、生体適合性があり、水溶性である Lithium Phenyl(2、4、6-trimethylbenzoyl)phosphinate (LAP、東京化成) を使用した [1)]。LAP は、PEG-DA に対し 1.0w/v%の割合で混合した。使用した細胞は HeLa 細胞である。細胞濃度は $13.4\times10^5$ cells/mL であった。

モノマーはスライドガラス上に30μL滴下した。照射光は300μm四方の正方形が2×2で並んだパターンを使用した。光照射は 0.2s 行った。照射後、PEG-DA ゲルの周囲液体を CalceinAM(1mg/mL DMSO、同仁化学研究所)を 5μL と PI(1mg/mL、同仁化学研究所)を 5μL とを混合した PBS(2.5mL) に置換し、$CO_2$インキュベータ内で 15min インキュベートした。

その後、染色した細胞を倒立顕微鏡 Ti-U にて蛍光観察を行った。CalceinAM による蛍光が確認されたものを生細胞、PI による蛍光が確認されたものを死細胞、両方の蛍光が確認されたものは死細胞と判定した。

ゲル内に固定した細胞の様子を Fig. 4 に示す。蛍光像ではそれぞれの試薬による蛍光が観察でき、細胞を確認することできた(Fig. 4 (b)、(c))。これは、ゲル内部へ蛍光色素が浸透したためであり、細胞をゲル内へ封入しても栄養物質を伝達でき、培養を行うことが出来ることを示唆している。明視野像での観察では、硬化パターン内の細胞を確認することが出来なかった(Fig. 4 (a))。

硬化パターン内には 48 個の細胞が封入されていた。内訳は、生細胞が 41 個、死細胞が 7 個だった。よって生存率は 85.4%(41/48)と高い生存率を示した。これにより低侵襲な細胞配置への利用の可能性を示唆した。

## ６．まとめ

超並列単一細胞プリンタの開発において、並列細胞固定のために DMD を用いた多点光照射システムを構築した。また、多点光硬化による細胞固定を実証し、固定時の細胞の生存率を調査した。

今後は、生存率が高まる樹脂組成、光照射条件を明らかにする。さらに、光硬化モノマー液滴の硬化、固定を実証する。また、可変開口を利用した単一細胞の捕獲・脱離技術の確立を行う。また細胞整列用流路の設計、生分解性・光硬化性モノマーの被覆・硬化に関しても開発を進め、3 次元での細胞組織アセンブリを実証する。

## 謝辞

本研究は、公益財団法人中谷医工計測技術振興財団　平成 28 年度　奨励研究助成により支援を受けた。ご支援に深く感謝したい。

## 参考文献

1) Benjamin D. Fairbanks, et al., Biomaterials, Vol. 30, 6702-6707 (2009).

## 発表論文

1) M. Nagai, *et al.*, Micromachines, Vol.8(12), 350(2017).
2) Shota Hiratsuka, *et al.*, MNE 2017 (43rd Micro & Nano Engineering), OC023, INL, Braga, Portugal, 2017, September 18th-22th, Oral.
3) Gaurav PANDEY, *et al.*, 電気学会バイオマイクロシステム研究会, pp. 5-7, BMS-18-004, 東京大学生産技術研究所（東京都目黒区）, 2018 年 3 月 5 日.

# 平成 27 年度
# 調査研究助成　研究成果報告

冠動脈狭窄症の低侵襲診断法の開発と臨床応用に関する調査研究

（自治医科大学医学部　准教授　相澤　健一）

注１　顔写真は研究責任者です。

注２　所属等は助成研究実施時または執筆された当時のものです。

# 冠動脈狭窄症の低侵襲診断法の開発と臨床応用に関する調査研究

研究責任者　自治医科大学　医学部
薬理学講座臨床薬理学部門
准教授　　相澤　健一

## １．はじめに

虚血性心疾患の治療として年間20万件以上実施されている心臓カテーテル治療ではその後の約1割の症例において、施術後半年以内に再狭窄が生じることが、今なおその治療上の限界である。再狭窄を予知する方法がないため、治療半年後に再度心臓カテーテル検査を実施し再狭窄の有無を評価する必要があるが、安全性また医療費の面からも血液検査等の代替法の開発は急務であった。B型ナトリウム利尿ペプチド（BNP）は負荷のかかった心臓から分泌されるホルモンであり、心不全のバイオマーカーとして広く臨床で用いられている[1),2)]。しかし、虚血性心疾患における診断における有用性は未知数である[3),4)]。近年、末梢血中にはプロセシングを受けたBNPが存在することが報告されてきている（図１）[5)-7)]。最近、申請者らは質量分析技術を用いてBNPフラグメントを特異的に検出する方法を確立し、その比（BNP(5-32)/BNP(3-32)）は再狭窄の有無を診断する有用なバイオマーカーとなる可能性を明らかにした（図２）。

そこで我々はこのプロセシングを受けた BNP が心臓カテーテル治療後の再狭窄を診断するのに有用である仮説を立て、その検証を行った。

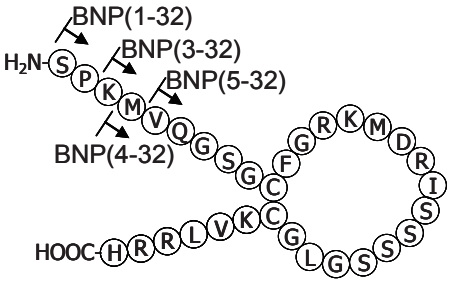



図1　BNP の分子構造と N 末端プロセシング

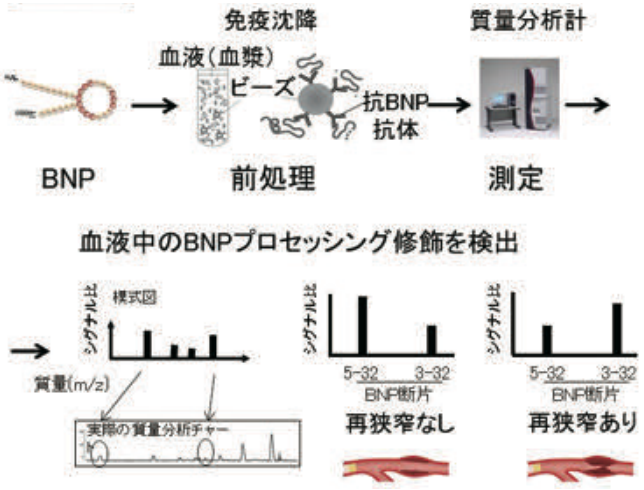



図2　開発した免疫沈降と質量分析を用いた測定原理（イムノマス法）

## ２．目的

本研究では我々が開発した質量分析技術を用いた開発中の次世代型新規心疾患バイオマーカーの開発を目的とし、その臨床的有用性を検討した。具体的には、血液中の血管特異的タンパク質 BNP ならびにそれの産物（複数のプロセシング産物が存在する）を特異抗体で選択的に濃縮し、質量分析計で特定のプロセシング産物を検出する方法（イムノマス法）を用いて、虚血性心疾患等の心血管疾患の早期診断のためのバイオツールの開発を目指す。診断バイオマーカーとしての有用性に関する予備検討は実施済みである。質量分析計を用いた血管特異的タンパク質のプロセシング産物を測定する系はすでに開発済みであり、特許も出願済である（PCT/JP2008/65444、血液試料を用いて心筋虚血を評価する方法）。具体的には、特異抗体を用いて血液中の血管特異的タンパク質 BNP ならびにそれのプロセシング産物を濃縮し、質量分析計で特定のプロセシング産物を検出する方法（イムノマス法）である（図３）。本方法により臨床検体（血液）を分析した結果、本来の分子形態である 32 アミノ酸からなる BNP 以外に、それとは異なる 3 種類の BNP（N 末端のアミノ酸が 2、3、4 個プロセスされた分子形態）を検出した。その異なった分子形態の BNP が冠動脈狭窄、特に心臓カテーテル治療後の再狭窄診断の新しいバイオマーカーとしての有用性を検討する。

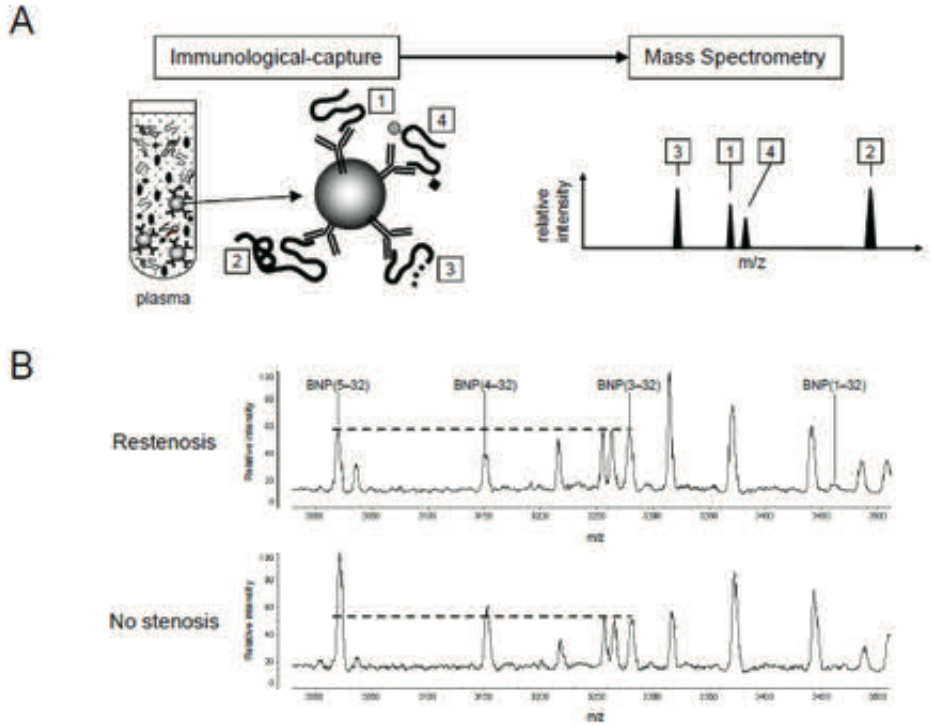



図３　開発した免疫沈降と質量分析を用いた測定原理（イムノマス法）
質量分析ベースのイムノアッセイ（MS-IA）。（A）MS-IA の原理。磁気ビーズに結合した BNP モノクローナル抗体は、血漿中の BNP（成熟形態[1]、早期形態[2]、プロセシング形態[3]、翻訳後修飾形態[4]）の分子異種性を捕捉する。質量分析は、捕捉した分子をその分子量（m / z）で区別する。（B）2 人の代表的な患者（上部スペクトル）およびなし（より低いスペクトル）の再狭窄によるマススペクトル。

表1　対象患者の背景比較

| Characteristics | Factors Associated with Restenosis (Cross-sectional Study) Total (n = 105) | No-stenosis (n = 83) | Restenosis (n = 22) | p Value* |
|---|---|---|---|---|
| Age, yrs | 70 (63–76) | 71 (63–77) | 69 (66–72) | 0.41 |
| Male gender | 66 (63) | 55 (66) | 11 (50) | 0.21 |
| Coexsisting conditions | | | | |
| Hypertension | 90 (86) | 73 (88) | 17 (77) | 0.30 |
| Diabetes mellitus | 65 (62) | 52 (63) | 13 (59) | 0.81 |
| Smoking | 71 (68) | 56 (67) | 15 (68) | 1.00 |
| Laboratory values | | | | |
| Total BNP, pg/mL | 51.9 (37.5–83.7) | 54.0 (37.5–90.8) | 48.1 (31.1–71.3) | 0.29 |
| Creatinine, mg/dL | 0.83 (0.70–0.94) | 0.84 (0.71–0.96) | 0.78 (0.65–0.89) | 0.15 |
| CRP, mg/L | 0.5 (0.3–1.2) | 0.5 (0.3–1.2) | 0.6 (0.3–1.2) | 0.50 |
| Ratio of total cholesterol to HDL cholesterol | 3.1 (2.6–3.9) | 3.1 (2.5–3.9) | 3.1 (2.8–3.8) | 0.34 |
| Total cholesterol, mg/dL | 170.5 (152.5–190.5) | 169.0 (153.9–189.3) | 176.0 (149.0–197.0) | 0.82 |
| HDL cholesterol, mg/dL | 53.2 (44.5–68.6) | 53.3 (44.5–68.9) | 50.5 (41.5–65.0) | 0.63 |
| Triglycerides, mg/dL | 134.0 (85.5–184.8) | 135.0 (89.0–189.0) | 117.0 (77.0–178.5) | 0.39 |
| LDL cholesterol, mg/dL | 88.5 (78.3–103.5) | 87.0 (76.0–102.0) | 96.0 (84.0–107.5) | 0.09 |
| Systolic blood pressure, mm Hg | 128.0 (115.0–140.0) | 128.0 (112.8–140.0) | 128.0 (116.0–142.0) | 0.90 |
| Diastolic blood pressure, mm Hg | 68.0 (60.0–78.5) | 68.0 (60.0–78.0) | 66.0 (58.0–80.0) | 0.58 |
| BNP(5–32)/BNP(3–32) | 1.35 (1.19–1.55) | 1.43 (1.22–1.61) | 1.19 (1.11–1.34) | <0.001 |
| %DS by QCA, % | 14.43 (10.26–25.54) | 12.68 (9.18–17.14) | 65.52 (59.22–70.54) | <0.001 |
| Lesion length, mm | 17.20 (12.58–22.45) | 17.47 (13.42–21.89) | 14.02 (11.12–24.83) | 0.28 |
| Lipid-lowering agents | 84 (77) | 65 (78) | 19 (86) | 0.55 |
| Anti-hypertensive treatment | 93 (90) | 72 (88) | 21 (100) | 0.21 |
| Drug-eluting stent | 79 (75) | 69 (83) | 10 (45) | <0.001 |

表2　再狭窄に関与する臨床的諸因子の検討

| Variables | Univariate analysis Odds Ratio (95%CI) | p Value | Multivariate analysis* Odds Ratio (95%CI) | p Value |
|---|---|---|---|---|
| Age, yrs | 0.99 (0.94–1.05) | 0.74 | | |
| Male gender | 0.51 (0.19–1.33) | 0.17 | | |
| Hypertension | 0.47 (0.14–1.65) | 0.22 | | |
| Diabetes mellitus | 0.86 (0.33–2.31) | 0.76 | | |
| Smoking | 1.03 (0.39–2.98) | 0.95 | | |
| BNP, pg/mL | 0.99 (0.98–1.00) | 0.23 | | |
| Creatinine, mg/dL | 0.09 (0.004–1.28) | 0.08 | | |
| CRP, mg/L | 0.99 (0.86–1.08) | 0.91 | | |
| Ratio of total cholesterol to HDL cholesterol | 1.17 (0.69–1.93) | 0.55 | | |
| Total cholesterol, mg/dL | 1.00 (0.98–1.01) | 0.53 | | |
| HDL cholesterol, mg/dL | 0.99 (0.96–1.02) | 0.70 | | |
| Triglycerides, mg/dL | 1.00 (0.99–1.00) | 0.26 | | |
| LDL cholesterol, mg/dL | 1.01 (0.99–1.03) | 0.44 | | |
| Systolic blood pressure, mm Hg | 1.00 (0.97–1.03) | 0.90 | | |
| Diastolic blood pressure, mm Hg | 0.99 (0.95–1.03) | 0.65 | | |
| BNP(5–32)/BNP(3–32), per 0.1 unit increase | 0.60 (0.43–0.78) | <0.001 | 0.63 (0.45–0.83) | <0.001 |
| Lesion length, mm | 0.97 (0.91–1.03) | 0.39 | | |
| Lipid-lowering agents | 1.75 (0.52–8.05) | 0.38 | | |
| Anti-hypertensive treatment | 3.21 (0.57–60.32) | 0.21 | | |
| Drug-eluting stent not used | 5.91 (2.16–16.80) | <0.001 | 4.20 (1.40–12.99) | 0.011 |

## ３．方法

心臓カテーテル検査を行う予定の患者全員に対し、医師が本研究について説明した。なお、このうち同意の得られた患者から心臓カテーテル検査時に、血液採取した。採血後の採血管はすみやかに氷上、もしくは4度にて保存した。採血後6時間以内に血漿分離を行い、分析を行うまでマイナス80度にて保存した。その血液（血漿）から磁気ビーズとBNP抗体によりBNPを分離濃縮し、溶出後、質量分析を行った。磁気ビーズから溶出した全量を質量分析用ターゲットプレートに滴下した。風乾後、すみやかにMALDI-TOF型質量分析計（AXIMA-Confidence, 島津製作所）を用いて分析を行った。また、全症例について患者情報のデータマイニングを行い、カテーテル検査による冠動脈狭窄および治療デバイスの使用状況、内服治療薬の処方状況プロファイルを得た。統計解析にはJMP ver.7.0.1 (SAS社)を用いた。

## ４．結果

冠動脈治療後の確認造影検査を受けた患者から、その検査時に血液を採取した。その血液から抗体により BNP を分離濃縮し、溶出後、質量分析を行った。対象とした患者について再狭窄群(Restenosis)と非狭窄群(No restenosis)の臨床背景比較を行った結果、両群において有意な差は認められなかった（表１）。本方法により分析した結果、通常の BNP 検査でほぼ同じ値になった検体であるにも係わらず（図４B)、その冠動脈治療後の再狭窄の有無に応じて、検出された BNP フラグメントのシグナル強度比が異なっていた（図４A)。再狭窄が生じていた患者 22 検体においては、その中央値が 1.19（四分位範囲、1.11-1.34）であり、一方、再狭窄を生じていなかった患者 83 検体では、その中央値が 1.43（同、1.22-1.61、p=0.001）であった（表１）。なお、 AUC=0.775、カットオフ値=1.41 において、感度=91%、特異度=54%、陽性尤度比=1.99、陰性尤度比=0.17 であった。多変量解析の結果、この比と薬剤溶出型ステントの不使用という因子の２つだけが診断にかかわる独立した因子であり、そのオッズ比は 0.63(95%CI, 0.45-0.83)であった（表 2)。

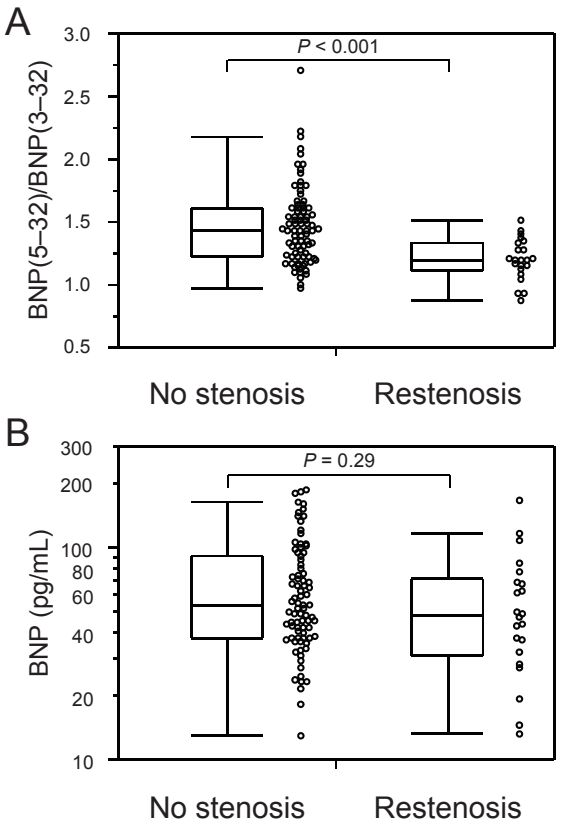



**図4　再狭窄との相関**

**再狭窄における BNP(5-32)/ BNP(3-32)比および BNP の全レベル。断面研究における代表的な再狭窄患者(B)における CAG および BNP (5-32)/ BNP(3-32)比(A)および BNP の全レベルによって診断された再狭窄との関連性。狭窄なし、n = 83; 再狭窄、n = 22。ボックスは四分位範囲を表し、各ボックスの水平線は中央値を表す。**

さらに、冠動脈治療後の確認造影検査を受けた連続 206 名の患者から、その検査時に血液を採取した。その血液から抗体により BNP を分離濃縮し、溶出後、質量分析を行った。薬物溶出性冠動脈ステントの薬物ごとに、BNP のプロセシング

（BNP5-32 断片比の増加）を評価したところ、ステントのみ（BMS）と比較し、エベロリムス溶出ステントでは BNP のプロセシングが抑制されており（図５A）、ステント開存率も高いことが明らかになった（図５B）。同様に他の薬物溶出ステント（シロシリムス、バイオリムス、パクリタキセル、ゾタロリムス）においても、BNP のプロセシングの抑制が高いステント開存率と相関することが明らかになった。

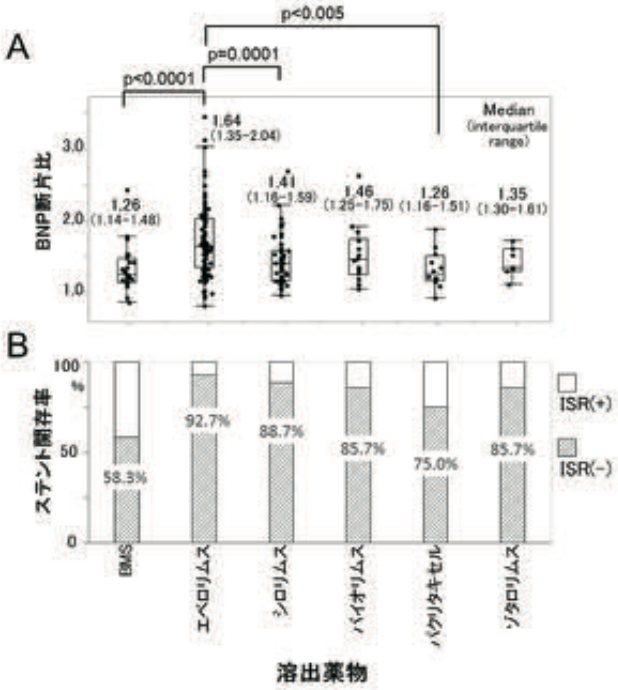



**図5　薬物溶出性冠動脈ステントと再狭窄との相関**

**(A)冠動脈ステント溶出薬物別の BNP のプロセシング（B）および冠動脈ステント溶出薬物別のステント開存率**

## ５．考察

本検査法は冠動脈疾患のバイオマーカー、とりわけ再狭窄の予測マーカーは、冠動脈インターベンション時に再狭窄を発症しそうないわゆるハイリスク症例の特定に役立つ。薬剤溶出ステント全盛期の現在でもまだ１割以上の症例でみられる再狭窄はインターベンション療法のリミテーションであり、診断ならびに予測支援に用いることが可能なバイオマーカーの開発は急務である。現在、酸化 LDL(マロンジアルデヒド修飾) [8]や Lp(a)が冠動脈疾患の予測バイオマーカーとして保険収載されているが、現在の診断性能では臨床の場ではまだ不十分である。本検査法はそれらと比べて最も診断確度が高く、画期的といえる。これまで、臨床で用いられている診断マーカーの測定法は、免疫学的手法であり、感度良く、また再現性良く測定可能である一方、その原理上、抗体を用いるため抗原認識部位が同じである複数の対象物を区別できていないという欠点がある。すなわち、血液中において、目的とする診断マーカーはその成熟体の他に、成熟体になる前の前駆体、また、成熟後にプロセッシングを受けたものや、いわゆる翻訳後修飾されたものが含まれており、これらは場合によって、同じ抗原認識部位を持つと考えられる。これらのさまざまな形状は身体の生理学的な状態、すなわち疾患を反映していると考えられるため、区別して分析できることが望ましいと考えられる。この区別は、質量そのものを分析することで可能になると考えられる。申請者らの検討においても、これらの区別が診断の向上につながるという知見を得ている。そのため、この区別、すなわち質的変化を測定しうる質量分析計を用いて、新規な測定法の開発が急務である。

一方、従来、質量分析計は主に基礎研究用として使用されてきた。測定対象物質の質量を直接計測するものであり、これまで測定が困難であった対象物質、特にタンパク質のプロセッシングや翻訳後修飾といった質的変化を測定することが可能となる装置である。この装置としての特徴を活かし、臨床現場において、従来その存在量を測定することが中心であった診断マーカーの質的変化を測定する計測法を開発する点が独創的と考える。

さらに、薬物溶出性冠動脈ステントの薬物ごとに、BNP のプロセシングを評価した結果、BNP

のプロセシングの抑制が高いステント開存率と相関していることが明らかになった。このことから、BNP のプロセシングを司るペプチダーゼを同定し、その反応を抑制することが可能であれば、冠動脈ステント治療後再狭窄を軽減することが可能になると考えられる。

また、BNP のプロセシングと急性心不全後のイベント予測の相関をみた研究では、BNP の分子形(特に BNP5-32)が予後予測に有用であることも明らかになった[9]。

今後、薬剤感受性の有無についてのメカニズムに迫り、他の病態への適応拡大に繋がる期待もあり、臨床への貢献はさらに大きくなるものと期待している。

## ６．まとめ

冠動脈狭窄症の治療として年間20万件以上実施されている心臓カテーテル治療ではその後の約1割の症例において、施術後の約6ヶ月後に再狭窄が生じることが、今なおその治療上の限界となっている。B型ナトリウム利尿ペプチド（BNP）は負荷のかかった心臓から分泌されるホルモンであり、心不全のバイオマーカーとして広く臨床で用いられている。しかし、虚血性心疾患の診断における有用性は未知数である。最近、末梢血中にはプロセシングを受けたBNPが存在することが報告されてきている。

本研究では、プロテオーム手法を用いて、基礎研究として心血管障害メカニズムの解明、ならびに臨床応用を視野に入れたトランスレーショナル研究を行うことを目的とした。具体的には、このプロセシングを受けたBNPが心臓カテーテル治療後の再狭窄を診断するのに有用か検討を行った。

今回の研究結果が示すように、BNPフラグメント比（BNP(5-32)/BNP(3-32)）は再狭窄の有無を診断する有用なバイオマーカーであるのみならず、溶出薬物の開発の指標となる可能性がある。溶出薬物の開発のためのコンパニオンバイオマーカーとしても期待される。

## 謝辞

本研究の一部は、公益財団法人中谷医工計測技術振興財団の平成 27 年度調査研究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。

## 参考文献および発表論文

1. Levin ER, Gardner DG, Samson WK. Natriuretic peptides. *N Engl J Med.* 1998;339(5):321-328.
2. Suzuki T, Yamazaki T, Yazaki Y. The role of the natriuretic peptides in the cardiovascular system. *Cardiovasc Res.* 2001;51(3):489-494.
3. Sabatine MS, Morrow DA, de Lemos JA, et al. Acute changes in circulating natriuretic peptide levels in relation to myocardial ischemia. *J Am Coll Cardiol.* 2004;44(10):1988-1995.
4. Morrow DA, de Lemos JA, Sabatine MS, et al. Evaluation of B-type natriuretic peptide for risk assessment in unstable angina/non-ST-elevation myocardial infarction: B-type natriuretic peptide and prognosis in TACTICS-TIMI 18. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41(8):1264-1272.
5. Semenov AG, Tamm NN, Seferian KR, et al. Processing of pro-B-type natriuretic peptide: furin and corin as candidate convertases. *Clin Chem.* 2010;56(7):1166-1176.
6. Niederkofler EE, Kiernan UA, O'Rear J, et al. Detection of endogenous B-type natriuretic peptide at very low concentrations in patients with heart failure. *Circ Heart Fail.*

2008;1(4):258-264.

7. Brandt I, Lambeir AM, Ketelslegers JM, Vanderheyden M, Scharpe S, De Meester I. Dipeptidyl-peptidase IV converts intact B-type natriuretic peptide into its des-SerPro form. *Clin Chem.* 2006;52(1):82-87.

8. Suzuki T, Kohno H, Hasegawa A, et al. Diagnostic implications of circulating oxidized low density lipoprotein levels as a biochemical risk marker of coronary artery disease. *Clin Biochem.* 2002;35(5):347-353.

9. Suzuki T, Israr MZ, Heaney LM, Takaoka M, Squire IB, Ng LL. Prognostic Role of Molecular Forms of B-Type Natriuretic Peptide in Acute Heart Failure. *Clin Chem.* 2017;63(4):880-886.

# 公益財団法人中谷医工計測技術振興財団のあらまし

設立の趣意
役員等及び事業の概要
表彰ならびに助成実績一覧

# 設 立 の 趣 意

**中谷太郎初代理事長**

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

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

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

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

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

財団法人 中谷電子計測技術振興財団

**設立年月日**　　昭和 59 年 4 月 24 日

## 役員

**理 事 長**
輕　部　征　夫　東京工科大学学長　東京大学名誉教授
**専務理事**
家　次　　恒　シスメックス株式会社　代表取締役会長兼社長
**理　　事**
浅　野　茂　隆　東京大学名誉教授　早稲田大学名誉教授/招聘研究教授
熊　谷　俊　一　社会医療法人神鋼記念会総合医学研究センター長　神戸大学名誉教授/客員教授
朝　長　万左男　日本赤十字社長崎原爆病院名誉院長　長崎大学名誉教授
西　川　伸　一　NPO 法人オール・アバウト・サイエンス・ジャパン代表理事　京都大学名誉教授
林　　正　好　シスメックス株式会社　特別顧問
**監　　事**
國　生　　肇　國生肇法律事務所（弁護士）
森　川　寛　行　森川寛行公認会計士・税理士事務所（公認会計士・税理士）

## 評議員

山　村　博　平　医療法人財団兵庫錦秀会西神看護専門学校校長　神戸大学名誉教授
戸　川　達　男　早稲田大学人間総合研究センター 招聘研究員
渡　邊　清　明　NPO 法人東京臨床検査医学センター理事長　慶應義塾大学名誉教授
佐　藤　俊　輔　大阪大学名誉教授
神　保　泰　彦　東京大学大学院工学系研究科教授
中　島　幸　男　シスメックス株式会社　取締役専務執行役員
立　花　健　治　シスメックス株式会社　取締役専務執行役員

## 事業の概要

本財団は、医工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し、また人材を育成することによって、医工計測技術の広汎な発展を推進し、我が国ならびに国際社会の発展及び生活の向上に寄与することを目的として、次の事業を行います。

■医工計測技術分野における技術開発に対する助成
　医工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。
■医工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
　医工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を表彰します。
■医工計測技術分野における技術交流に対する助成
　医工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助成します。
■医工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
　医工計測技術分野における技術の発展を推進するため、技術動向等に関する調査研究に対して助成します。
■医工計測技術分野の学生及び研究者に対する奨学金の給付
　医工計測技術分野における将来の研究者として活躍できる優秀な人材を育成することを目的として、医工計測技術分野の学生及び研究者に奨学金を給付します。
■医工計測技術に関する情報の収集及び提供
　医工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。
■科学教育振興に対する助成
　科学技術者の裾野拡大を目的として、中学・高校等における科学教育振興のために助成します。
　また、将来グローバルに活躍する研究者を育成するため、学生の国際交流プログラム助成を行います。
■その他この法人の目的を達成するために必要な事業

# 表彰ならびに助成実績一覧

中谷賞の表彰状況
技術開発に対する助成状況
技術交流に対する助成状況
調査研究に対する助成状況
科学教育振興に対する助成状況（小中高）

## 中谷賞の表彰状況（金額単位：万円）

### 第１回（平成２０年度）中谷賞表彰対象

| 氏　名 | 所 属 機 関・職名 | 受 賞 テ ー マ | 表彰金額 |
|---|---|---|---|
| 金井　　浩 | 東北大学大学院工学研究科<br>電子工学専攻<br>教授 | 超音波マイクロスコープの開発と生体組織性状診断への応用に関する研究 | ３００ |

### 第２回（平成２１年度）中谷賞表彰対象

| 氏　名 | 所 属 機 関・職名 | 受 賞 テ ー マ | 表彰金額 |
|---|---|---|---|
| 橋本　　守 | 大阪大学大学院基礎工学研究科<br>機能創成専攻生体工学領域<br>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３回（平成２２年度）中谷賞表彰対象

| 氏　名 | 所 属 機 関・職名 | 受 賞 テ ー マ | 表彰金額 |
|---|---|---|---|
| 足立　善昭 | 金沢工業大学<br>先端電子技術応用研究所<br>准教授 | 生体磁場計測と空間フィルタ法による非侵襲脊髄機能イメージングの開発 | ３００ |

### 第４回（平成２３年度）中谷賞表彰対象

| 氏　名 | 所 属 機 関・職名 | 受 賞 テ ー マ | 表彰金額 |
|---|---|---|---|
| 松元　　亮 | 東京医科歯科大学<br>生体材料工学研究所<br>システム部門制御分野<br>准教授 | トランジスタによる非破壊細胞診断法の開発と“デバイ長フリー”な信号変換機序の実証 | ３００ |

### 第５回（平成２４年度）中谷賞表彰対象

| 氏　名 | 所 属 機 関・職名 | 受 賞 テ ー マ | 表彰金額 |
|---|---|---|---|
| 百生　　敦 | 東北大学<br>多元物質科学研究所<br>教授 | 生体軟組織を可視化するX線位相イメージング技術の開発とその医用画像機器への応用展開 | ３００ |

## 第６回（平成２５年度）中谷賞表彰対象

**大賞**

| 氏　名 | 所 属 機 関・職名 | 受 賞 テ ー マ | 表彰金額 |
|---|---|---|---|
| 川田　善正 | 静岡大学電子工学研究所<br>生体計測研究部門<br>教授 | 電子線励起微小光源を用いた超解像光学顕微鏡の開発 | ５００ |

**奨励賞**

| 氏　名 | 所 属 機 関・職名 | 受 賞 テ ー マ | 表彰金額 |
|---|---|---|---|
| 藤田　克昌 | 大阪大学大学院工学研究科<br>精密科学・応用物理学専攻<br>准教授 | ラマン顕微鏡の開発：細胞内無染色分子イメージングの実現 | ２５０ |
| 花岡 健二郎 | 東京大学大学院薬学系研究科<br>薬品代謝化学教室<br>准教授 | 新たな赤色蛍光団の開発と蛍光プローブへの応用 | ２５０ |

## 第７回（平成２６年度）中谷賞表彰対象

**大賞**　　該当無し

**奨励賞**

| 氏　名 | 所 属 機 関・職名 | 受 賞 テ ー マ | 表彰金額 |
|---|---|---|---|
| 野地 博行 | 東京大学大学院工学系研究科<br>応用化学専攻<br>教授 | バイオ分子の１分子デジタル計数技術の創成とその応用 | ２５０ |
| 齊藤 博英 | 京都大学 iPS 細胞研究所<br>初期化機構研究部門<br>教授 | 人工 RNA スイッチによる標的細胞の精密な識別及び運命決定技術の開発 | ２５０ |
| 関谷　毅 | 大阪大学産業科学研究所<br>第１研究部門（情報・量子科学系）<br>教授 | 究極の柔らかさと薄さを持つ生体センサシートの開発と極低侵襲医療機器への応用 | ２５０ |

## 第８回（平成２７年度）中谷賞表彰対象

**大賞**

| 氏　名 | 所 属 機 関・職名 | 受 賞 テ ー マ | 表彰金額 |
|---|---|---|---|
| 民谷　栄一 | 大阪大学大学院工学研究科<br>教授 | ナノ・マイクロデバイスを用いたバイオセンサーの実用化に関する先導的研究 | ５００ |

**奨励賞**

| 氏　名 | 所 属 機 関・職名 | 受 賞 テ ー マ | 表彰金額 |
|---|---|---|---|
| 木内　泰 | 京都大学大学院医学研究科<br>准教授 | 標的に結合解離する蛍光プローブを用いた超解像蛍光顕微鏡法の開発 | ２５０ |
| 牛場　潤一 | 慶應義塾大学理工学部<br>准教授 | 脳運動機能の回復を支援する BMI の開発 | ２５０ |

## 第９回（平成２８年度）中谷賞表彰対象

**大賞**

| 氏　名 | 所 属 機 関・職名 | 受 賞 テ ー マ | 表彰金額 |
|---|---|---|---|
| 杉浦 清了 | 東京大学大学院<br>新領域創成科学研究科<br>特任教授 | 生体の多階層の計測データを統合し新たな情報を生み出す心臓シミュレータ”UT-Heart”の開発 | ５００ |

**奨励賞**

| 氏　名 | 所 属 機 関・職名 | 受 賞 テ ー マ | 表彰金額 |
|---|---|---|---|
| 竹内 昌治 | 東京大学生産技術研究所<br>教授 | マイクロ流体デバイス技術を利用した膜タンパク質センサの開発 | ２５０ |
| 柳澤 琢史 | 大阪大学国際医工情報センター<br>臨床神経医工学・寄附研究部門<br>講師 | ECoG/MEG-BMI 義手による重度麻痺患者の運動機能再建と幻肢痛治療への応用 | ２５０ |

## 第１０回（平成２９年度）中谷賞表彰対象

**大賞**

| 氏　名 | 所 属 機 関・職名 | 受賞テーマ | 表彰金額 |
|---|---|---|---|
| 椎名 毅 | 京都大学大学院医学研究科<br>人間健康科学系専攻<br>教授 | 組織性状・機能情報の新規イメージング技術の先駆的研究と超音波エラストグラフィの開発 | ５００ |
| 松田 道行 | 京都大学大学院<br>生命科学研究科<br>教授 | 細胞内情報伝達分子の活性を生きた動物で可視化する技術の開発 | ５００ |

## 技術開発に対する助成状況（金額単位：万円）

（敬称略・順不同）

### 第１回（昭和５９年度）技術開発助成対象

| 氏　名 | 所　属　機　関・職　名 | 研　　究　　題　　目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 中谷　　一 | 大阪厚生年金病院眼科部長<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>医用工学　教授 | Walsh変換による64チャンネル高周波超音波パルスドプラ血流速信号の実時間計測処理システムの開発とその応用 | ３００ |

### 第２回（昭和６０年度）技術開発助成対象

| 氏　名 | 所　属　機　関・職　名 | 研　　究　　題　　目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 七里　元亮 | 大阪大学医学部<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>難治疾患研究所　教授 | 内耳よりの音放射に関する基礎的研究と臨床検査法への応用 | ２２０ |

## 第３回（昭和６１年度）技術開発助成対象

| 氏　名 | 所　属　機　関・職　名 | 研　　究　　題　　目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 北畠　　顕 | 大阪大学医学部<br>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 |
| 戸川　達男 | 東京医科歯科大学<br>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<br>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<br>共同利用研究部分析機器室<br>助手 | レーザーラマン分光法に基づく白内障予知システムの基礎的研究 | １５０ |
| 武者　利光 | 東京工業大学<br>大学院総合理工学研究科<br>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<br>医用エンジニアリング研究室<br>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<br>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<br>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<br>難治疾患研究所<br>自律生理学部門　教授 | 超高感度カメラと画像処理技術を用いた細胞内カルシウムイオンの動態・解析システムの開発 | ２００ |

## 第４回（昭和６２年度）技術開発助成対象

| 氏　名 | 所　属　機　関・職　名 | 研　　究　　題　　目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 堀　　正二 | 大阪大学医学部<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>医用エンジニアリング研究室<br>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<br>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<br>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<br>計数工学科　教授 | 手の動作の計測・評価システムに関する研究―三次元空間での手の運動の最適制御問題への応用― | ３００ |
| 鳥脇　純一郎 | 名古屋大学工学部<br>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<br>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<br>教授 | 携帯用の人工心臓駆動装置のための血圧血流量間接計測技術の開発 | ２３０ |

### 第６回（平成元年度）技術開発助成対象

| 氏　名 | 所　属　機　関・職　名 | 研　　究　　題　　目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 富川　義朗 | 山形大学工学部<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>総合薬学科　教授 | レーザー光音響・蛍光法による多項目同時イムノアッセイシステムの開発 | ２００ |

## 第７回（平成２年度）技術開発助成対象

| 氏　名 | 所　属　機　関・職　名 | 研　　究　　題　　目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 今井　　洋 | 九州工業大学情報工学部<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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ヤンネル味センサ | １８０ |
| 今坂　藤太郎 | 九州大学工学部<br>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 | ２００ |
| 馬場　一憲 | 東京大学医学部<br>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<br>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<br>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<br>臨床検査医学講座　教授 | 電子スピン共鳴法による血管内皮細胞の膜流動性およびフリーラジカルの測定と病態における変動 | ２００ |

## 第８回（平成３年度）技術開発助成対象

| 氏　名 | 所　属　機　関・職　名 | 研　　究　　題　　目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 岡田　正彦 | 新潟大学医学部<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>機械工学科　助教授 | 時間分解顕微蛍光ファイバースコープの開発とヒト歯牙診断への応用 | １８０ |

| 氏　名 | 所　属　機　関・職　名 | 研　　究　　題　　目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 豊岡　　了 | 埼玉大学工学部<br>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<br>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<br>内科学　教授 | 赤血球異常症診断プロトコールの研究開発 | １８０ |

**第９回（平成４年度）技術開発助成対象**

| 氏　名 | 所　属　機　関・職　名 | 研　　究　　題　　目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 澤田　嗣郎 | 東京大学工学部<br>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<br>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<br>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<br>生物化学システム工学科<br>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<br>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<br>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<br>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<br>中央臨床検査部　講師 | 血栓形成における血管内皮細胞の制御機構の解明　―ずり応力負荷装置を用いた流体力学的アプローチ― | ２００ |
| 谷口　郁雄 | 東京医科歯科大学<br>難治疾患研究所<br>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<br>電子工学科　教授 | 生体のＸ線回折用高感度二次元イメージセンサシステムの開発 | １５０ |

**第１０回（平成５年度）技術開発助成対象**

| 氏　名 | 所　属　機　関・職　名 | 研　　究　　題　　目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 尾崎 由基男 | 山梨医科大学医学部<br>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<br>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<br>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<br>外科部長 | 超音波ＣＴの開発と医用画像三次元再構成による三次元計測 | ２００ |

| 氏　名 | 所　属　機　関・職　名 | 研　　究　　題　　目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 丸山　征郎 | 鹿児島大学医学部<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>医用器材研究所<br>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<br>応用物理学科　教授 | レーザー・トラッピングされたプローブを用いたニアフィールド光学顕微鏡による生体細胞内のナノメトリック観察に関する研究 | ２００ |
| 佐藤　正明 | 東北大学工学部<br>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<br>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<br>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<br>医用電子研究施設　教授 | 磁気刺激による生体機能測定に関する研究 | ２００ |

第１２回（平成７年度）技術開発助成対象

| 氏　名 | 所　属　機　関・職　名 | 研　　究　　題　　目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 辻　　隆之 | 国立循環器病センター研究所<br>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<br>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<br>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<br>物質・生命工学専攻　助教授 | 多光子過程による紫外高分解能走査型レーザー顕微鏡とその生物学への応用 | ２５０ |
| 松本　博志 | 東京大学大学院工学系研究科<br>精密機械工学専攻　教授 | 音響学的方法による冠動脈狭窄検出装置の開発に関する研究 | １８０ |
| 岡田　徳次 | 新潟大学工学部<br>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<br>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<br>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<br>分子素材工学科　助手 | 水晶振動子の電極表面に直接結合する遺伝子組替え抗体の作製と免疫センサーへの応用 | １８０ |

第１３回（平成８年度）技術開発助成対象

| 氏　名 | 所　属　機　関・職　名 | 研　　究　　題　　目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 春名　正光 | 大阪大学医学部<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>情報機械システム工学科<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>医療情報部　助教授 | Ｂurst パルスを用いた超高速MRＩ法の実用化 | １００ |
| 松原　広己 | 岡山大学医学部<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>臨床検査医学講座　講師 | ラット用運動負荷時エネルギー代謝測定装置の開発およびその適用―糖尿病性腎症に対する運動処方に関する研究― | １７０ |

| 氏　名 | 所　属　機　関・職　名 | 研　　究　　題　　目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 長倉　俊明 | 鈴鹿医療科学技術大学<br>医用工学部医用電子工学科<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>先端科学技術研究調査センター　助教授 | 超高速超音波立体イメージングに関する研究 | １６０ |
| 萩原　正敏 | 東京医科歯科大学<br>難治疾患研究所　教授 | 細胞内におけるリン酸化依存的蛋白質間相互作用のイメージング | １５０ |
| 橋本　　守 | 大阪大学大学院基礎工学研究科<br>システム人間系専攻<br>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<br>機械工学科　助教授 | ワンチップ時間分解分光分析システムの開発と生体計測への応用 | １５０ |

第１７回（平成１２年度）技術開発助成対象

| 氏　名 | 所　属　機　関・職　名 | 研　　究　　題　　目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 石田　昭人 | 大阪大学産業科学研究所<br>機能分子科学研究部門<br>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<br>人間情報システム研究所<br>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<br>機械電子工学専攻　講師 | マイクロマシン技術を応用した術中使用可能な耳小骨可動性測定装置の開発 | ２００ |

| 氏　名 | 所　属　機　関・職　名 | 研　　究　　題　　目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 末廣　純也 | 九州大学大学院システム情報科学研究院　電気電子システム工学専攻　助教授 | 誘電泳動インピーダンス計測による細菌活性のリアルタイムモニタリング法の開発 | ２００ |
| 庭野　道夫 | 東北大学電気通信研究所　物性機能デバイス研究部門　教授 | 多重内部反射赤外分光による生体分子計測システムの構築 | ２００ |
| 日野田 裕治 | 山口大学医学部　臨床検査医学講座　教授 | 癌の臨床検査を目指した質量分析機による遺伝子多型解析法の開発 | ２００ |
| 山越　憲一 | 金沢大学工学部　人間・機械工学科　教授 | 携帯型循環動態連続計測システムの開発研究 | ２００ |
| 山名　一成 | 姫路工業大学工学部　応用化学科　助教授 | アントラキノン－ＤＮＡ修飾電極によるＤＮＡセンシング | ２００ |

**第１８回（平成１３年度）技術開発助成対象**

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

**第１９回（平成１４年度）技術開発助成対象**

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

| 氏　名 | 所　属　機　関・職　名 | 研　　究　　題　　目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 山田　憲嗣 | 広島市立大学情報科学部<br>情報機械システム工学科<br>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<br>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<br>循環動態機能部<br>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<br>画像電子システム部門<br>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<br>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<br>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<br>生体構造機能系生理科学<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>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<br>情報科学科　教授 | 高速超音波３次元動態計測用演算システム | ２００ |

| 氏　名 | 所　属　機　関・職　名 | 研　　究　　題　　目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 望月　修一 | 東京大学大学院医学系研究科<br>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<br>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<br>機械工学科　助教授 | ＭＥＭＳ技術を用いた低侵襲組織診断のためのＭＲＳ用マイクロプローブの開発 | １７０ |

## 第２１回（平成１６年度）技術開発助成対象

開発研究

| 氏　名 | 所　属　機　関・職　名 | 研　　究　　題　　目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 小畠　英理 | 東京工業大学大学院生命理工学研究科<br>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<br>システムデザイン工学科<br>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<br>臨床検査医学　助教授 | 糖鎖結合を利用したリガンドのラベルと非放射性受容体定量法の確立 | ２００ |
| 和田　佳郎 | 奈良県立医科大学<br>生理学第一講座　講師 | 動体視力トレーニング法の確立を目指した頭部ー眼球運動計測システムの開発 | ２００ |
| 杉浦　清了 | 東京大学大学院新領域創成科学研究科　環境学専攻　教授 | 心筋細胞内の細胞骨格の力学特性の評価法の開発 | ２００ |
| 戸津 健太郎 | 東北大学大学院工学研究科<br>ナノメカニクス専攻　助手 | 集積化３軸ＭＩセンサを用いた低侵襲検査治療ツール用３次元ナビゲーションシステムの開発 | ２００ |
| 久冨　信之 | 国立循環器病センター研究所<br>放射線医学部医薬品機構<br>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<br>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<br>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<br>知能デバイス材料学専攻<br>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<br>基礎工学研究科<br>機能創成専攻生体工学領域<br>助手 | 時間分解蛍光測定用カプセル化センサーチップの開発 | １００ |

## 第２２回（平成１７年度）技術開発助成対象

開発研究

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

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

奨励研究

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

## 第２４回（平成１９年度）技術開発助成対象

開発研究

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

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

奨励研究

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

## 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 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 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 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 伊野　浩介 | 東北大学大学院環境科学研究科<br>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<br>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<br>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<br>電気情報工学科　助教 | 加速度センサを用いた騒音に頑健な骨伝導ー音声マイクロフォンの開発 | １００ |
| 富丸　慶人 | 大阪大学大学院医学系研究科<br>外科学講座消化器外科学<br>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 |

## 第２６回（平成２１年度）技術開発研究助成対象

開発研究

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 上原　宏樹 | 群馬大学大学院工学研究科<br>応用化学・生物化学専攻<br>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<br>精密科学・応用物理学専攻<br>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<br>人癌病因遺伝子分野　大学院生 | 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<br>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<br>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 寛雄 | 長崎大学大学院医歯薬総合研究科<br>病態解析・診断部門<br>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<br>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

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 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<br>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<br>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<br>高分子化学専攻　助教 | ＭＲＩによる定量性を持った機能イメージング剤の開発 | １００ |

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 西村　　智 | 東京大学大学院医学系研究科<br>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 |

## 第２７回（平成２２年度）技術開発研究助成対象

開発研究

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 吉田　祥子 | 豊橋技術科学大学大学院工学研究科<br>環境・生命工学系　講師 | 神経組織からの情報伝達分子の放出分布を観測する近接光励起デバイスの開発 | ２００ |
| 香川 景一郎 | 大阪大学大学院情報科学研究科<br>情報数理学専攻　特任准教授 | 極めて深い被写界深度を有する高機能照明内臓型３次元マルチスペクトル内視鏡の開発 | ２００ |
| 斎木　敏治 | 慶應義塾大学理工学部<br>電子工学科　教授 | 金ナノロッドの回転運動観察を利用した高速・高感度ホモジニアスアッセイ法の開発 | ２００ |
| 高橋　宏知 | 東京大学先端科学技術研究センター<br>生命・知能システム分野<br>講師 | 培養神経回路に嗅覚受容体たんぱく質を遺伝子発現させた匂いセンサー | ２００ |
| 安川　智之 | 兵庫県立大学大学院物質理学研究科<br>化学分析学分野　准教授 | 変換濃縮ストリッピング法を利用した単一細胞の活性評価システムの構築 | ２００ |
| 内山　　剛 | 名古屋大学大学院工学研究科<br>電子情報システム専攻<br>准教授 | 超高感度マイクロ磁気センサによる細胞活動電流シグナルのリアルタイムマッピング | ２００ |
| 阿部　宏之 | 山形大学大学院理工学研究科<br>バイオ化学工学専攻　教授 | 電気化学イメージング技術を応用した超高感度細胞呼吸機能診断装置の開発 | ２００ |

奨励研究

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 吉川　元起 | 独立行政法人物質・材料研究機構<br>国際ナノアーキテクトニクス研究拠点　ICYS-MANA 研究員 | 超高感度自己検知膜型表面応力センサーによる広帯域細胞ナノ振動解析手法の開発 | １００ |
| 小山　大介 | 東京工業大学 精密工学研究所<br>極微デバイス部門　助教 | 超音波 DDS 用センサ型マイクロカプセルの開発とその血管内トレーサビリティ | １００ |
| 曽和　義幸 | 法政大学生命科学部<br>生命機能学科　専任講師 | 細胞内高速三次元分子追跡顕微鏡の構築 | １００ |
| 石井　克典 | 大阪大学大学院工学研究科<br>環境・エネルギー工学専攻<br>助教 | 近赤外分光イメージングによる動脈硬化プラークの血管内透視診断技術の開発 | １００ |

## 第２８回（平成２３年度）技術開発研究助成対象

開発研究

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 小池　卓二 | 電気通信大学大学院情報理工学研究科<br>知能機械工学専攻　教授 | 非接触型中耳可動性測定装置の開発と実用化 | ２００ |
| 薮上　　信 | 東北学院大学工学部<br>電気情報工学科　教授 | 室温で動作する生体磁気計測用集積化薄膜磁界センサの開発 | ２００ |
| 本多　裕之 | 名古屋大学大学院工学研究科<br>化学・生物工学専攻　教授 | 磁気細胞パターニングによる１細胞機能画像解析システムの開発 | １９８ |
| 長谷川英之 | 東北大学大学院医工学研究科<br>計測・診断医工学講座　准教授 | 心臓の高速超音波イメージング法の開発 | ２００ |
| 田中　栄一 | 北海道大学病院<br>消化器外科　助教 | 近赤外線イメージングを用いた切除後残肝機能診断システムの開発 | ２００ |
| 渡辺　哲陽 | 金沢大学理工研究域<br>機械工学系　准教授 | 把持力可視化による力覚提示可能な脳外科手術用マニピュレータの開発 | ２００ |
| 加藤　　大 | 独立行政法人産業技術総合研究所<br>バイオメディカル研究部門<br>ナノバイオデバイス研究グループ<br>研究員 | ナノカーボン電極を用いた高感度LPS検出法の開発 | ２００ |

奨励研究

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 西野　智昭 | 大阪府立大学 21 世紀科学研究機構　ナノ科学・材料研究センター<br>特別講師 | 分子探針による DNA 単分子検出技術の開発 | １００ |
| 新岡　宏彦 | 大阪大学ナノサイエンスデザイン教育研究センター<br>特任助教 | カソードルミネッセンス顕微鏡による細胞内蛋白質のマルチカラーナノイメージング | １００ |
| 須藤　　亮 | 慶應義塾大学理工学部<br>システムデザイン工学科<br>専任講師 | 微小培養環境の制御による毛細血管の再生と血管透過性による機能評価 | １００ |
| 藤田　敏次 | 大阪大学微生物病研究所<br>感染症学免疫学融合プログラム推進室　助教 | ゲノム結合分子の網羅的同定方法の開発 | １００ |

## 第２９回（平成２４年度）技術開発研究助成対象

開発研究

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 藤田　秋一 | 鹿児島大学共同獣医学部<br>教授 | 膜脂質の微細分布を解析するための基盤技術の開発 | ２００ |
| 守本　祐司 | 防衛医科大学校<br>准教授 | スペクトルアンミキシング機構を搭載した高感度リアルタイム蛍光内視鏡システム | ２００ |
| 志村　清仁 | 福島県立医科大学医学部<br>教授 | タンパク質医薬投与患者の投与後アイソフォーム解析を可能にするAPCE法の開発 | ２００ |

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 山本　正道 | 群馬大学先端科学研究指導者育成ユニット　助教 | 生体内での細胞外ATP検出システム構築 | ２００ |
| 田中　俊行 | 信州大学医学部<br>産学連携特任研究員 | 多色化蛍光磁性ビーズを利用した多項目疾患マーカーの同時免疫測定法の研究開発 | ２００ |
| 鬼村謙二郎 | 山口大学大学院理工学研究科<br>准教授 | 共役高分子蛍光プローブによる細胞イメージング法の開発 | １００ |

奨励研究

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 横川　隆司 | 京都大学大学院工学研究科<br>准教授 | モータタンパク質運動を利用した疾患センサの製作 | １００ |
| 柳谷　隆彦 | 名古屋工業大学大学院工学研究科<br>助教 | 在宅予防を目的とした非侵襲小型質量センサによる抗原抗体反応マーカ検査システム | １００ |
| 田中　利恵 | 金沢大学医薬保健研究域<br>助教 | 動く軟組織Ｘ線動画像を対象とした肺換気・血流・コンプライアンス計測の試み | １００ |
| 有戸　光美 | 聖マリアンナ医科大学<br>助教 | 末梢リンパ球の表面タンパク質の網羅的かつ定量的な測定系の確立 | １００ |
| 福原　　学 | 大阪大学大学院工学研究科<br>助教 | 水溶液中における超分子糖センシング：２型糖尿病治療薬の精密センサー開発 | １００ |

## 第３０回（平成２５年度）技術開発研究助成金贈呈者

開発研究

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 任　　書晃 | 新潟大学大学院医歯学総合研究科<br>分子生理学分野　助教 | 内耳の微小振動現象の計測を指向した三次元断層撮影装置の開発と最適化 | ３００ |
| 平野　愛弓 | 東北大学大学院医工学研究科<br>医工学専攻計測・診断医工学講座　准教授 | hERGチャネル組込シリコンチップに基づく薬物副作用評価に関する研究 | ２９１ |
| 黒尾　　誠 | 自治医科大学分子病態治療研究センター　ゲノム機能研究部　教授 | 血中ＣＰＰ高感度測定系の開発と慢性腎臓病の臨床検査への実用化 | ３００ |
| 佐々木 裕次 | 東京大学大学院新領域創成科学研究科　基盤科学研究系物質系専攻<br>教授 | Ｘ線による細胞内でのタンパク質１分子内部高精度高速動態計測の実現 | ３００ |
| 高橋　忠伸 | 静岡県立大学大学院薬学研究院<br>生化学分野　講師 | ウイルス酵素に対する新規高感度蛍光プローブによる感染情報の画期的検出技術 | ２００ |
| 西村　　智 | 自治医科大学分子病態治療研究センター　分子病態研究部　教授 | 生活習慣病リスクを予測する生体光イメージングシステムの開発 | ３００ |
| 河合　秀幸 | 千葉大学大学院理学研究科<br>基盤理学専攻物理学コース<br>准教授 | 高性能低価格なＰＥＴ用γ線検出器の開発 | ２９９ |
| 董　　金華 | 東京工業大学資源化学研究所<br>プロセスシステム工学部門<br>助教 | アルツハイマー病早期診断のためのQuenchbodyの開発 | ２８６ |
| 仁木　清美 | 東京都市大学工学部<br>医用工学科　教授 | 画像処理とスペックルトラッキング法を用いた頸動脈微量血管径変化の計測 | ２４９ |

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 鈴木　宏明 | 中央大学理工学部<br>精密機械工学科　准教授 | 臨床応用に向けたがん細胞薬剤排出スクリーニングチップの開発 | ３００ |
| 山澤德志子 | 東京慈恵会医科大学<br>分子生理学講座　助教 | カルシウムイメージングを用いた悪性高熱症の病態解析 | ３００ |
| 松井　康素 | 独立行政法人国立長寿医療研究センター<br>先端診療部　関節科　医長 | 筋電図と加速度センサーを兼ね備えた運動時筋肉活動量の経時的測定記録装置の開発 | ２００ |

奨励研究

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 坂口　怜子 | 京都大学 物質－細胞統合システム拠点　特定拠点助教 | 単一細胞内情報伝達物質の濃度変化を計測する細胞内蛍光センサーの開発 | １５０ |
| 関　　倫久 | 慶應義塾大学医学部<br>循環器内科学教室　助教 | T 細胞受容体遺伝子領域を用いた iPS 細胞由来移植細胞の識別技術の開発 | １５０ |
| 田畑　美幸 | 東京医科歯科大学生体材料工学研究所　バイオエレクトロニクス分野　特任助教 | エクソソームセンシングによる低侵襲・簡易がん検査デバイスの創製 | １５０ |
| 柴田　　綾 | 岐阜大学工学部<br>化学・生命工学科　テニュア・トラック　助教 | 生細胞内遺伝子検出を目的とした自己切断型検出プローブの開発 | １５０ |
| 臼井　健二 | 甲南大学フロンティアサイエンス学部　生命化学科　講師 | アミロイドペプチドの線維化を規格化し細胞毒性測定が可能な光リンカー細胞アレイ | １５０ |
| 飯田　琢也 | 大阪府立大学 21 世紀科学研究機構　ナノ科学・材料研究センター物理系専攻　テニュア・トラック講師 | 光による分子認識制御と高感度バイオセンサ応用 | １５０ |
| 寺本　高啓 | 立命館大学理工学部<br>電気電子工学科　助教 | 超短パルスレーザーによるインパルシブラマン散乱顕微鏡の開発 | １５０ |
| 遠藤　　求 | 京都大学大学院生命科学研究科<br>統合生命科学専攻　助教 | 特定組織での遺伝子発現を非侵襲的かつリアルタイムで測定する方法の開発 | １５０ |

## 第３１回（平成２６年度）技術開発研究助成金贈呈者

開発研究

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 小野　正博 | 京都大学大学院薬学研究科<br>病態機能分析学　准教授 | アルツハイマー病の診断・治療に資するアミロイド SPECT イメージング法の開発 | ３００ |
| 合田　達郎 | 東京医科歯科大学生体材料工学研究所バイオエレクトロニクス分野<br>助教 | 細胞トランジスタを用いた細胞膜ナノ空孔形成の計測 | ３００ |
| 西山　雅祥 | 京都大学白眉センター<br>生物物理　特定准教授 | 生きた細胞内で働くタンパク質超分子機械の力学変調イメージング | ３００ |
| 鈴木　郁郎 | 東北工業大学大学院工学研究科<br>電子工学専攻　講師 | ヒト由来神経細胞の新規薬効評価系を目指したオンチップニューロシナプス機能計測技術の開発 | ３００ |

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 保川　　清 | 京都大学大学院農学研究科<br>食品生物科学専攻　教授 | 新規cDNA合成技術の開発とマイクロアレイへの応用 | ３００ |
| パヴィヨン ニコラ<br>PAVILLON<br>Nicolas | 大阪大学免疫学フロンティア研究センター<br>物理学　特任研究員 | 非標識マルチモーダル顕微鏡法を用いた細胞状態計測法の開発 | ２９２ |
| 吉川　裕之 | 大阪大学大学院工学研究科<br>精密科学・応用物理学専攻　助教 | 集光レーザーで反応を捉える高感度マイクロ ELISA チップの開発 | ２６２ |
| 関谷　　敬 | 東京大学大学院医学系研究科<br>細胞分子薬理学教室　助教 | 細胞外 ATP の蛍光計測による脳梗塞の梗塞巣拡大メカニズムの解明 | ３００ |
| 東　　隆 | 東京大学大学院工学系研究科<br>バイオエンジニアリング専攻<br>特任准教授 | 超音波ＣＴ(Computed Tomography) を用いた血流計測技術の開発 | ３００ |
| 鳥光　慶一 | 東北大学大学院工学研究科<br>バイオロボティクス専攻　教授 | フレキシブルシルク電極を用いた chip on clothes 生体活動モニタリング | ３００ |
| 藤原　俊朗 | 岩手医科大学<br>脳神経外科学講座　助教 | 拡散強調 MRI に基づく完全無侵襲脳循環代謝測定法の開発 | ３００ |
| 塚田　孝祐 | 慶應義塾大学理工学部<br>物理情報工学科　准教授 | 組織低酸素イメージングセンサの開発と造影剤投与不要な初期がん検出への実用 | ２４０ |
| 芳賀　洋一 | 東北大学大学院医工学研究科<br>生体機械システム医工学専攻<br>教授 | 隠れ糖尿病診断のための皮下微小還流を用いた局所糖負荷試験装置の開発 | ３００ |
| 明石　　真 | 山口大学時間学研究所<br>時間生物学　教授 | 自由行動下における遺伝子発現の長期リアルタイムモニタリング法の開発 | ３００ |
| 久原　　篤 | 甲南大学理工学部<br>生物学科/統合ニューロバイオロジー研究所　神経科学　准教授 | 細胞集団の超速自動追尾とアクティビティ可視化による定量化 | ３００ |
| 南　　和幸 | 山口大学大学院理工学研究科<br>システム設計工学系専攻　教授 | 多数の単一細胞の力学刺激応答の計測・観察に使用可能な分散型細胞刺激マトリックスデバイスの開発 | ２９３ |
| 舘野　　高 | 北海道大学大学院情報科学研究科<br>生命人間情報科学専攻　教授 | 耳鳴りを抑制制御する閉ループ型の神経系刺激および活動記録装置の開発とその評価 | ３００ |

奨励研究

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 異島　　優 | 熊本大学薬学部<br>薬剤学分野　助教 | 高分子抗癌剤の腫瘍移行性増大を意図した腫瘍内環境制御ナノ粒子の開発 | １５０ |
| 吉田　　亘 | 東京工科大学応用生物学部<br>バイオテクノロジーコース　助教 | MBD-ルシフェラーゼ融合蛋白質を用いたグローバル DNA メチル化レベル測定法の開発 | １５０ |
| 大谷健太郎 | 国立循環器病研究センター研究所<br>再生医療部 超音波医科学<br>研究員 | 血管内分子を標的とした造影超音波法による非侵襲的分子イメージングの開発 | １５０ |
| 髙田　英昭 | 大阪大学大学院工学研究科<br>生命先端工学専攻　助教 | 生細胞でのゲノム DNA の可視化による染色体異常検出システムの開発 | １４０ |

特別研究：複数年（2年）

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 日比野　浩 | 新潟大学大学院医歯学総合研究科 分子生理学分野 聴覚生理学・薬理学　教授 | ダイヤモンド微小電極を駆使した内耳薬物動態の計測基盤の開発 | １，４８６ |
| 田中　　求 | 京都大学 物質･細胞統合システム拠点　生命物理学　特定拠点教授 | ヒト角膜内皮細胞注入治療のためのマルチスケール細胞標準化技術の確立 | １，５００ |
| 山名　一成 | 兵庫県立大学大学院工学研究科 物質系工学専攻 生体機能関連化学　教授 | マイクロＲＮＡの超高感度電気化学検出法の開発 | １，５００ |
| 矢田　豊隆 | 川崎医科大学 応用医学 医用工学　講師 | 近赤外線蛍光顕微鏡による冠動脈バイパス術前側副血行路と心内膜側微小血管の評価 | １，５００ |
| 西澤　松彦 | 東北大学大学院工学研究科 バイオロボティクス専攻　教授 | 皮膚系細胞の機械刺激応答を解析するための高伸縮性表皮電位計測システムの開発 | １，５００ |
| 石井　秀始 | 大阪大学大学院医学系研究科 癌創薬プロファイリング学 特任教授 | マイクロ RNA 分子内メチル化修飾を一細胞内で計測する高精細技術の開発 | １，５００ |

## 第３２回（平成２７年度）技術開発研究助成金贈呈者

開発研究

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 高橋　康史 | 金沢大学理工研究域電子情報学系 准教授 | ナノ電気化学顕微鏡の創成と単一細胞評価への応用 | ３００ |
| 梶本　武利 | 神戸大学大学院医学研究科 生化学分子生物学講座　助教 | 癌の転移リスクを超早期に診断するための高精度エクソソームマーカー検出法の開発研究 | ２８０ |
| 辰巳　仁史 | 金沢工業大学バイオ・化学部 教授 | 超高解像度光学顕微鏡の革新とアクチン線維切断分子コフィリンの結合の分析 | ２６１ |
| 山中　正道 | 静岡大学学術院理学領域（理学部化学科）　准教授 | 超分子ヒドロゲルを支持体とした電気泳動による巨大 DNA 分離方法の開発 | ３００ |
| 後藤　信哉 | 東海大学医学部内科学系循環器内科学　教授 | 動脈血流下における血管壁損傷部位への血小板細胞接着力の革新的計測技術の開発研究 | ３００ |
| 高嶋　一登 | 九州工業大学大学院生命体工学研究科生体機能応用工学専攻 准教授 | 有機強誘電体を用いたカテーテル型高感度触覚センサの小型化と生体内触診方法の確立 | ３００ |
| 清水　秀二 | 国立循環器病研究センター 上級研究員 | マイクロダイアリシス法を用いた心筋組織中 microRNA の計測技術の開発 | ３００ |
| 阿部　宏之 | 山形大学大学院理工学研究科 バイオ化学工学専攻　教授 | 光干渉断層画像化法を応用した次世代型卵巣機能評価システムの開発 | ３００ |
| 中島　欽一 | 九州大学大学院医学研究院 基盤幹細胞学　教授 | 神経系免疫担当細胞ミクログリアの直接分化転換による新規脊髄損傷治療技術の開発 | ３００ |
| 近藤　輝幸 | 京都大学先端医工学研究ユニット 教授 | 常磁性金属酸化物ナノ粒子の創製と光超音波および磁気共鳴イメージングへの応用 | ３００ |

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 直居　靖人 | 大阪大学大学院医学系研究科<br>乳腺内分泌外科　助教 | ホルマリン固定組織へ応用可能な多重遺伝子発現解析に基づく乳癌の再発予測法の開発 | ３００ |
| 影島　賢巳 | 関西医科大学物理学教室<br>教授 | 再生医療用細胞シートの磁気力負荷装置による新たな物性計測法の開発 | ２５５ |
| 岩脇　隆夫 | 群馬大学大学院医学系研究科附属教育研究支援センター　講師 | 臨床応用を目指した酸化ストレス可視化プローブの開発 | ３００ |

奨励研究

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 佐藤　雄介 | 東北大学大学院理学研究科<br>化学専攻　助教 | 細胞内 RNA 二重鎖構造を標的とした蛍光可視化プローブの開発 | １５０ |
| 小池　雅昭 | 奈良先端科学技術大学院大学<br>バイオサイエンス研究科　助教 | 細胞内小胞体ストレスを経時的、空間的に検出するための高感度プローブの開発 | １５０ |
| 相田　知海 | 東京医科歯科大学難治疾患研究所<br>分子神経科学分野　准教授 | 個体で自在に生体情報を計測・操作するための遺伝学ツールノックイン技術の開発 | １５０ |
| 渡部　昌 | 北海道大学大学院医学研究科<br>助教 | ユビキチンリガーゼの基質を細胞内で網羅的かつ定量的に計測する新規手法の開発研究 | １５０ |
| 武内　敏秀 | 大阪大学大学院医学系研究科<br>神経難病認知症探索治療学寄附講座　寄附講座講師 | 神経変性疾患の診断法開発を目指したエクソソームシャペロームの変容解析 | １５０ |
| 服部　能英 | 大阪府立大学地域連携研究機構<br>講師 | 蛍光型ホウ素センサーによる簡便なホウ素薬剤分析法の開発 | １５０ |
| 清水　一憲 | 名古屋大学大学院工学研究科<br>化学・生物工学専攻　准教授 | 収縮力計測可能な神経支配骨格筋組織チップの開発 | １５０ |
| 吉田　慎哉 | 東北大学大学院工学研究科<br>特任准教授 | 基礎代謝時の深部体温を日常的に測定するための胃酸駆動飲み込み型体温計の開発 | １５０ |
| 安田　充 | 関西学院大学大学院理工学研究科<br>博士研究員 | ナノ薄膜干渉基板を用いた多項目同時・蛍光増強イムノアッセイ | １５０ |
| 西村　博仁 | 国立循環器病研究センター研究所<br>生化学部　流動研究員 | 生きた動物の中で分子反応や細胞動態を解析するための分子イメージング法の開発研究 | １５０ |

特別研究：複数年（2年）

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 藤田　克昌 | 大阪大学 大学院工学研究科<br>准教授 | 無染色組織診断のための高速ラマン分光顕微鏡の開発研究 | 3,000 |
| 齊藤　博英 | 京都大学 iPS 細胞研究所<br>未来生命科学開拓部門　教授 | 人工 RNA スイッチによる標的生細胞の計測･運命制御技術の開発 | 3,000 |
| 松田　道行 | 京都大学大学院医学研究科<br>教授 | タンパク質分子活性を実時間で計測する埋植型 FRET 用 CMOS センサーの開発 | 3,000 |
| 金城　政孝 | 北海道大学大学院先端生命科学研究院<br>教授 | 蛋白質相互作用に基づく細胞内薬物動態解析のための多細胞蛍光相関分光装置の開発研究 | 3,000 |
| 上田　宏 | 東京工業大学資源化学研究所<br>教授 | 高性能なクエンチ解消原理に基づく免疫センサーの選択法に関する研究 | 2,990 |
| 佐藤　守俊 | 東京大学大学院総合文化研究科<br>准教授 | ライブセル超解像イメージングを実現する蛍光プローブの創製 | 2,820 |
| 矢冨　裕 | 東京大学大学院医学系研究科<br>臨床病態検査医学　教授 | 臨床検査への応用を可能にするための還元型・酸化型アルブミン測定系の開発研究 | 2,800 |

## 第３３回（平成２８年度）技術開発研究助成金贈呈者

開発研究

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 山中 真仁 | 名古屋大学大学院工学研究科<br>助教 | 生体組織深部の構造・機能解析を目的とした高空間分解能マルチモーダル顕微鏡の開発 | ２９８ |
| バルマ・<br>プラブハット | 大阪大学大学院工学研究科<br>教授 | 細胞膜機能解明のための液中観察可能な先端増強超解像ラマン顕微鏡の開発 | ３００ |
| 河原 行郎 | 大阪大学大学院医学系研究科<br>教授 | 人工核酸プローブを用いた RNA メチル化効率定量法の開発 | ３００ |
| 笹川 清隆 | 奈良先端科学技術大学院大学<br>物質創成科学研究科　助教 | 超低侵襲かつ高感度な生体埋植用蛍光イメージングデバイスの開発 | ２９６ |
| 浜田 俊幸 | 北海道大学大学院医学研究科<br>特任准教授 | 新規動体追跡技術をもちいた癌発生機構解析装置およびプログラムの開発 | ３００ |
| 牛田 多加志 | 東京大学大学院工学系研究科<br>教授 | 生体組織非侵襲計測のためのテラヘルツ波分光・偏光分光複合化技術の開発 | ３００ |
| ニラウラ・<br>マダン | 名古屋工業大学工学部<br>電気・機械工学科　准教授 | CdTe 成長層を用いた医療用高感度大面積X線画像検出器アレイの開発 | ３００ |
| 荒川 玲子 | 東京女子医科大学附属<br>遺伝子医療センター小児科　講師 | 脊髄性筋萎縮症における次世代型診断薬の開発： SMN 蛋白質測定系の構築 | ３００ |
| 宮内 雄平 | 京都大学エネルギー理工学研究所<br>准教授 | カーボンナノチューブの近赤外アップコンバージョン蛍光を用いた生体イメージング | ３００ |
| 今村 博臣 | 京都大学生命科学研究科<br>准教授 | 蛍光バイオセンサーを用いた分岐鎖アミノ酸の生細胞内イメージング | ２９８ |
| 香月 康宏 | 鳥取大学染色体工学研究センター<br>バイオモデル動物開発部門<br>准教授 | 染色体工学技術を用いた薬物代謝酵素誘導を経時評価可能なシステムの開発 | ３００ |

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 通山 由美 | 姫路獨協大学<br>薬学部医療薬学科　教授 | 好中球の NETs 成分の解析による血栓性疾患の早期検出法の開発 | ３００ |
| 宮本 和英 | 姫路獨協大学薬学部<br>准教授 | 人工ユビキチンリガーゼを活用したユビキチン化の簡易検出システムの構築 | ３００ |
| 道上 達男 | 東京大学大学院総合文化研究科<br>教授 | 多重FRET張力プローブを利用した、次世代細胞張力計測技術の開発 | ３００ |
| 松浦 宏治 | 岡山理科大学<br>工学部生命医療工学科　准教授 | Dynamic Culture Systemで培養される受精卵のシグナル伝達解析 | ３００ |
| 田中 一生 | 京都大学大学院工学研究科<br>准教授 | 19F MRプローブによる超微量生体物質計測法の開発 | ３００ |
| 大橋 俊朗 | 北海道大学大学院工学研究院<br>教授 | 力学環境負荷および細胞牽引力計測が可能ながん細胞遊走解析システムの開発 | ３００ |

奨励研究

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 相良 剛光 | 北海道大学電子科学研究所<br>助教 | インテグリンが生み出す力の定量評価を目指した超分子メカノプローブの開発 | １５０ |
| 熊本 康昭 | 京都府立医科大学大学院<br>医学研究科　助教 | 無髄神経を検出する多点ラマン散乱計測法 | １５０ |
| グェン・<br>タン・ヴィン | 東京大学　IRT研究機構<br>特任研究員 | ピエゾ抵抗型力センサによる微小量血液の粘度計測 | １５０ |
| 渡辺 彰吾 | 岡山大学大学院保健学研究科<br>講師 | 3次元CT画像ガイド下インターベンションを実現するための血管治療用デバイスの開発 | １５０ |
| 渡邊 裕之 | 京都大学大学院薬学研究科<br>助教 | アミリンを標的とした近赤外/2光子励起蛍光プローブの開発と糖尿病病態解明への応用 | １５０ |
| 榛葉 健太 | 東京工業大学<br>日本学術振興会　特別研究員(PD) | 膜タンパク質を材料とした新規細胞内電位計測法の開発 | １５０ |
| 永安 一樹 | 京都大学大学院薬学研究科<br>特定助教 | 新規脳深部イメージング手法の開発と応用 | １５０ |
| 永井 萌土 | 豊橋技術科学大学大学院<br>工学研究科　助教 | 超並列単一細胞プリンタの開発ーハイスループット細胞機能計測に向けて | １５０ |

特別研究：複数年（2年）

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 小林 哲生 | 京都大学大学院工学研究科<br>教授 | 超高感度な光学的磁気センサモジュールで神経磁場を捉える新たな脳機能計測への挑戦 | ３，０００ |
| 道上 宏之 | 岡山大学大学院<br>医歯薬学総合研究科　助教 | BNCT応用へ向けた即発γ線分析による非観血的生体内ホウ素薬物動態測定技術の開発 | ３，０００ |
| 矢作 直也 | 筑波大学医学医療系臨床検査医学<br>准教授 | ニュートリゲノミクスの新手法によるエネルギー代謝制御シグナルの核内計測 | ３，０００ |
| 尾藤 晴彦 | 東京大学大学院医学系研究科<br>教授 | 次世代カルシウム指示タンパク質を活用した記憶長期化機構の全光学的探索法開発 | ３，０００ |
| 竹中 繁織 | 九州工業大学大学院工学研究院<br>教授 | がん診断電気チップの開発 | ２，９６５ |

## 第３４回（平成２９年度）技術開発研究助成金贈呈者

開発研究

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 藤田 秋一 | 鹿児島大学共同獣医学部<br>教授 | 生体膜での脂肪酸ナノスケール解析技術確立による不飽和脂肪酸生理機能発現機序の解明 | ３００ |
| 斎木 敏治 | 慶應義塾大学理工学部<br>教授 | リキッドバイオプシーへ向けたナノポアフィルタ実装金ナノ粒子アッセイデバイスの開発 | ４００ |
| 磯部 圭佑 | 理化学研究所光量子工学研究領域<br>研究員 | 脳機能ネットワーク解明のための深部超解像顕微鏡と光刺激技術の開発 | ４００ |
| 大場 雄介 | 北海道大学大学院医学研究院<br>教授 | 生きた患者がん細胞でチロシンキナーゼ活性を測定する FRET バイオセンサー群の開発 | ４００ |
| 佐藤 和秀 | 名古屋大学高等研究院<br>医学系研究科<br>S-YLC 特任助教(Selected-Young Leaders Cultivation Program) | ナノイメージ計測・分析にて明らかにする光励起細胞死の機序 | ４００ |
| 早水 裕平 | 東京工業大学物質理工学院<br>准教授 | 単一細胞計測のための自己組織化ペプチド修飾２次元ナノバイオセンサの開発 | ４００ |
| 角嶋 邦之 | 東京工業大学工学院<br>准教授 | SiC 半導体を用いた高感度 X 線検出器の作製 | ３００ |
| 雲林院 宏 | 北海道大学電子化学研究所<br>教授 | 銀ナノワイヤー探針増強ラマン顕微鏡を用いた超高密度DNA マッピング | ４００ |
| 竹内 純 | 東京医科歯科大学難治疾患研究所<br>准教授 | 安定拍動･薬効評価可能な心筋神経on-chipディバイスの技術開発 | ４００ |
| 水津 太 | 北海道大学遺伝子病制御研究所<br>准教授 | 膜リン脂質イメージング計測技術の開発と臨床応用に向けた研究 | ４００ |
| 松田 厚志 | 慶應義塾大学医学部<br>助教 | 革新的エクソソーム糖鎖バイオマーカー検出法の開発および医療応用へ向けた研究 | ４００ |
| 久武 幸司 | 筑波大学人間総合科学研究科<br>教授 | 非侵襲的蛍光生体イメージングによる脱共役タンパク質の計測技術の開発 | ４００ |

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 坪井 貴司 | 東京大学大学院総合文化研究科<br>准教授 | 蛍光タンパク質センサーによる細胞内代謝機能の可視化計測技術の開発 | ４００ |
| 中野 裕康 | 東邦大学医学部医学科<br>教授 | FRET を用いたネクロプトーシスと DAMPs 放出の可視化技術の開発 | ４００ |
| 久本 秀明 | 大阪府立大学大学院工学研究科<br>教授 | 極限濃度色素薄膜を用いる遠隔診療用スマホ検出型高感度簡易マルチ診断デバイスの開発 | ４００ |
| 三浦 治郎 | 大阪大学歯学部附属病院<br>助教 | 蛍光型 AGEs を指標とした非侵襲高感度な生体糖化測定手法の開発 | ４００ |
| 岩脇 隆夫 | 金沢医科大学総合医学研究所<br>教授 | ミトコンドリア異常を捉える生体イメージング技術の開発 | ４００ |
| 須藤 亮 | 慶應義塾大学理工学部<br>准教授 | 肝・胆管組織工学に基づく胆汁循環プロセスの計測 | ４００ |
| 小野 大輔 | 名古屋大学環境医学研究所<br>助教 | 生体深部からの細胞活動を可視化するイメージング技術の開発 | ４００ |
| 大島 まり | 東京大学生産技術研究所<br>教授 | 治療支援のための医用画像とシミュレーション統合による脳循環動態予測システム開発 | ４００ |

奨励研究

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 馬越 貴之 | 大阪大学大学院工学研究科<br>助教 | 波長を選ばない表面増強ラマン分光法の開発と単一生体分子分析への展開 | ２００ |
| 浅見 祐也 | 学習院大学理学部<br>助教 | タンパク質二次構造の解明を目指した液滴分子線赤外レーザー蒸発－気相 CD 分光法の開発 | １５０ |
| 倉科 佑太 | 慶應義塾大学理工学部<br>助教 | 超音波振動から生じる音響放射圧を用いた細胞接着力の測定装置の開発 | ２００ |
| 志水 陽一 | 京都大学医学部附属病院放射線部<br>助教 | がんの性状診断を可能とする Activatable 光超音波イメージング剤の開発 | ２００ |
| 藤本 裕 | 東北大学大学院工学研究科<br>助教 | フォトンカウンティング型X線CTへの応用を目指した新規シンチレータ素子の開発 | ２００ |
| 吉井 達之 | 名古屋工業大学大学院工学研究科<br>助教 | タンパク質構造体の積極利用による微量化学種の高感度検出 | ２００ |
| 佐野 紘平 | 神戸薬科大学薬品物理化学研究室<br>講師 | がんの性状鑑別を目的とした高感度磁気共鳴／光音響イメージングプローブの創製 | １５０ |
| 野上 大史 | 九州大学大学院工学研究院<br>助教 | 褥瘡モニタリング用の接触荷重・血行・皮膚の状態を測定可能なワンチップ多機能センサ | ２００ |
| 白松 知世 | 東京大学<br>先端科学技術研究センター<br>特任助教 | 迷走神経刺激療法の皮質神経回路に対する神経学的作用機序の解明方法の開発 | ２００ |
| 小和田 俊行 | 東北大学多元物質科学研究所<br>助教 | シグナル伝達経路の詳細解析を可能とする光操作小分子プローブの開発 | ２００ |

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 猪瀬 朋子 | 北海道大学電子科学研究所<br>助教 | 液中局在プラズモン共鳴 microRNA センシング | ２００ |
| 紅林 佑希 | 静岡県立大学大学院薬学研究院<br>助教 | ウイルス酵素イメージングによる薬剤耐性インフルエンザウイルスの検出技術の開発 | １５０ |

特別研究：複数年（2 年）

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 田中 拓男 | 理化学研究所<br>田中メタマテリアル研究室<br>主任研究員 | 赤外吸収メタマテリアルと分子の共鳴結合を利用した高感度極微量分子分光法の開発 | ２，９４６ |
| 富澤 一仁 | 熊本大学大学院生命科学研究部<br>教授 | RNA 修飾ヌクレオシド計測システム開発 とその非侵襲的診断技術への応用 | ３，０００ |
| 竹本 研 | 横浜市立大学医学部生理学<br>助教 | 内在性蛋白質の時空間機能を網羅的に計測可能な光学技術の開発 | ３，０００ |
| 城口 克之 | 理化学研究所<br>生命システム研究センター<br>ユニットリーダー | 菌叢ネットワークの理解・コントロールへ向けた“次世代”菌叢解析法 の開発 | ３，０００ |
| 安井 武史 | 徳島大学大学院<br>社会産業理工学研究部　教授 | 光コムを用いたスキャンレス共焦点蛍光顕微鏡の開発と超解像イメージングへの展開 | ２，９９５ |

長期大型研究：複数年（5 年）

| 氏　名 | 所 属 機 関・職 名 | 研 究 題 目 | 助成金額 |
|---|---|---|---|
| 田中　求 | ハイデルベルグ大学<br>物理化学研究所　教授 | 医学物理の基礎学理を中核とする医工計測の新たな研究・教育グローバル拠点の確立 | ３０，０００ |

| 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 |
| 平成 22 年度 | 平成 23 年 2 月 25 日 | 11 件 | 1,800 万円 |
| 平成 23 年度 | 平成 24 年 2 月 24 日 | 11 件 | 1,798 万円 |
| 平成 24 年度 | 平成 25 年 2 月 22 日 | 11 件 | 1,600 万円 |
| 平成 25 年度 | 平成 26 年 2 月 28 日 | 20 件 | 4,525 万円 |
| 平成 26 年度 | 平成 27 年 3 月 12 日 | 27 件 | 11,716 万円 |
| 平成 27 年度 | 平成 28 年 2 月 26 日 | 30 件 | 19,981 万円 |
| 平成 28 年度 | 平成 29 年 2 月 24 日 | 30 件 | 21,257 万円 |
| 平成 29 年度 | 平成 30 年 2 月 16 日 | 38 件 | 54,891 万円 |
| 累計 | | 445 件 | 167,849 万円 |

# 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<br>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<br>フランス<br>ツールース | 昭和 60 年<br>４月 |
| 堀　　原一 | 筑波大学<br>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<br>メルボルン・シドニー | 10 月 |
| 黒川　一郎 | 札幌医科大学<br>教授 | 国際血液標準化委員会 | イギリス<br>ブライトン・ロンドン | 10 月 |
| 八幡　義人 | 川崎医科大学<br>教授 | 日米学術交流セミナー | アメリカ<br>ミネアポリス | 昭和 61 年<br>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<br>教授 | 第 21 回国際血液学会 | オーストラリア<br>シドニー | 昭和 61 年<br>５月 |
| 新谷　和夫 | 関東通信病院<br>血液研究部長 | 第 21 回国際血液学会 | オーストラリア<br>シドニー | ５月 |
| 屋形　　稔 | 新潟大学医学部<br>教授 | 1986 年度米国臨床化学会学術集会 | アメリカ<br>シカゴ・サンフランシスコ | ７月 |
| 江刺　正喜 | 東北大学工学部<br>助教授 | 第１回米日医生物工学シンポジウム | アメリカ<br>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<br>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<br>イギリス・ロンドン | ９月 |
| 瀬口　靖幸 | 大阪大学基礎工学部<br>教授 | 第８回 IEEE 医用生体工学国際会議 | アメリカ<br>ヒューストン | 11 月 |
| 鈴木　良次<br>他８名 | 大阪大学基礎工学部<br>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<br>上海 | 12 月 |
| 田村　安孝 | 山形大学工学部<br>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<br>ニューポートビーチ | 昭和 62 年<br>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<br>医学部講師 | 第 11 回国際血栓止血学会 | ベルギー<br>ブラッセル | 昭和 62 年<br>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<br>助教授 | 第11回国際血栓止血学会 | ベルギー<br>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<br>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<br>教授 | 国際神経回路網会議 | アメリカ<br>サンディエゴ | 昭和63年<br>7月 |
| 吉村　武晃 | 神戸大学工学部<br>助教授 | 国際ME学会 | アメリカ<br>サン・アントニオ | 8月 |
| 安藤　　繁 | 東京大学工学部<br>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<br>北京・瀋陽 | 8月 |
| 浅野　茂隆 | 東京大学医科学研究所<br>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<br>メルボルン | 8月 |
| 山口　延男 | 神戸大学医学部<br>教授 | 第22回国際血液学会 | イタリア<br>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<br>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<br>ストックホルム | 9月 |
| 荒井　恒憲 | 防衛医科大学校<br>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<br>ロスアンゼルス | 平成元年<br>1月 |

**平成元年度技術交流（派遣）助成対象**

| 氏　　名 | 所属機関・職名 | 会　　議　　名 | 開催地 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 志賀　　健 | 大阪大学医学部<br>教授 | 弟7回国際バイオレオロジー学会総会 | フランス<br>ナンシー | 平成元年<br>6月 |
| 川上　憲司 | 東京慈恵会医科大学<br>助教授 | 第17回国際医学放射線学会 | フランス<br>パリ | 7月 |
| 幸道　秀樹 | 東京大学医科学研究所<br>講師 | 国際実験血液学会総会 | フランス<br>パリ | 7月 |
| 菊池　　眞 | 防衛医科大学校<br>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<br>メルボルン | 7月 |
| 只野 寿太郎 | 佐賀医科大学<br>教授 | 弟2回国際健康と生命化学領域における質量分析学会 | アメリカ<br>サンフランシスコ | 8月 |
| 八幡　義人 | 川崎医科大学<br>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<br>ベルリン | 8月 |
| 岡田　正彦 | 新潟大学医学部<br>助教授 | 第11回IEEE医用生体工学国際会議 | アメリカ<br>シアトル | 11月 |
| 大西　　昇 | 名古屋大学工学部<br>助教授 | 第11回IEEE医用生体工学国際会議 | アメリカ<br>シアトル | 11月 |

## 平成２年度技術交流（派遣）助成対象

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

## 平成３年度技術交流（派遣）助成対象

| 氏　　名 | 所属機関・職名 | 会　　議　　名 | 開催地 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 鈴木　宏治 | 三重大学医学部<br>教授 | 第 13 回国際血栓止血学会 | オランダ<br>アムステルダム | 平成３年<br>６月 |
| 屋形　　稔 | 新潟大学医学部<br>名誉教授 | 第 16 回世界病理・臨床病理学会 | カナダ<br>バンクーバー | ６月 |
| 犬塚　　貴 | 新潟大学医学部<br>助手 | 第 13 回国際神経化学会 | オーストラリア<br>シドニー | ７月 |
| 樋口　哲也 | 電子技術総合研究所<br>情報ｱｰｷﾃｸﾁｬ部<br>主任研究官 | 国際人工知能会議 | オーストラリア<br>シドニー | ８月 |
| 増田　俊久 | 電子技術総合研究所<br>エネルギー基礎部<br>主任研究官 | 第２回欧州宇宙用電源会議 | イタリア<br>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<br>室長 | 第６回世界超音波学会 | デンマーク<br>コペンハーゲン | ９月 |
| 北風　政史 | 大阪大学医学部<br>医員 | 第 64 回米国心臓病理学会 | アメリカ<br>アナハイム | 11 月 |
| 小澤　敬也 | 東京大学医科学研究所<br>助教授 | 第 33 回アメリカ血液学会総会 | アメリカ<br>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<br>ナイボルグ | 平成４年<br>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<br>講師 | 国際不整脈アブレーション会議 | アメリカ<br>ノースカロライナ | 平成４年<br>５月 |
| 黒田　新一 | 電子技術総合研究所<br>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<br>フィレンツェ | ６月 |
| 八木　康之 | 電子技術総合研究所<br>エネルギー基礎部<br>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<br>ヴェルツブルグ | ９月 |
| 小笠原 康夫 | 川崎医科大学<br>講師 | 第 14 回 IEEE 医用生体工学国際会議 | フランス<br>パリ | 10 月 |
| 三戸　章裕 | 計量研究所熱物性部<br>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<br>ビューストン | 12 月 |
| 中村　　収 | 計量研究所力学部<br>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<br>シドニー | 平成５年<br>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<br>講師 | インシュリンに関する Banting and Best シンポジウム | カナダ<br>トロント | 平成５年<br>６月 |
| 猪狩　　淳 | 順天堂大学医学部<br>教授 | 弟 18 回国際化学療法学会 | スェーデン<br>ストックホルム | ７月 |
| 柴田　　昭 | 新潟大学<br>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<br>クアラルンプール | ８月 |
| 佐藤　俊輔 | 大阪大学基礎工学部<br>教授 | IMIA - IFMBE 生体信号の解釈に関する研究集会 | デンマーク<br>アールボー | ８月 |
| 濱崎　直孝 | 九州大学医学部<br>教授 | ゴードン研究国際会議 | アメリカ<br>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<br>ケンブリッジ | ９月 |
| 鈴木　　康 | 昭和大学医学部<br>助教授 | 第 17 回世界解剖、臨床病理学会連合会議 | メキシコ<br>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<br>アカプルコ | 10 月 |
| 清水　　章 | 大阪医科大学医学部<br>教授 | 第 15 回国際臨床化学会議 | オーストラリア<br>メルボルン | 11 月 |
| 岡部　紘明 | 熊本大学医学部<br>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<br>メルボルン | 11 月 |
| 佐々木 匡秀 | 高知医科大学医学部<br>教授 | 第 15 回国際臨床化学会議 | オーストラリア<br>メルボルン | 11 月 |
| 河野　均也 | 日本大学医学部<br>教授 | 第 15 回国際臨床化学会議 | オーストラリア<br>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<br>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<br>サンフランシスコ | 11 月 |
| 中山　　貫 | 計量研究所<br>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<br>トリノ | 平成 6 年<br>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<br>教授 | 第 72 回米国臨床病理学会春期大会 | アメリカ<br>シアトル | 平成 6 年<br>4月 |
| 森　　徹 | 京都大学医学部<br>教授 | 第 76 回米国分泌学会議 | アメリカ<br>アナハイム | 6月 |
| 伊藤　順司 | 電子技術総合研究所<br>電子デバイス部<br>主任研究官 | 第 7 回国際真空マイクロエレクトロ二クス会議 | フランス<br>グルノーブル | 7月 |
| 加藤　吉彦 | 電子技術総合研究所<br>光技術部　主任研究官 | 電磁精密測定国際会議 | アメリカ<br>ボルダー | 7月 |
| 望月　精一 | 川崎医療短期大学<br>講師 | 医用物理生体工学世界会議 | ブラジル<br>リオデジャネイロ | 8月 |
| 菅原　基晃 | 東京女子医科大学<br>教授 | 医用物理生体工学世界会議 | ブラジル<br>リオデジャネイロ | 8月 |
| 佐野　雅之 | 佐賀医科大学輸血部<br>講師 | 接触因子異常症とその臨床に関する集会 | アメリカ<br>ベセスダ | 9月 |
| 櫻井　晃洋 | 信州大学医学部<br>助手 | 第 68 回米国甲状腺学会議 | アメリカ<br>シカゴ | 9月 |
| 津田　展宏 | 計量研究所量子部<br>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<br>ロンドン | 9月 |
| 熊野　和雄 | 北里大学医学部<br>講師 | 第 15 回国際腹膜透析学会 | アメリカ<br>ボルチモア | 平成 7 年<br>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<br>外科副部長 | 第３回国際先端外科手術学会 | ドイツ<br>ルクセンブルグ | 平成 7 年<br>6月 |
| 菅野　剛史 | 浜松医科大学医学部<br>教授 | 第 11 回 IFCC ヨーロッパ臨床化学会議 | フィンランド<br>タンペレ | 7月 |
| 橋本　琢磨 | 金沢大学医学部<br>教授 | 第 11 回 IFCC ヨーロッパ臨床化学会議 | フィンランド<br>タンペレ | 7月 |
| 立花　博之 | 川崎医療短期大学<br>助手 | 地中海医用物理生体工学会議 | イスラエル<br>エルサレム | 9月 |
| 堀　　原一 | 筑波大学<br>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<br>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<br>助教授 | 第 16 回国際高血圧学会学術集会 | イギリス<br>グラスゴー | 平成８年<br>６月 |
| 村山　　泰 | 電子技術総合研究所<br>基礎計測部<br>主任研究官 | 精密電磁気計測会議 | ドイツ<br>ブラウンシュバイク | ６月 |
| 西村　敏博 | 大分大学工学部<br>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<br>バベノ | ６月 |
| 杉浦　清了 | 東京大学医学部<br>助手 | ゴードンリサーチ会議 | アメリカ<br>ニューハンプシャー | ７月 |
| 井上　武海 | 電子技術総合研究所<br>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<br>リール | ８月 |
| 熊谷　俊一 | 神戸大学医学部<br>教授 | 第 60 回アメリカリウマチ学会 | アメリカ<br>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<br>教授 | 第１回国際パーオキシナイトライト会議 | スイス<br>アスコナ | 平成９年<br>５月 |
| 上塚　芳郎 | 東京女子医科大学<br>講師 | 第 16 回国際血栓止血学会議 | イタリア<br>フローレンス | ６月 |
| 山田　俊幸 | 自治医科大学<br>講師 | 第 49 回米国臨床化学会議 | アメリカ<br>アトランタ | ７月 |
| 豊田　英嗣 | 川崎医科大学<br>大学院生 | 国際医用物理生体工学会議 | フランス<br>ニース | ９月 |
| 秋山　修二 | 電子技術総合研究所<br>超分子部　主任研究官 | 第４回神経情報処理国際会議 | ニュージーランド<br>ダニーデイン | 11 月 |

### 平成 10 年度技術交流（派遣）助成対象

| 氏　　名 | 所属機関・職名 | 会　　議　　名 | 開催地 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 岡田　徳次 | 新潟大学工学部<br>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<br>ルーベン | 平成 10 年<br>５月 |
| 橋本　大定 | 東京警察病院<br>外科部長 | 第６回世界内視鏡外科学会<br>腹膜鏡下手術シンポジウム | イタリア・ローマ<br>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<br>助教授 | 第 71 回米国心臓学会学術集会 | アメリカ<br>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<br>講師 | 第 44 回米国生物物理学会 | アメリカ<br>ニューオリンズ | 平成 12 年<br>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<br>サンディエゴ | 平成 12 年<br>４月 |
| 岩佐　章夫 | 電子技術総合研究所<br>基礎計測部<br>主任研究官 | 電磁気精密計測国際会議 | オーストラリア<br>シドニー | ５月 |
| ハッサン　ＭＤモイヌディン | 東京医科歯科大学生体材料工学研究所<br>大学院生 | 国際医用物理生体工学会議シカゴ 2000 | アメリカ<br>シカゴ | ７月 |
| 谷口　慶治 | 福井大学<br>名誉教授 | IEEE 信号処理部会 2000 年度画像処理に関する国際会議 | カナダ<br>バンクーバー | ９月 |
| 清島　　満 | 岐阜大学医学部<br>臨床検査医学<br>教授 | 第 73 回米国心臓学会学術集会 | アメリカ<br>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<br>オーランド | 平成 13 年<br>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<br>デンバー | 平成 13 年<br>７月 |
| 清岡　崇彦 | 岡山大学大学院医歯学総合研究科システム循環生理学　大学院生 | 左心室 - 容積ループ（PV―LOOPS）国際シンポジウム | オランダ<br>マーストリヒト | 平成 14 年<br>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<br>助教授 | 超伝導応用国際会議（ASC 2002） | アメリカ<br>ヒューストン | 平成 14 年<br>８月 |
| 柴田　政廣 | 東京大学大学院<br>医学系研究科　講師 | 第 22 回欧州微小循環学会議 | イギリス<br>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<br>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 | オーストラリア・シドニー | 平成 15 年<br>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<br>保健学科放射線診療技術学講座　助手 | American Heart Association Scientific Sessions 2004（米国心臓学会） | アメリカ<br>ニューオリンズ | 平成 16 年<br>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<br>内科医師 | American Heart Association<br>（米国心臓学会） | アメリカ<br>ダラス | 平成 17 年<br>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<br>教授 | American Association for Clinical Chemistry, Annual Meeting（米国臨床化学会） | アメリカ<br>シカゴ | 平成 18 年<br>7 月 |
| 片岡　則之 | 川崎医療短期大学<br>講師 | 5th World Congress of Biomechanics<br>（第５回生体力学世界会議） | ドイツ<br>ミュンヘン | 平成 18 年<br>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 | 川崎医療福祉大学・医療技術学部・臨床工学科<br>教授 | 第 13 回国際バイオレオロジー学会･第 6 回国際臨床ヘモレオロジー学会 | 米国<br>ペンシルベニア州 | 平成 20 年<br>7 月 |

**平成 21 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 |
|---|---|---|---|---|
| 有光 百合子 | Biomechanics<br>Laboratory<br>Mayo Clinic | 2009 年アメリカ手の手術の外科･ハンドラセラピー学会 | アメリカ合衆国<br>サンフランシスコ州 | 平成 21 年<br>9 月 |

**平成 23 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 |
|---|---|---|---|---|
| 金　性勲 | 東北大学大学院工学研究科　電気通信工学専攻<br>博士課程後期３年 | ＩＥＥＥ<br>国際磁気学会 | カナダ<br>バンクーバー | 平成 24 年<br>5 月 |

**平成 24 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 |
|---|---|---|---|---|
| 岡島 亜希子 | 三重大学<br>工学研究科<br>博士前期課程２年 | 第 25 回真空ナノエレクトロニクス国際会議 | 韓国<br>済州島 | 平成 24 年<br>7 月 |
| 堀　正峻 | 東京大学大学院<br>情報理工学系研究科<br>博士課程 | MEMS2013 | 台湾<br>台北 | 平成 25 年<br>1 月 |
| 須藤　健太 | 宇都宮大学<br>工学研究科<br>博士前期課程２年 | フォトニクス・ウエスト 2013，バイオス | アメリカ<br>カリフォルニア州 | 平成 25 年<br>2 月 |

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 会議名 | 開催地 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 銭　昆 | 東京大学工学部<br>精密工学科<br>学部学生 | 第 27 回 CARS　2013 放射線医学及び外科学における<br>コンピュータ支援国際会議 | ドイツ<br>ハイデルベルク | 平成 25 年<br>6 月～7 月 |
| 加藤　峰士 | 東京大学大学院<br>工学系研究科<br>博士課程 1 年生 | 第 27 回 CARS　2013 放射線医学及び外科学における<br>コンピュータ支援国際会議 | ドイツ<br>ハイデルベルク | 平成 25 年<br>6 月～7 月 |

**平成 25 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 |
|---|---|---|---|---|
| 藤田　敏次 | 大阪大学微生物病研究所　感染症学免疫学融合プログラム推進室<br>助教 | 第 15 回国際免疫会議 | イタリア<br>ミラノ | 平成 25 年<br>8 月 |
| 荻　智成 | 豊橋技術科学大学<br>大学院工学研究科<br>機械工学専攻<br>博士前期課程 1 年 | IEEE SMC 2013 | イギリス<br>マンチェスター | 平成 25 年<br>10 月 |
| 岩崎　友哉 | 名古屋工業大学大学院<br>工学研究科<br>未来材料創成工学専攻<br>博士前期課程 1 年 | 第 4 回アジア錯体化学会議 | 韓国<br>済州島 | 平成 25 年<br>11 月 |
| 西尾　瑞穂 | 神戸大学大学院医学研究科　内科系講座放射線医学分野<br>特命助教 | 第 99 回北米放射線学会 | アメリカ<br>シカゴ | 平成 25 年<br>12 月 |
| 長尾　亮 | 大阪大学大学院工学研究科　環境･エネルギー工学専攻<br>博士前期課程 1 年 | BiOS 2014,part of Photonics West | アメリカ<br>カリフォルニア・サンフランシスコ | 平成 26 年<br>1 月～2 月 |
| 法野　祐規 | 名古屋大学大学院医学系研究科　医療技術学専攻博士前期課程 2 年 | SPIE Medical Imaging 2014<br>国際光工学会 | アメリカ<br>カリフォルニア・サンディエゴ | 平成 26 年<br>2 月 |
| 田中　利恵 | 金沢大学医薬保健研究域　保健学系<br>助教 | SPIE Medical Imaging 2014<br>国際光工学会 | アメリカ<br>カリフォルニア・サンディエゴ | 平成 26 年<br>2 月 |
| 金子　智則 | 東京大学大学院情報理工学系研究科<br>知能機械情報学専攻<br>修士課程 | The27th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems | アメリカ<br>カリフォルニア・サンフランシスコ | 平成 26 年<br>1 月 |
| ディン　ホアンジャン | 東京大学大学院情報理工学系研究科<br>知能機械情報学専攻<br>修士課程 | The27th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems | アメリカ<br>カリフォルニア・サンフランシスコ | 平成 26 年<br>1 月 |

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 会議名 | 開催地 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 鈴木　崇大 | 東京大学大学院情報理工学系研究科<br>知能機械情報学専攻<br>修士課程 | The27th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems | アメリカ<br>カリフォルニア・サンフランシスコ | 平成26年1月 |
| ファン　クァンカン | 東京大学大学院情報理工学系研究科<br>知能機械情報学専攻<br>修士課程 | The27th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems | アメリカ<br>カリフォルニア・サンフランシスコ | 平成26年1月 |
| グッドウィン・ジョナサン | 北海道大学病院<br>放射線診療科<br>特任助教 | 国際磁気共鳴学会・欧州医生物学磁気共鳴合同会議 | イタリア<br>ミラノ | 平成26年5月 |
| セーボレー那沙 | 東京農工大学大学院<br>工学府　生命工学専攻<br>博士後期課程２年 | The24th Anniversary World Congress on Biosensors | オーストラリア<br>メルボルン | 平成26年5月～6月 |

**平成26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 |
|---|---|---|---|---|
| 金　潤河 | 東京大学大学院<br>工学系研究科<br>電気系工学専攻<br>博士課程３年 | 第5回IEEE RAS & EMBS バイオメディカル・ロボティックスとバイオメカトロニックスに関する国際会議 | ブラジル<br>サンパウロ | 平成26年8月 |
| 内藤 佳菜子 | 東京大学大学院<br>工学系研究科<br>バイオエンジニアリング専攻　修士課程 | 第 7 回医療用ロボット技術に関するハムリンシンポジウム | イギリス<br>ロンドン | 平成26年7月 |
| 豊田　峻輔 | 大阪大学大学院<br>生命機能研究科<br>時空生物学講座<br>特任研究員 | FENS 第9回欧州神経科学会議 | イタリア<br>ミラノ | 平成26年7月 |
| 草苅　大輔 | 大阪大学大学院<br>工学研究科　環境･エネルギー工学専攻 | バイオス2015<br>フォトニクス<br>ウェスト | アメリカ<br>カリフォルニア | 平成27年2月 |
| 金子　智則 | 東京大学大学院情報理工学系研究科<br>知能機械情報学専攻<br>修士課程 | 第28回微小電気機械システムに関するIEEE国際会議 | ポルトガル<br>エストリル | 平成27年1月 |
| 青木　亮 | 東京大学大学院情報理工学系研究科<br>知能機械情報学専攻<br>修士課程 | 第28回微小電気機械システムに関するIEEE国際会議 | ポルトガル<br>エストリル | 平成27年1月 |
| 鈴木　智絵 | 東京大学大学院情報理工学系研究科<br>知能機械情報学専攻<br>修士課程 | 第28回微小電気機械システムに関するIEEE国際会議 | ポルトガル<br>エストリル | 平成27年1月 |

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 会議名 | 開催地 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 風間　涼平 | 東京大学大学院情報理工学系研究科<br>知能機械情報学専攻<br>修士課程 | 第28回微小電気機械システムに関するIEEE国際会議 | ポルトガル<br>エストリル | 平成27年<br>1月 |
| 吉野 鉄大 | 慶應義塾大学医学部<br>漢方医学センター<br>助教 | 第10回国際代替医療研究会 | 大韓民国<br>済州 | 平成27年<br>5月 |
| 有田 龍太郎 | 慶應義塾大学医学部<br>漢方医学センター<br>助教 | 第10回国際代替医療研究会 | 大韓民国<br>済州 | 平成27年<br>5月 |

**平成27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 |
|---|---|---|---|---|
| 森山　敏文 | 長崎大学大学院<br>工学研究科<br>電気・情報工学科学部門 | 電磁気研究推進シンポジウム | チェコ共和国<br>プラハ | 平成27年<br>7月 |
| 槇田　諭 | 佐世保工業高等専門学校<br>電子制御工学科<br>講師 | 第25回国際バイオメカニクス学会大会 | イギリス<br>グラスゴー | 平成27年<br>7月 |
| 小山　稔生 | 金沢大学大学院<br>自然科学研究科機械科学専攻<br>人間機械創造研究室 | The 2015 IEEE/ASME International Conference on Advanced Intelligent Mechatronics | 韓国<br>釜山 | 平成27年<br>7月 |
| 田中　幸美 | 東京大学大学院<br>新領域創成科学研究科<br>人間環境学専攻 | IEEE　医療・生理部会 | イタリア<br>ミラノ | 平成27年<br>8月 |
| 白松　知世 | 東京大学　先端科学技術センター　生命知能システム分野　特任研究員 | 脳のエラーシグナル-第7回ミスマッチネガティビティカンファレンス | ドイツ<br>ライプツィヒ | 平成27年<br>9月 |
| 真鍋　正伸 | 大阪大学大学院<br>工学研究科　環境・エネルギー工学専攻 | 中性子捕捉療法国際学会 | イタリア<br>パビア | 平成27年<br>9月 |
| 吉見　靖男 | 芝浦工業大学<br>工学部応用化学科<br>教授 | 第14回治療薬モニタリングおよび臨床毒性学国際会議 | オランダ<br>ロッテルダム | 平成27年<br>10月 |
| 荒船　拓也 | 群馬大学大学院　理工学専攻　電子情報・数理教育プログラム | 第11回IEEE主催<br>ASIC国際会議 | 中国<br>成都 | 平成27年<br>11月 |
| 梶本　武利 | 神戸大学大学院<br>医学研究科生化学分子生物学講座　助教 | 2015年アメリカ細胞生物学会年会 | アメリカ<br>サンディエゴ | 平成27年<br>12月 |
| 安藤　潤 | 大阪大学大学院<br>工学研究科<br>精密科学・応用物理学専攻　特任研究員（常勤） | 環太平洋国際化学会議2015 | アメリカ<br>ホノルル | 平成27年<br>12月 |

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 会議名 | 開催地 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 吉田　悟 | 慶應義塾大学大学院<br>理工学研究科 | 第 29 回 MEMS 国際会議 | 中国<br>上海 | 平成 28 年<br>1 月 |
| 鈴木　規之 | 慶應義塾大学大学院<br>理工学研究科<br>総合デザイン工学専攻 | 第 29 回 MEMS 国際会議 | 中国<br>上海 | 平成 28 年<br>1 月 |
| 岡谷　泰佑 | 東京大学大学院<br>情報理工学系研究科<br>知能機械情報学専攻 | 第 29 回 MEMS 国際会議 | 中国<br>上海 | 平成 28 年<br>1 月 |
| 大西　航 | 東京大学大学院<br>情報理工学系研究科<br>知能機械情報学専攻 | 第 29 回 MEMS 国際会議 | 中国<br>上海 | 平成 28 年<br>1 月 |
| 朴　熙俊 | 東京大学大学院<br>情報理工学系研究科<br>知能機械情報学専攻 | 第 29 回 MEMS 国際会議 | 中国<br>上海 | 平成 28 年<br>1 月 |
| 白石　祐大 | 東京農工大学大学院<br>工学府<br>機械システム工学専攻 | 物理生物学会年会 | アメリカ<br>ロサンゼルス | 平成 28 年<br>2 月 |
| 金澤　裕樹 | 徳島大学大学院<br>医歯薬学研究部<br>医用画像情報科学分野<br>助教 | 欧州放射線会議 | オーストリア<br>ウィーン | 平成 28 年<br>3 月 |
| 寺崎　健人 | 九州大学大学院<br>医学系学府　保健学専攻<br>医用量子線科学分野 | 第 14 回国際放射線防護学会<br>国際会議 | アフリカ<br>ケープタウン | 平成 28 年<br>5 月 |
| 濱口　卓也 | 慶應義塾大学医学部<br>漢方医学センター<br>助教 | 第 11 回国際代替医療研究会 | アメリカ<br>ラスベガス | 平成 28 年<br>5 月 |
| 井口　泰成 | 大阪大学大学院<br>工学研究科<br>環境・エネルギー工学専攻 | アメリカ質量分析会議 | アメリカ<br>サン・アントニオ | 平成 28 年<br>6 月 |

**平成 28 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 |
|---|---|---|---|---|
| 木竜　徹 | 新潟大学<br>自然科学研究科<br>電気情報工学専攻<br>人間支援科学コース<br>教授 | XXI Congress of the International Society of Electrophysiology and Kinesiology<br>第 21 回 国際電気生理運動学会大会 | アメリカ<br>シカゴ | 平成 28 年<br>7 月 |

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 会議名 | 開催地 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 伊藤　健一 | 新潟工科大学<br>工学部工学科<br>准教授 | The 38th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC’16)<br>第 38 回国際 ME 学会議 | アメリカ<br>オーランド | 平成 28 年<br>8 月 |
| 龍　進吾 | 豊橋技術科学大学大学院<br>工学研究科<br>情報・知能工学専攻<br>博士前期課程 | The 38th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC’16)<br>第 38 回国際 ME 学会議 | アメリカ<br>オーランド | 平成 28 年<br>8 月 |
| 臼井　健二 | 甲南大学<br>フロンティアサイエンス学部<br>生命化学科<br>准教授 | The 34th European Peptide Symposium and the 8th International Peptide Symposium<br>第 34 回ヨーロッパペプチドシンポジウム・第 8 回国際ペプチドシンポジウム | ドイツ<br>ライプツィヒ | 平成 28 年<br>9 月 |
| 吉田　光輝 | 慶應義塾大学大学院<br>理工学研究科<br>総合デザイン工学専攻<br>（機械系） | The 20th International Conference on Miniaturized Systems for Ch emistry and Life Science<br>化学と生命科学のための微小システムに関する国際会議 | アイルランド<br>ダブリン | 平成 28 年<br>10 月 |
| 林　裕晃 | 徳島大学大学院<br>医歯薬学研究部<br>助教 | Annual Meeting of Radiological Society of North America<br>北米放射線学会年次大会 | アメリカ<br>シカゴ | 平成 28 年<br>11 月 |
| 浜田　俊幸 | 北海道大学大学院<br>医学研究科<br>放射線医学分野<br>特任准教授 | Neuroscience 2016<br>北米神経科学会 2016 | アメリカ<br>サンディエゴ | 平成 28 年<br>11 月 |
| 近藤　泰成 | 豊橋技術科学大学大学院<br>工学研究科<br>情報・知能工学専攻<br>博士前期課程　1 年 | 24th Color Imaging Conference<br>色画像化会議 | アメリカ<br>サンディエゴ | 平成 28 年<br>11 月 |
| 鈴木　南羽 | 東京農工大学<br>工学府<br>生命工学専攻 | Pacific rim meeting on electrochemical and solid-state science 2016<br>2016 年電気化学会（ECSJ）秋季大会 | アメリカ<br>ホノルル | 平成 28 年<br>10 月 |

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 会議名 | 開催地 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 空田明日香 | 東京農工大学大学院<br>工学府<br>生命工学専攻 | Pacific rim meeting on electrochemical and solid-state science 2016<br>2016 年電気化学会（ECSJ）秋季大会 | アメリカ<br>ホノルル | 平成 28 年<br>10 月 |
| 上村圭亮 | 大阪大学大学院<br>医学系研究科<br>運動器医工学治療学 | ISTA 2016<br>第 29 回国際人工関節技術会議 | アメリカ<br>ボストン | 平成 28 年<br>10 月 |
| NGUYEN THANH VINH | 東京大学<br>IRT 研究機構<br>下山研究室<br>特任研究員 | THE 69th ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN PHYSICAL SOCIETY- DIVISION OF FLUID DYNAMICS<br>アメリカ物理学会 流体力学部門　第 69 回年次会合 | アメリカ<br>ポートランド | 平成 28 年<br>11 月 |
| 皿上　順英 | 大阪大学大学院<br>工学研究科<br>環境・エネルギー工学専攻 | The 17th International Congress on Neutron Capture Therapy<br>第 17 回国際中性子捕捉療法学会学術大会 | アメリカ<br>コロンビア | 平成 28 年<br>10 月 |
| 小林　美菜 | 大阪大学<br>工学研究科<br>環境エネルギー工学専攻 | ICRS-13＆RPSD-2016<br>第 13 回放射線遮蔽国際会議・第 19 回米国原子力学会放射線防護遮蔽部会会合 | フランス<br>パリ | 平成 28 年<br>10 月 |
| 平谷　萌恵 | 東京農工大学大学院<br>工学府<br>生命工学専攻<br>修士１年 | The 20th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences<br>化学と生命科学のための微小システムに関する国際カンファレンス | アイルランド<br>ダブリン | 平成 28 年<br>10 月 |
| 紀本 夏実 | 徳島大学<br>大学院保健科学教育部<br>保健学専攻 | SPIE Medical Imaging<br>国際光学学会　医用画像分野 | アメリカ<br>オーランド | 平成 29 年<br>2 月 |
| 熊本　康昭 | 京都府立医科大学大学院<br>医学研究科<br>細胞分子機能病理学<br>助教 | SPIE Photonics West<br>国際光工学会フォトニクスウエスト | アメリカ<br>サンフランシスコ | 平成 29 年<br>1 月 |
| 藤本 和也 | 京都大学大学院<br>工学研究科<br>マイクロエンジニアリング専攻<br>特定研究員 | The 30th IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS 2017)<br>第 30 回 MEMS 国際会議 | アメリカ<br>ラスベガス | 平成 29 年<br>1 月 |

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 会議名 | 開催地 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 岡谷 泰佑 | 東京大学大学院<br>情報理工学系研究科<br>知能機械情報学専攻<br>修士 2 年 | The 30th IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS 2017)<br>第 30 回 MEMS 国際会議 | アメリカ<br>ラスベガス | 平成 29 年<br>1 月 |
| 松田 信彦 | 東京大学大学院<br>情報理工学系研究科<br>知能機械情報学専攻<br>修士 2 年 | The 30th IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS 2017)<br>第 30 回 MEMS 国際会議 | アメリカ<br>ラスベガス | 平成 29 年<br>1 月 |
| 佐藤　龍 | 慶応義塾大学<br>理工学研究科<br>総合デザイン工学専攻 | The 30th IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS 2017)<br>第 30 回 MEMS 国際会議 | アメリカ<br>ラスベガス | 平成 29 年<br>1 月 |
| 海保　実則 | 東京大学<br>生産技術研究所<br>竹内昌治研究室 | The 30th IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS 2017)<br>第 30 回 MEMS 国際会議 | アメリカ<br>ラスベガス | 平成 29 年<br>1 月 |
| 松本 昌泰 | 岩手医科大学大学院<br>医学研究科<br>外科系専攻（脳神経外科学） | 28th Symposium on Cerebral Blood Flow Metabolism and Function (Berlin Brain 2017)<br>第 28 回国際脳循環代謝学会学術大会 | ドイツ<br>ベルリン | 平成 29 年<br>3 月 |
| 及川 公樹 | 岩手医科大学大学院<br>医学研究科<br>脳神経外科学講座 | 28th Symposium on Cerebral Blood Flow Metabolism and Function<br>第 28 回国際脳循環代謝学会 | ドイツ<br>ベルリン | 平成 29 年<br>3 月 |
| 永井 智大 | 公立はこだて未来大学<br>システム情報科学部<br>情報アーキテクチャ学科 | Computer Assisted Radiology and Surgery 2017<br>カーズ 2017 | スペイン<br>バルセロナ | 平成 29 年<br>6 月 |
| 南波 孝昌 | 岩手医科大学<br>医学部<br>脳神経外科学講座<br>助教 | 25th Annual Meeting of International Society for Magnetic Resonance in Medicine<br>第 25 回国際磁気共鳴医学会学術大会 | アメリカ<br>ホノルル | 平成 29 年<br>4 月 |
| 岡本 浩明 | 山口大学大学院<br>創成科学研究科<br>工学系学域<br>准教授 | 14th European Conference on Liquid Crystals<br>第 14 回　液晶に関する欧州会議 | ロシア<br>モスクワ | 平成 29 年<br>6 月 |

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 会議名 | 開催地 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 野村 秀成 | 大阪大学<br>工学研究科<br>環境・エネルギー工学専攻<br>博士前期課程 1 年 | 65th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics<br>アメリカ質量分析会議 | アメリカ<br>インディアナポリス | 平成 29 年<br>6 月 |
| 木村 公一 | 大阪大学大学院<br>工学研究科<br>環境・エネルギー工学専攻 | 65th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics<br>アメリカ質量分析会議 | アメリカ<br>インディアナポリス | 平成 29 年<br>6 月 |
| 鶴本 侑万 | 大阪大学大学院<br>工学研究科<br>環境エネルギー工学専攻 | 65th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics<br>アメリカ質量分析会議 | アメリカ<br>インディアナポリス | 平成 29 年<br>6 月 |
| 芹田 和則 | 大阪大学<br>レーザーエネルギー学研究センター<br>テラヘルツフォトニクス研究部門<br>特任研究員 | Conference on Lasers and Electro-Optics 2017 (CLEO2017) ; THz Mansion Meeting<br>クレオ 2017 ; テラヘルツマンションミーティング | アメリカ<br>サンノゼ<br>ニューポート | 平成 29 年<br>5 月 |

**平成 29 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 |
|---|---|---|---|---|
| 安 琪 | 東京大学<br>工学系研究科<br>精密工学専攻<br>助教 | 米国電気電子学会第 15 回リハビリテーションロボティクス国際会議<br>15th IEEE International Conference on Rehabilitation Robotics (ICORR 2017) | イギリス<br>ロンドン | 平成 29 年<br>7 月 |
| 北田　敦 | 京都大学<br>工学研究科<br>材料工学専攻<br>助教 | 電気化学 2017<br>Electrochemistry 2017 | ドイツ<br>ベルリン | 平成 29 年<br>7 月 |
| 金 英寛 | 東京大学大学院<br>博士課程医学系研究科<br>外科学専攻整形外科学 | 第 5 回スイス－日本・バイオメカニクス・ワークショップ<br>5th Switzerland-Japan Workshop on Biomechanics SJB2017 | スイス<br>ツェルマット | 平成 29 年<br>9 月 |
| 熊本 康昭 | 京都府立医科大学<br>大学院医学研究科<br>細胞分子機能病理学<br>助教 | 国際光工学会オプティクス＋フォトニクス<br>SPIE Optics + Photonics | アメリカ<br>サンディエゴ | 平成 29 年<br>8 月 |

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 会議名 | 開催地 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 香川 璃奈 | 東京大学大学院<br>医学系研究科<br>社会医学専攻 | 第 16 回国際医療情報学会<br>The 16th World Congress on Medical and Health Informatics | 中国<br>杭州 | 平成 29 年<br>8 月 |
| 西村 啓吾 | 東京大学大学院<br>生産技術研究所<br>竹内昌治研究室 | 化学と生命科学のための微小システムに関する国際会議<br>The 21st International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2017) | アメリカ<br>サバンナ | 平成 29 年<br>10 月 |
| 井上 渚紗 | 慶應義塾大学<br>理工学研究科総合デザイン工学専攻<br>尾上研究室 | 第 21 回 MicroTAS 国際会議<br>The 21st International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Science | アメリカ<br>サバンナ | 平成 29 年<br>10 月 |
| 中川　直 | 理化学研究所<br>脳科学総合研究センター<br>　局所神経回路研究チーム | 北米神経科学学会 2017<br>Neuroscience 2017 | アメリカ<br>ワシントン | 平成 29 年<br>11 月 |
| 梨本 裕司 | 京都大学<br>工学研究科<br>マイクロエンジニアリング専攻<br>特定助教 | バイオメディカルエンジニアリング学会２０１７<br>Biomedical Engineering Society (BMES) 2017 | アメリカ<br>フェニックス | 平成 29 年<br>10 月 |
| 田中 陽 | 理化学研究所<br>生命システム研究センター<br>集積バイオデバイス研究ユニット<br>ユニットリーダー | 化学と生命科学のための微小化システムに関する国際会議<br>The 21st International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2017) | アメリカ<br>サバンナ | 平成 29 年<br>10 月 |
| 磯村 拓哉 | 理化学研究所<br>脳科学総合研究センター<br>神経適応理論研究チーム | 北米神経科学学会年会<br>Neuroscience 2017 | アメリカ<br>ワシントン | 平成 29 年<br>11 月 |

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 会議名 | 開催地 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 秋山 佳丈 | 国立大学法人 信州大学<br>繊維学部<br>機械・ロボット学科<br>准教授 | 第 21 回化学とライフサイエンスのための微小システムに関する国際会議<br>The 21st International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2017) | アメリカ<br>サバンナ | 平成 29 年<br>10 月 |
| Liyanaarachchi Madhushanka Rukshani | 東京大学大学院<br>工学系研究科<br>バイオエンジニアリング専攻<br>医用精密工学研究室 | 2017 年 IEEE 核科学シンポジウムおよび医用画像会議（NSS / MIC）<br>2017 IEEE Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference (NSS/MIC) | アメリカ<br>アトランタ | 平成 29 年<br>10 月 |
| 大平 雅子 | 滋賀大学<br>教育学部<br>保健体育講座<br>准教授 | 世界睡眠会議 2017<br>World Sleep 2017 | チェコ共和国<br>プラハ | 平成 29 年<br>10 月 |
| 伊沢 友佑 | 慶應義塾大学<br>理工学研究科<br>総合デザイン工学専攻 | 第 31 回 MEMS 国際会議<br>The 31st IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS 2018) | イギリス<br>ベルファスト | 平成 30 年<br>1 月 |
| 大田 能士 | 慶應義塾大学<br>理工学研究科<br>総合デザイン工学専攻<br>マルチディシプリナリ科学専修機械系 | 第 31 回 MEMS 国際会議 2018<br>The 31st IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems" | イギリス<br>ベルファスト | 平成 30 年<br>1 月 |
| 黄山 澄昊 | 東京大学大学院<br>情報理工系研究科<br>知能機械情報学専攻 下山・高畑研究室 | 第 31 回微小機械電機システムの国際会議<br>The 31th IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS2018) | イギリス<br>ベルファスト | 平成 30 年<br>1 月 |
| 谷井 嶺太 | 東京大学大学院<br>情報理工学系研究科<br>知能機械情報学専攻 | 第 31 回微小機械電機システムの国際会議<br>The 31st IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems | イギリス<br>ベルファスト | 平成 30 年<br>1 月 |

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 会議名 | 開催地 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 池田 裕真 | 慶應義塾大学<br>大学院<br>理工学研究科<br>総合デザイン工学専攻 | 第 20 回生物発光化学発光国際シンポジウム（生物・化学発光技術開発に関する国際会議）<br>20th International Symposium on Bioluminescence & Chemiluminescence | フランス<br>ナント | 平成 30 年<br>5 月 |
| 野村 順一 | 岩手医科大学<br>医学部<br>脳神経外科 | 国際磁気共鳴医学会<br>Joint Annual Meeting ISMRM-ESMRMB 2018 | フランス<br>パリ | 平成 30 年<br>6 月 |
| 太田 亘俊 | 理化学研究所<br>生命システム研究センター<br>集積バイオデバイス研究ユニット | 第３３回国際サイトメトリー振興学会<br>33rd Congress of the International Society for Advancement of Cytometry (CYTO 2018) | チェコ共和国<br>プラハ | 平成 30 年<br>4 月 |
| 前田 祐佳 | 筑波大学<br>システム情報系<br>知能機能工学域<br>助教 | 2018 World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering IUPESM 2018 | チェコ共和国<br>プラハ | 平成 30 年<br>6 月 |
| 澁谷 孝行 | 金沢大学<br>医薬保健研究域保健学系<br>量子医薬技術学講座<br>助教 | 第 12 回世界核医学会国際会議<br>12Th WORLD CONGRESS OF THE WORLD FEDERATION OF NUCLEAR MEDICINE AND BIOLOGY (WFNMB) | オーストラリア<br>メルボルン | 平成 30 年<br>4 月 |
| 細井 千尋 | 東京農工大学<br>大学院　工学府<br>生命工学専攻 | バイオセンサーズ 2018<br>Biosensors 2018 | アメリカ<br>マイアミ | 平成 30 年<br>6 月 |
| 藤淵 俊王 | 九州大学<br>大学院医学研究院<br>保健学部門<br>准教授 | 第 5 回アジアオセアニア放射線防護会議<br>5th Asian and Oceanic IRPA Regional Congress on Radiation Protection | オーストラリア<br>メルボルン | 平成 30 年<br>5 月 |
| 畑田 実香 | 東京農工大学<br>大学院　工学府<br>生命工学専攻 | バイオセンサーズ 2018<br>Biosensors 2018 | アメリカ<br>マイアミ | 平成 30 年<br>6 月 |
| 畔堂 一樹 | 有限会社セレンディップ研究所<br>大阪大学大学院　工学研究科<br>応用物理学専攻 | スプリングサイエックス 2017<br>Spring SciX 2018 | イギリス<br>スコットランド<br>グラスゴー | 平成 30 年<br>4 月 |

## ２．招聘

### 昭和 60 年度技術交流（招聘）助成対象

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

### 平成 12 年度技術交流（招聘）助成対象

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

### 平成 13 年度技術交流（招聘）助成対象

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

### 平成 14 年度技術交流（招聘）助成対象

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

### 平成 16 年度技術交流（招聘）助成対象

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 被招聘者 | 会議名 | 開催地 | 時期 |
|---|---|---|---|---|---|
| 山越　憲一 | 金沢大学大学院自然科学研究科教授 | Niilo Saranummi 教授（ﾌｨﾝﾗﾝﾄﾞ）、Haldun Karagoz 博士(ﾄﾙｺ) | 第 43 回日本エム・イー学会 | 金沢 | 平成 16 年 5 月 |

**平成 18 年度技術交流（招聘）助成対象**

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 被招聘者 | 会議名 | 開催地 | 時期 |
|---|---|---|---|---|---|
| 熊谷 俊一 | 神戸大学大学院医学系研究科生体情報医学講座臨床病態免疫学分野教授 | Dr.Hardjoeno(Indonesia)他、Indonesia4 名、Korea2 名、Mongolia5 名、Taiwan3 名 | 第 9 回<br>アジア臨床病理学会 | 神戸 | 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 | 早稲田大学理工学術院先端システム医生物工学研究室教授 | Willem Fibbe 欧州血液連合会長(ｵﾗﾝﾀﾞ)他、ﾄﾞｲﾂ 1 名、ｼﾝｶﾞﾎﾟｰﾙ 1 名、ﾀｲ 1 名、韓国 2 名 | 第 5 回<br>アジア血液学連合総会 | 神戸 | 平成 21 年 2 月 |

**平成 21 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 |
|---|---|---|---|---|---|
| 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.<br>R&D Manager,<br>Smartex | 第 48 回<br>日本生体医工学会 | 東京 | 平成 21 年 4 月 |
| 倉智　嘉久 | 大阪大学大学院医学系研究科<br>分子・細胞薬理学講座　教授 | Denis Noble PhD | 第 36 回<br>国際生理学会世界大会 | 京都 | 平成 21 年 7 月～8 月 |

**平成 22 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 |
|---|---|---|---|---|---|
| 土肥 健純 | 東京大学大学院情報理工学系研究科<br>教授 | Niilo Saranummi Ph.D<br>Oivind Lorentsen M.Sc<br>Robert M.Nerem Ph.D | 第 50 回日本生体医工学会大会 | 東京 | 平成 23 年 4 月～5 月 |

**平成 24 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 |
|---|---|---|---|---|---|
| 高橋 伯夫 | 関西医科大学<br>臨床検査医学講座<br>教授 | [ﾏﾚｰｼｱ]<br>Aziz Baba<br>[ｼﾝｶﾞﾎﾟｰﾙ]<br>Tien Sim Leng<br>[台湾]<br>唐　季祿 | 第 12 回ｱｼﾞｱ臨床病理･臨床検査学会 | 京都 | 平成 24 年 11 月～12 月 |

**平成 25 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 |
|---|---|---|---|---|---|
| 尾崎 由基男 | 山梨大学医学部<br>臨床検査医学講座<br>教授 | [ﾈﾊﾟｰﾙ]<br>Nirmal Baral<br>[中国]<br>Wei Cui | 第 9 回チェリーブロッサムシンポジウム 2014 | 横浜 | 平成 26 年 4 月 |

## 平成 26 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 |
|---|---|---|---|---|---|
| 岩田　彰 | 名古屋工業大学大学院工学研究科<br>教授 | [韓国]<br>Minho Lee<br>Jong Hyo Kim<br>[中国]<br>David Zhang | 第 54 回日本生体医工学会大会 | 名古屋 | 平成 27 年 5 月 |

## 平成 27 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 |
|---|---|---|---|---|---|
| 木竜　徹 | 新潟大学大学院<br>自然科学研究科<br>教授 | Roberto Merletti<br>トリノ工科大学電子工学科　教授 | ①　第 16 回日本電気生理運動学会大会<br>②　生体計測の標準化 | 名古屋<br>東京 | 平成 27 年 7 月 |
| 高田　則雄 | 慶應義塾大学医学部<br>精神・神経科学教室<br>特任講師 | Lee, Jin Hyung<br>スタンフォード大学医学部助教授 | 第 38 回日本神経科学大会 | 神戸 | 平成 27 年 7 月 |
| 望月　精一 | 川崎医療福祉大学<br>医療技術学部<br>臨床工学科学科長<br>教授 | Ms. Maria Siebes<br>Associate Professor,<br>University Amsterdam | 第 10 回国際微小循環学会 | 京都 | 平成 27 年 9 月 |
| 上原　弦 | 金沢工業大学<br>先端電子技術応用研究所所長<br>教授 | ①Prof. Ovid Tzeng,<br>Academia Sinica and National Yang Ming University | 台湾中央研究所・台湾中央大学・金沢工業大学　合同脳磁計応用研究会 | 金沢工業大学 | 平成 27 年 10 月 |
| 同上 | 同上 | ②Dr. Denise Hsien Wu,<br>National Central University, Taiwan | 同上 | 同上 | 平成 27 年 10 月 |
| 木村　和子 | 金沢大学<br>医薬保健研究域<br>薬学系　教授 | ①Mom Bun Heng,<br>Minister, Ministry of Health, Royal Government of Cambodia | 第 30 回日本国際保健医療学会学術大会 | 金沢大学 | 平成 27 年 11 月 |
| 同上 | 同上 | ②Patrick Lukulay,<br>Vice President,<br>Global Health Impact Programs (GHIP) | 同上 | 同上 | 平成 27 年 11 月 |
| 安藤　正海 | 東京理科大学<br>総合研究院<br>教授 | ①黎剛(LI Gang)<br>中国科学院高能物理研究所・放射光施設　副教授 | 第 10 回アジア放射光生物学・医学画像<br>研究会 | 山形 | 平成 28 年 2 月 |
| 同上 | 同上 | ②金鐘基(KIM Jong-Ki)<br>大邱カソリック大學校<br>医学部医学科教授 | 同上 | 同上 | 平成 28 年 2 月 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 同上 | 同上 | ③銭相勲(JHEON Sanghoon)<br>ソウル国立大学医学部<br>主任教授 | 同上 | 同上 | 平成 28 年 2 月 |
| 村上　旬平 | 大阪大学歯学部<br>付属病院<br>障害者歯科治療部<br>助教 | 第 1 回トゥレット症候群<br>治療推進学会<br>学術総会 | Dr. Anthony B. Sims<br>Maryland Center for Craniofacial TMJ and Dental Sleep Disorders | 大阪大学 | 平成 28 年 5 月 |

**平成 28 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 |
|---|---|---|---|---|---|
| 山本　義春 | 東京大学大学院<br>教育学研究科<br>総合教育科学専攻<br>教授 | Thomas Penzel<br>Charité Universitätsmedizin Berlin<br>教授 | 8th International Workshop on Biosignal Interpretation (BSI2016) | 大阪市（大阪国際交流センター） | 平成 28 年 11 月 |
| 同上 | 同上 | Patrice Abry<br>Ecole Normale Supérieure de Lyon<br>教授 | 同上 | 同上 | 同上 |
| 同上 | 同上 | Fabio Babiloni<br>University of Rome Sapienza<br>教授 | 同上 | 同上 | 同上 |
| 相澤　健一 | 自治医科大学<br>医学部　薬理学講座<br>臨床薬理学部門<br>准教授 | 鈴木亨<br>レスター大学医学部<br>循環器内科<br>教授 | 2016 年度 AMED 成果報告会「疾患克服への挑戦　ライフサイエンスの現状と未来への展望」他 | 東京都（よみうり大手町ホール） | 平成 29 年 2 月 |
| 狩野　方伸 | 東京大学大学院<br>医学研究科<br>神経生理学分野<br>教授 | Mark Hubener<br>Max Planck Institute of Neurobiology | 第 40 回日本神経科学大会 | 千葉（幕張メッセ） | 平成 29 年 7 月 |
| 同上 | 同上 | Zhigang He<br>Harvard Medical School | 同上 | 同上 | 同上 |
| 藤田　克昌 | 大阪大学大学院<br>工学研究科<br>精密科学・応用物理学専攻<br>准教授 | Karen Faulds<br>The University of Strathclyde Glasgow | 日本分光学会<br>年次講演会・国際シンポジウム 2017 | 東京都<br>早稲田大学 | 平成 29 年 5 月 |
| 同上 | 同上 | Duncan Graham<br>The University of Strathclyde Glasgow | 同上 | 同上 | 同上 |
| 同上 | 同上 | Wei Min<br>Columbia University | 同上 | 同上 | 同上 |

平成 29 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 |
|---|---|---|---|---|---|
| 林 拓也 | 理化学研究所<br>ライフサイエンス技術基盤研究センター<br>機能構築イメージングチーム | Matthew F Glasser | ABiS international symposium “MRI and cohort studies: Development of Imaging Science in Human Biology | 東京 | 平成 29 年 9 月 |
| 井上 康志 | 大阪大学<br>大学院生命機能研究科<br>生命機能専攻<br>教授 | Prof. Colin J.R. Sheppard | International Nanophotonics Symposium (INP-2017) | 静岡県伊東 | 平成 29 年 8 月 |
| 同上 | 同上 | Prof. Min Gu | 同上 | 同上 | 同上 |
| 小林 直樹 | 埼玉医科大学<br>保健医療学部<br>医用生体工学科<br>教授 | Prof. Richard H.Y. SO | OS: Image safety and ubiquitous interface based on integrated sensory perception | 名古屋 | 平成 29 年 10 月 |
| 金丸 和典 | 東京大学大学院<br>医学系研究科<br>細胞分子薬理学<br>助教 | Robert E. Campbell | 第 20 回カルシウム結合蛋白質とカルシウム機構の生理と病態に関する国際シンポジウム | 兵庫県淡路島 | 平成 29 年 10 月 |
| 安樂 真樹 | 東京大学<br>医学部附属病院<br>呼吸器外科<br>特任准教授 | Keith E cook | 日本生体医工学会 | 札幌 | 平成 30 年 6 月 |
| 佐藤　正晃 | 理化学研究所<br>脳科学総合研究センター精神生物学研究チーム | Chris Xu | 第 41 回日本神経科学大会シンポジウム「最先端光イメージングによる深部脳観察へのアプローチ」 | 神戸 | 平成 30 年 7 月 |
| 同上 | 同上 | Na Ji | 同上 | 同上 | 同上 |
| 菊池　章 | 大阪大学<br>大学院医学系研究科<br>分子病態生化学<br>教授 | Edwin Munro | 第 91 回<br>日本生化学会大会 | 京都 | 平成 30 年 9 月 |
| 諏訪部 章 | 岩手医科大学<br>医学部　臨床検査医学講座<br>教授 | Dr. Patricia M Jones | 第 11 回チェリーブロッサムシンポジウム | 盛岡 | 平成 30 年 4 月 |

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 被招聘者 | 会議名 | 開催地 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|---|
| 青木 一郎 | 名古屋大学<br>大学院理学研究科<br>ニューロサイエンス研究センター | 麻生　能功 | 第 41 回日本神経科学大会若手企画シンポジウム「シンプルな神経回路から解き明かす情報処理の基本原理～複雑な脳への応用に向けて」 | 神戸 | 平成 30 年 9 月 |
| 森松 賢順 | 岡山大学<br>大学院医歯薬学総合研究科<br>システム生理学<br>助教 | Alexander R Dunn | 第 56 回 日本生物物理学会年会 | 岡山 | 平成 30 年 9 月 |

## ３．海外研修

**平成 26 年度技術交流（海外研修）助成対象**

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 研究内容 | 研修先 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 渡辺　梢 | 大阪大学大学院<br>工学研究科　精密科学・応用物理学専攻<br>応用物理学コース | 超解像ラマン顕微鏡の開発 | ドイツ<br>ライブニッツフォトニクステクノロジー研究所 | 平成 27 年 4 月 |
| 寺本　高啓 | 立命館大学理工学部<br>電気電子工学科<br>助教 | 2 次元振電分光法の開発 | アメリカ<br>University of California Berkeley | 平成 27 年 7 月 |
| 三輪　秀樹 | 群馬大学大学院<br>医学系研究科<br>遺伝発達行動学<br>助教 | GABA 作動性ニューロンの睡眠振動波発生との関連性 | アメリカ<br>Harvard Medical School VA Boston Healthcare System | 平成 28 年 4 月 |
| 大黒　達也 | 東京大学大学院<br>医学系研究科内科学専攻<br>臨床病態検査医学分野<br>客員研究員 | 反復経頭蓋磁気刺激法と脳機能イメージング計測技術を用いた、ヒトの感覚運動制御機能の神経生理学的評価法の開発 | イギリス<br>Experimental Psychology, University of Oxford | 平成 28 年 4 月 |
| 李　鎮熙 | 東京農工大学大学院<br>工学府　生命工学専攻 | DNA マイクロアレイ技術及び酵素融合ジンクフィンガー蛋白質を用いた、多数の標的二本鎖 DNA の同時検出 | フランス<br>Universite Lyon 1 -Claude Bernard | 平成 28 年 4 月 |

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 研究内容 | 研修先 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 磯村　拓哉 | 東京大学大学院<br>新領域創成科学研究科<br>人間環境学専攻 | 人の無意識的推論を再現する機械学習モデルの構築と精神医学への応用 | イギリス<br>Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, University College London | 平成 28 年 4 月 |

**平成 28 年度技術交流（海外研修）助成対象**

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 研究内容 | 研修先 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 宇治　彰人 | 京都大学大学院<br>医学研究科<br>感覚運動系外科学<br>眼科学<br>助教 | 高解像度3次元血流<br>イメージング法の開発 | アメリカ<br>Doheny Eye Institute University of California Los Angeles<br>カリフォルニア大学<br>ドヘニー眼研究所 | 平成 28 年 4 月 |
| 榎本　詢子 | 横浜国立大学大学院<br>工学府<br>福田研究室<br>大学院生 | 細胞培養マイクロデバイスに非侵襲的な光酵素センサを組み込み、連続的に細胞呼吸活性をon chipモニタリングする。さらに、マイクロ流路内での流体シミュレーションを取り入れ、細胞評価において重要となる均一な細胞導入を実現できるマイクロデバイスを設計する。 | イタリア<br>Laboratory of Biological Structure Mechanics, Department of Structural Engineering, Politecnico di Milano, Milan, Italy<br>ミラノ工科大学<br>電子・情報・生物工学部 | 平成 28 年 6 月 |
| 牧功　一郎 | 京都大学<br>再生医科学研究所<br>バイオメカニクス研究室<br>博士後期課程 3 回生 | マイクロ力学計測によるプライマリーシリアの流れ刺激感知メカニズムの解明 | アメリカ<br>Department of Biomedical Engineering, Columbia University<br>コロンビア大学<br>生体医工学科 | 平成 28 年 8 月 |
| 釘宮　章光 | 広島市立大学<br>情報科学研究科<br>医用情報科学専攻<br>准教授 | アミノ酸の新規計測法の開発 | アメリカ<br>Department of Electrical & Computer Engineering, The University of Florida<br>フロリダ大学<br>電子・コンピューター学科 | 平成 28 年 6 月 |

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 研究内容 | 研修先 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 齊藤　亮平 | 電気通信大学大学院<br>情報理工学研究科<br>基盤理工学専攻<br>牧研究室<br>博士後期課程 1 年 | 生体内標識材料の開発 | アメリカ<br>University of California Berkeley<br>カリフォルニア州立大学<br>バークレー校 | 平成 28 年 10 月 |
| 奥知　左智 | 京都大学<br>医学部附属病院<br>放射線診断科<br>医員 | GlucoCEST 法による脳腫瘍、脳変性疾患の診断・治療に資する画像指標の研究 | イギリス<br>University College London<br>ユニヴァーシティ・カレッジ・ロンドン | 平成 29 年 1 月 |
| 杉本　至健 | 山口大学<br>医学系研究科<br>脳神経外科<br>助教 | 広汎性脱分極（CSD） 発生時の DC 脳波の記録手法および Laser speckle flowmetry を用いた脳表の血流計測の手法の研修 | アメリカ<br>Department of Neurology and Radiology Neurovascular Research Laboratory<br>ハーバード大学、マサチューセッツ総合病院 | 平成 29 年 4 月 |

**平成 29 年度技術交流（海外研修）助成対象**

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 研究内容 | 研修先 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 奥村　晋也 | 京都大学<br>医学研究科<br>肝胆膵・移植外科 | 腹腔鏡下肝切除手術におけるシミュレーション技術の開発と有用性の検討 | ピエール・マリーキュリー大学（パリ第 6 大学），ピティエ・サルペトリエール病院 | 平成 29 年 8 月 |
| 庄司　観 | 東京農工大学<br>大学院工学研究院<br>生命工学専攻 | Bio-SICM 技術を応用した単一細胞分析マイクロ流路デバイスに関する研究 | シンシナティ大学 | 平成 29 年 12 月 |
| 藪中　俊介 | 京都大学<br>工学部<br>福井謙一記念研究センター | in vitro の細胞組織を記述する連続体モデリング－背側閉鎖(dorsal closure)を例にして | キュリー研究所 | 平成 30 年 1 月 |
| 吉田　篤司 | 理化学研究所<br>ライフサイエンス技術基盤研究センター<br>機能構築イメージングチーム | 精神疾患 MRI 画像診断法の確立に向けた覚醒マカクサル実験用の MRI 受信コイルの開発 | ルーヴェン大学 | 平成 30 年 2 月 |
| 横山　ちひろ | 理化学研究所<br>ライフサイエンス技術基盤研究センター<br>機能構築イメージングチーム | 社会行動の多様性の進化を支える脳機能 | エジンバラ大学<br>心理学教室 | 平成 30 年 4 月 |

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 研究内容 | 研修先 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 陳 碩 | 理化学研究所<br>脳科学総合研究センター<br>神経回路・行動生理学研究チーム | 複数脳領域における大規模 2 光子解析法の開発 | ハワード・ヒューズ医学研究所　ジャネリア・ファーム研究キャンパス | 平成 30 年 4 月 |
| 石川 雅浩 | 埼玉医科大学<br>保健医療学部<br>医用生体工学科 | ハイパースペクトル HE 染色病理画像からのデジタル EVG 染色の実現 | イリノイ工科大学 | 平成 30 年 4 月 |

## 4．海外留学

### 平成 26 年度技術交流（海外留学）助成対象

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 研究テーマ | 留学先機関名 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 永井　萌土 | 豊橋技術科学大学大学院<br>工学研究科　機械工学系<br>助教 | 超高速単一細胞機能解析のためのオプトフルイディックシステムの開発 | アメリカ<br>カリフォルニア大学<br>ロサンゼルス校 | 平成 27 年 9 月 |
| 森澤　大祐 | 兵庫医科大学医学部<br>内科学(冠疾患科)<br>助教 | 超音波およびシミュレーターを用いた粒子イメージング速度測定法による右心室内血液の渦流形成の流体力学的解析 | アメリカ<br>カリフォルニア大学<br>アーバイン校<br>工学部 | 平成 27 年 9 月 |
| 中川　大地 | 東京大学大学院<br>医学系研究科<br>脳神経外科学 | ・生体内の動脈瘤内塞栓後のコイルの正確な計測技術の確立<br>・コンピュータグラフィックスを用いた高精細なコイルの 3 次元モデルの作成他 | アメリカ<br>アイオワ大学<br>脳神経外科 | 平成 28 年 8 月 |

### 平成 28 年度技術交流（海外留学）助成対象

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 研究テーマ | 留学先機関名 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 飛田哲朗 | 名古屋大学<br>医学系研究科整形外科<br>医員 | 加齢性筋量減少症(サルコペニア)診断の為の超音波法を用いた簡便かつ無侵襲の筋量測定法の開発 | アメリカ<br>San Diego Spine Foundation<br>サンディエゴ脊椎疾患財団 | 平成 29 年 4 月 |
| 堀松徹雄 | 兵庫医科大学<br>循環器内科<br>助教 | 動脈硬化病変における血流変化と血管周囲脂肪組織の関連の解析 | アメリカ<br>Medical College of Georgea at Augusta University<br>ジョージア医科大学<br>(オーガスタ大学) | 平成 28 年 9 月 |

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 研究テーマ | 留学先機関名 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 田崎雅義 | 熊本大学大学院<br>生命科学研究部<br>保健学系構造機能解析学分野<br>助教 | 質量分析によるアミロイドーシスの新規診断技術の開発および新たなアミロイド原因蛋白質の同定 | イタリア<br>University of Pavia<br>パヴィア大学 | 平成 29 年 3 月 |
| 大浅 翔 | 北海道大学大学院<br>先端生命科学研究院<br>細胞機能科学研究室<br>博士研究員 | 多点蛍光相関分光法を用いた細胞膜上 GPCR の空間依存的な動態と機能の定量解析 | スウェーデン<br>Karolinska Institutet<br>カロリンスカ研究所 | 平成 29 年 7 月 |
| 望月研太郎 | 東北大学<br>加齢医学研究所<br>医用細胞資源センター<br>助教 | ヒストン修飾クロストークを介した、生殖細胞運命を規定するエピゲノム動態の解明 | カナダ<br>The University of British Columbia<br>ブリティッシュコロンビア大学 | 平成 30 年 3 月 |
| 上村 圭亮 | 大阪大学大学院<br>医学系研究科<br>運動器医工学治療学<br>大学院生 | Dual fluoroscopy を用いた Femoroacetabular impingement の解析 | アメリカ<br>University of Utah<br>Department of Orthopaedics<br>ユタ大学整形外科 | 平成 29 年 4 月 |
| 長嶋雅子 | 自治医科大学<br>医学部　小児科<br>助教 | 機能的近赤外分光分析法を用いた小児注意欠如多動症の新規治療法の確立 | ドイツ<br>Department of Psychiatry and Psychotherapy Psychophysiology and Optical Imaging<br>チュービンゲン大学<br>精神科　心理生理学・光学イメージング部門 | 平成 29 年 5 月 |

**平成 29 年度技術交流（海外留学）助成対象**

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 研究テーマ | 留学先機関名 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 小林 正和 | 金沢大学<br>医薬保健研究域附属　健康増進科学センター<br>助教 | 個別化内用放射線治療を可能とするがん治療シミュレーション予測法とがん治療効果増強法の開発 | 米国国立衛生研究所 | 平成 30 年 1 月 |
| 後藤 昌希 | 福岡大学<br>医学部<br>心臓血管内科学 | ①モノアシルグリセロールリパーゼ活性の測定による簡易的 HDL 機能評価技術の開発 ②超音波/ナノバブルと ApoA-I 模倣ペプチドによる新規動脈硬化治療への簡易的 HDL 機能評価技術の応用 | カリフォルニア大学<br>アーバイン校 | 平成 29 年 10 月 |

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 研究テーマ | 留学先機関名 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 曽山 裕子 | 兵庫医科大学<br>医学部　内科学<br>循環器内科<br>助教 | Fusion Imaging を臨床応用するためのソフトウエア開発 | ワシントン大学 | 平成 29 年<br>9 月 |
| 山下 力也 | 京都大学大学院<br>医学研究科<br>放射線医学講座 | 機械学習を用いた"Radiomics"によるマルチオミクス解析：がん個別化・予測医療の実現にむけて | ニューヨーク<br>メモリアルスローンケタリングがんセンター | 平成 29 年<br>7 月 |
| 重光　幸栄 | 順天堂大学<br>医学部<br>小児科 | 心エコー法による、小児がん化学療法後心機能障害の早期検出 | アルバータ大学 | 平成 30 年<br>9 月 |
| 酒巻 裕介 | 京都大学大学院<br>理学研究科<br>物理学・宇宙物理学専攻 | 疾患・発生の普遍原理解明に向けた疾患・発生関連細胞の細胞接着強度・細胞接着面の形状・細胞運動の定量解析 | ハイデルベルク大学<br>物理化学研究所 | 平成 30 年<br>10 月 |

## ５．日本留学

### 平成 26 年度技術交流（日本留学）助成対象

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 留学者名 | 国籍 | 時　期 |
|---|---|---|---|---|
| 吉田　亘 | 東京工科大学<br>応用生物学部応用生物学科　助教 | Annika Busch<br>アニカ・ブッシュ | ドイツ | 平成 26 年<br>4 月 |
| 宮地　勇人 | 東海大学医学部<br>基盤診療学系<br>教授 | Lkhaasuren Nemekhbaatar<br>ラハースレン ネメフバータル | モンゴル | 平成 26 年<br>8 月 |

### 平成 28 年度技術交流（日本留学）助成対象

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 留学者名 | 留学先 | 研究テーマ | 時　期 |
|---|---|---|---|---|---|
| 宮地勇人 | 東海大学<br>医学部<br>基盤診療学系臨床検査学<br>教授 | Bayarbat<br>Tsevegjav | 東海大学<br>医学部 | 難治性白血病細胞における抗がん剤耐性の分子機序の解明と抗がん剤耐性の評価法の開発 | 平成 28 年<br>4 月 |
| 津川若子 | 東京農工大学大学院<br>工学府<br>生命工学専攻/産業技術専攻<br>准教授 | 李　仁榮 | 東京農工大学<br>大学院<br>工学府 | 人工膵臓への応用に向けた自律型グルコース連続計測システムの開発 | 平成 29 年<br>4 月 |

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 留学者名 | 留学先 | 研究テーマ | 時　期 |
|---|---|---|---|---|---|
| 徐 岩 | 宮崎大学医学部<br>機能制御学講座物質科学分野<br>教授 | 鮑　宏亮 | 宮崎大学大学院<br>医学獣医学総合研究科 | 19F-NMR による<br>ヒトテロメア RNA<br>細胞内構造の解明 | 平成 29 年<br>4 月 |

**平成 29 年度技術交流（日本留学）助成対象**

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 留学者名 | 留学先 | 研究テーマ | 時　期 |
|---|---|---|---|---|---|
| 宮地 勇人 | 東海大学<br>医学部　基盤診療学系臨床検査学<br>教授 | Natsagdorj<br>Munkh-Erdene | 東海大学<br>医学部 | 白血病細胞における骨髄ニッシェ・クロストークによる抗がん剤耐性機序解明とそれに基づく治療反応性の評価法の開発 | 平成 30 年<br>4 月 |
| 森 武俊 | 東京大学<br>大学院医学系研究科<br>ライフサポート技術開発学（モルテン）寄付講座<br>特任教授 | Kang SooIn | 東京大学<br>医学部 | 足の圧力センサとジャイロスコープを利用しモーション予測することで関節炎患者の下半身の動きを補助するロボット | 平成 30 年<br>4 月 |

## ６．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<br>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<br>教授 | 第６回ＭＥフォーラム | 東京 | 平成 14 年１月 |
| 軽部　征夫 | 東京大学先端科学技術研究センター　教授 | バイオエレクトロニクス及びバイオテクノロジーに関する国際会議 | 東京 | ３月 |

### 平成 14 年度技術交流（会議等）助成対象

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 会議名 | 開催地 | 時期 |
|---|---|---|---|---|
| 土肥　健純 | 東京大学大学院情報理工学系研究科　教授 | 第５回医用画像工学及びコンピュータ外科国際会議 | 東京 | 平成 14 年９月 |
| 前川　真人 | 浜松医科大学医学部<br>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<br>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<br>教授 | 第 6 回日本－ポーランド医用生体工学シンポジウム | 京都 | 平成 15 年 10 月 |
| 梶谷　文彦 | 岡山大学大学院医歯学総合研究科システム循環生理学<br>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<br>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<br>臨床検査医学　教授 | 第 57 回日本電気泳動学会 | 静岡県<br>浜松市 | 平成 18 年<br>10 月 |

**平成 19 年度技術交流（会議等）助成対象**

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 会議名 | 開催地 | 時期 |
|---|---|---|---|---|
| 日野田　裕治 | 山口大学大学院医学系研究科<br>臨床検査医学分野　教授 | 第 58 回日本電気泳動学会 | 山口県<br>宇部市 | 平成 19 年<br>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<br>臨床検査医学　教授 | 第 48 回日本臨床検査化学会年次学術集会 | 静岡県<br>浜松市 | 平成 20 年<br>8 月 |

# 調査研究に対する助成状況

## 昭和６１年度調査研究助成対象

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

## 平成２年度調査研究助成対象

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

## 平成１４年度調査研究助成対象

| 氏　名 | 所属機関・職名 | 研究題目 | 研究期間 |
|---|---|---|---|
| 松浦　成昭 | 大阪大学大学院　医学系研究科保健学専攻機能診断科学講座　教授 | 再生医療分野における電子計測技術の利用に関する調査研究 | 平成 14～15 年度 |

## 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 20～23 年度 |

## 平成２６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 |
|---|---|---|---|
| 八木　直美 | 京都大学大学院医学研究科神経内科　特定研究員 | 非拘束生体データ計測における嚥下障害の調査研究 | 平成 27～28 年度 |

## 平成２７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 |
|---|---|---|---|
| 陳　文西 | 会津大学生体情報学講座教授 | 無意識生体信号計測に関する調査研究 | 平成 28～29 年度 |
| 和田　英夫 | 三重大学大学院医学系研究科生命医科学専攻　准教授 | 止血系マーカーによる過凝固（前血栓）状態の検討 | 平成 28 年度 |
| 相澤　健一 | 自治医科大学医学部准教授 | 冠動脈狭窄症の低侵襲診断法の開発と臨床応用に関する調査研究 | 平成 28 年度 |

## 平成２８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 |
|---|---|---|---|
| 梅澤　和夫 | 東海大学医学部外科学系救命救急医学　講師 | 皮膚揮発性物質分析による農薬中毒の診断法の実用化に向けた検証 | 平成 29～30 年度 |
| 小林　康毅 | 東京大学大学院医学系研究科公衆衛生学分野　教授 | 非侵襲的動脈硬化指標 AVI と認知機能の関連についての研究 | 平成 29～30 年度 |

平成２９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 |
|---|---|---|---|
| 多田 昌史 | 京都大学大学院<br>医学研究科　博士課程後期 | 救急外来におけるトロポニンを用いた最適な心筋梗塞の診断戦略の検討 | 平成 30～31 年度 |
| 一瀬 邦弘 | 長崎大学大学院<br>医歯薬学総合研究科　講師 | ポリソムノグラフィーを用いたリウマチ性疾患患者の疼痛と睡眠障害の検討 | 平成 30～31 年度 |

# 科学教育振興に対する助成状況（小中高）

## 平成２６年度科学教育振興助成対象

個別助成

| 学校名 | 都道府県 | 実務担当者（職名） | テーマ |
|---|---|---|---|
| 北海道湧別高等学校 | 北海道 | 上田浩人（教諭） | 高等学校において「知識暗記型の理科」ではなく「実感重視型の理科」を実践する。 |
| 青森県立八戸東高等学校 | 青森 | 辻恒治（教諭） | 視聴覚障害を持つ人のための匂いによる誘導・判断装置の開発　～香りをどのように届けるか～ |
| 青森県藤崎町立明徳中学校 | 青森 | 神田昌彦（教頭） | 実験を通じて環境の価値に気づかせ自然再生活動の意義を理解させる活動 |
| 青森県立弘前南高等学校 | 青森 | 高木和彦（教諭） | 「弘前南サイエンスセミナー」（南陵サイエンスセミナーII）～弘前大学理工学部／農学生命科学部での実験・実習～ |
| 岩手県立伊保内高等学校 | 岩手 | 村上弘（副校長） | 科学フェス 2014 |
| 岩手県立福岡高等学校 | 岩手 | 戸田公夫（教諭） | 興味関心を引き出す授業実践のためのブレッドボード活用 |
| 岩手県立水沢高等学校 | 岩手 | 城守寛（教諭） | 稀少植物ハヤチネウスユキソウの大量増殖に関する研究 |
| 岩手県立大船渡高等学校 | 岩手 | 山本芳裕（教諭） | アナレンマを撮影する　～日常に密着した地学教育を求めて～ |
| 宮城県築館高等学校 | 宮城 | 米本慶央（教諭） | 環境放射線について学ぶ |
| 宮城県築館高等学校 | 宮城 | 米本慶央（教諭） | 超伝導物質の作成 |
| 宮城県柴田農林高等学校川崎校 | 宮城 | 東舘拓也（教諭） | 宮城県の自然と人間生活の共存　～自然林・人工林・被災地から学ぶ～ |
| 宮城県古川黎明中学校 | 宮城 | 遠藤拓海（教諭） | 宮城県大崎市内における淡水魚の分布調査と環境保全に関わる地域教材の開発 |
| 宮城県富谷高等学校 | 宮城 | 岡崎金雄（教諭） | 気柱共鳴装置による定常波の実験　～実験により身近な物理現象の理解を深める |
| 宮城県岩沼市立岩沼西中学校 | 宮城 | 塚口誠（教諭） | 科学を楽しむ生徒の育成　～ミニ天体観察会の実施を通して～ |
| 宮城県気仙沼高等学校 | 宮城 | 三嶋廣人（教諭） | 普通教室におけるICTを利用した観察力・表現力の向上を目指す化学の授業 |

| 学校名 | 都道府県 | 実務担当者(職名) | テーマ |
|---|---|---|---|
| 秋田県立大曲農業高等学校 | 秋田 | 大沼克彦（教諭） | 酸性の田沢湖中性化方法の検討について |
| 山形県立米沢興譲館高等学校 | 山形 | 熊坂克（教諭） | 米沢の医学・工学「サイエンス・ルネサンス」～上杉鷹山公の医学館『好生堂』環境を現代の高校生に～ |
| 山形市立山寺中学校 | 山形 | 山口俊一（教諭） | 環境教育・アクモキャンドル |
| 福島県立福島高等学校 | 福島 | 遠藤直哉（教諭） | 好適環境水による魚の遺伝学的・生理学的変化を調査する |
| 福島県いわき市立小名浜第二中学校 | 福島 | 木村智子（教諭） | 特別支援学校における科学教育の充実 ～楽しく分かりやすい、感動的な理科授業を目指して～ |
| 福島県立原町高等学校 | 福島 | 沼内政典（教諭） | 緑のカーテンによる気温、紫外線、放射線量の遮蔽効果 |
| 茨城県立水戸第二高等学校 | 茨城 | 沢畠博之（教諭） | 閉鎖系ベローゾフ・ジャボチンスキー反応の長時間挙動の解明 |
| 茨城県立竹園高等学校 | 茨城 | 飯田仁（教諭） | 学校内の植物と菌類を使用した進化教材の開発 |
| 茨城県つくばみらい市立小絹中学校 | 茨城 | 田鍋文雄（教諭） | 化学変化に関する課題学習解決への ICT 機器を活用した言語活動の導入 |
| つくば竹園学園つくば市立竹園東中学校 | 茨城 | 国府田誠一（教諭） | アカマツの毎木調査 |
| つくば AZUMA 学園つくば市立吾妻中学校 | 茨城 | 栗原純一（教諭） | 地域の教育力を活かし、表現力思考力を高める科学教育 ～ICT を活用した課題解決的学びを活かして～ |
| 栃木県立鹿沼商工高等学校 | 栃木 | 稲見敬（教諭） | RaspberryPi を活用したネットワーク実習教材の製作 |
| 栃木県立小山高等学校 | 栃木 | 茂木幹雄（教諭） | 火星探査プロジェクトの立案 |
| 群馬県立太田工業高等学校 | 群馬 | 河内康昭（教諭） | クロスフリー型風力発電機の研究（低速から発電して蓄電するために） |
| 群馬県立太田工業高等学校 | 群馬 | 宮原雅和（教諭） | ロボット競技における鋼フレームの有効性に関する研究 |
| 群馬県立前橋女子高等学校 | 群馬 | 茂木孝浩（教諭） | 薄膜干渉分野における AR コーティングの教材化と普及 |
| 群馬県立藤岡工業高等学校 | 群馬 | 河井崇平（教諭） | 藤岡ロボチャレンジ 2014 |

| 学校名 | 都道府県 | 実務担当者(職名) | テーマ |
|---|---|---|---|
| 樹徳高等学校 | 群馬 | 広井勉（教諭） | 理科部における群馬の地元地域に根差した研究による科学技術関係人材の育成 |
| 長生学園茂原北陵高等学校 | 千葉 | 西川洋史（教諭） | 魚類特有の寄生虫病の治療を通じた生物分野における総合的学習 |
| 千葉市立緑が丘中学校 | 千葉 | 伊藤拓也（教諭） | 学習意義を実感させる実験と観察 |
| 千葉大学教育学部附属中学校 | 千葉 | 石飛光隆（教諭） | マルチ天体学習モデルの開発 |
| 千葉大学教育学部附属中学校 | 千葉 | 藤澤隆次（教諭） | 環境教育における意思決定能力育成プログラムの開発と実践 |
| 二松學舍大学附属高等学校 | 東京 | 外ノ岡和政（教諭） | 岩石含有鉱物の組成の違いによる波浸食耐性の差の考察 -偏光顕微鏡を用いた岩石の判別- |
| 日本橋女学館中学校・高等学校 | 東京 | 成栗里美（教諭） | 活動開始！「ロボット創造開発部」 ーロボカップジュニア・ダンスチャレンジへの道ー |
| 新潟県南魚沼市立六日町中学校 | 新潟 | 村田章知（教諭） | 生徒が目的をもって意欲的に観察・実験に取り組むための教材提示の工夫 |
| 福井県立武生東高等学校 | 福井 | 澤崎孝也（教諭） | 日野山周辺のタンポポについて ～みかけの外来種タンポポにおける雑種の割合について |
| 長野県中野西高等学校 | 長野 | 福島伸一（教諭） | 最新電子機器を使った高等学校での物理教育の可能性を探る |
| 岐阜県立加茂高等学校 | 岐阜 | 河田雅幸（教諭） | 国内のアルゼンチンアリの行動学的分類および侵入経路・スーパーコロニー分化に関する研究 |
| 静岡県立掛川西高等学校 | 静岡 | 小原快章（教諭） | 高校生が先生役となる近隣小中学校への科学教育および研究倫理教育の実施 |
| 静岡県立三島北高等学校 | 静岡 | 小林設郎（教諭） | 授業としておこなう、生命現象のインターバル撮影を活用した探究活動 |
| 静岡県立 清水西高等学校 | 静岡 | 吉川契子（教諭） | 有孔虫化石を用いた地域の古環境の推定 |
| 静岡県立静岡農業高等学校 | 静岡 | 櫻井正剛（教諭） | 廃棄松葉の利用研究 |
| 静岡県立富岳館高等学校 | 静岡 | 望月基希（教諭） | 総合学科高校生の科学的リテラシー向上を目指した農業教育プログラム |
| 愛知県立稲沢高等学校 | 愛知 | 長谷川光隆（教諭） | 稲沢市地場産野菜「明日葉」の水耕栽培管理技術の確立と明日葉加工品（洋菓子・和菓子・パン・和食・洋食・中華等）の地域普及活動 |
| 愛知県立豊田東高等学校 | 愛知 | 櫛田敏宏（教頭） | 批判的思考力を育む理科授業の構築 |

| 学校名 | 都道府県 | 実務担当者(職名) | テーマ |
|---|---|---|---|
| 岐阜県立岐阜高等学校 | 岐阜 | 矢追雄一（教諭） | 高校教育における細胞・組織中の物質の分布と局在のバイオイメージング化 |
| 三重県立桑名西高等学校 | 三重 | 川北康介（教諭） | 桑名西高等学校 新教育プロジェクト『理数系科学への新たな出会い』 |
| 三重県立伊勢工業高等学校 | 三重 | 大西浩行（教諭） | 全日本相撲ロボット全国大会上位入賞を目指して『ブラシレスモータ制御回路の製作・研究』 |
| 滋賀県立高島高等学校 | 滋賀 | 小林泰彦（教諭） | ICT 活用による双方向遠隔授業システムの構成と専門機関との連携による活用 |
| 京都府立桃山高等学校 | 京都 | 阪本和則（教諭） | 田辺五郎を特定せよ ～ゲリラ豪雨をもたらす積乱雲の研究～ 本校第 2 学年における課題研究の取組として |
| 京都府立桃山高等学校 | 京都 | 加藤正宏（教諭） | サリチル酸骨格を有する新規蛍光物質の合成とその応用 |
| 大阪府立千里高等学校 | 大阪 | 松浦紀之（教諭） | パッシブサンプラーによる大気汚染物質の測定法の教材化 |
| 大阪府東大阪市立縄手中学校 | 大阪 | 飯田広史（教諭） | 大阪からはじめる宇宙開発 ～「まいど 2 号」をめざして～ |
| 学校法人清風学園 清風高等学校・中学校 | 大阪 | 池永明史（教諭） | ニッポンバラタナゴの保護活動 |
| 追手門学院大手前中学校 | 大阪 | 福田哲也（教諭） | 最先端のロボット教育の推進と「ロボット」をテーマにした国際交流 |
| 兵庫県立西脇高等学校 | 兵庫 | 川勝和哉（教諭） | 本校が立地する兵庫県中部地域の基盤岩の形成史を明らかにする －兵庫県中部～南部に広く分布する安山岩と安山岩質凝灰岩に着目して－ |
| 兵庫県立和田山高等学校 | 兵庫 | 齋藤勝（教頭） | コウノトリと共生する地域づくりに関する研究 |
| 兵庫県立舞子高等学校 | 兵庫 | 穂積正人（教諭） | 天文学習における教材開発と天体観測を通じての地域貢献 |
| 兵庫県立兵庫高等学校 | 兵庫 | 大澤哲（教諭） | 大学と連携した自然科学探究活動 |
| 島根県立平田高等学校 | 島根 | 須谷昌之（教諭） | 淡水産黄緑藻の P seudostaurastum enorme のクローン培養 |
| 島根県大田市立大田西中学校 | 島根 | 森下博之（教諭） | 膨らまそう、アイディア！ 工夫し創造する力を伸ばす授業実践の工夫 |
| 岡山県倉敷市立北中学校 | 岡山 | 神原優一（教諭） | 回路カードで論理的思考力と創造性を育み、特別支援に配慮した理科授業 |

| 学校名 | 都道府県 | 実務担当者(職名) | テーマ |
|---|---|---|---|
| 広島県立庄原実業高等学校 | 広島 | 黒川元治（教諭） | 地域天然物の有効利用方法の探索及び機能性評価に関する研究 |
| 山口県立周防大島高等学校 | 山口 | 有馬和宏（教諭） | 地域から自然環境と人間の共存を考え、持続可能な未来を拓く「環境コース」の運営 |
| 福岡県立八女高等学校 | 福岡 | 廣田進一（教諭） | 「矢部川水系の自然に関する探究及び保護・啓蒙活動」のための活動費補助のお願い |
| 長崎県立佐世保北高等学校 | 長崎 | 村山佳之（教諭） | 磁石・磁性体に関する基礎研究 |

プログラム助成

| 申請機関名 | 都道府県 | 実務担当者(職名) | 共同実施機関 | テーマ |
|---|---|---|---|---|
| 宮城県農業高等学校 | 宮城 | 楯石誠晃（教諭） | 千葉大学 | プレハブ植物工場プロジェクト |
| 宮城県多賀城高等学校 | 宮城 | 菅原健久(教諭)<br>佐藤徳顕(教諭) | 宮城教育大学 | 理数系科目における探究活動の新たなあり方を目指して －生徒の活動を支援するICT機器の活用＝ |
| 宮城県宮城第一高等学校 | 宮城 | 柏葉伸一（教諭） | 放射線医学総合研究所 | コスモス理科実験講座：最先端の放射線医学を学ぶ |
| 山形大学 | 山形 | 栗山恭直（教授） | 山形県教育庁、山形県教育センター | ESDを基本とした理数系人材教育システムの構築の研究 ～山形サイエンスエリート養成プログラムの開発～ |
| 山形県立山形西高等学校 | 山形 | 佐々木隆行（教諭） | 山形大学、東北大学 | 大学との共同研究による自然科学研究者の育成と再生可能エネルギーの研究開発を通じた応用分野の研究者の育成 |
| つくば竹園学園つくば市立竹園東中学校 | 茨城 | 山口裕司（教諭） | 防災科学技術総合研究所、筑波大学、つくば国際大学、ほか | 研究学園都市の地域性を生かした、生徒の科学的な好奇心を高める科学教育プログラムの創造 |
| 神奈川大学附属中高等学校 | 神奈川 | 小林道夫（教諭） | 日本大学、聖学院中学校・高等学校、日本女子大学付属高等学校、中央大学付属中・高等学校、神奈川大学付属中高等学校、はまぎんこども宇宙科学館 | 宇宙エレベーターロボットで宇宙を目指そう！ |

| 申請機関名 | 都道府県 | 実務担当者(職名) | 共同実施機関 | テーマ |
|---|---|---|---|---|
| 富山県立志貴野高等学校 | 富山 | 島弘則（教諭） | 富山大学、大阪科学技術センター | 料理の科学と科学マジックを通して、生徒の興味関心と生活の中で生かせる科学リテラシーの育成 |
| 静岡県立磐田南高等学校 | 静岡 | 青島晃（教諭） | 産業技術総合研究所、静岡大学 | 静岡県磐田市太田川河口で発見された砂礫層は津波堆積物か？－イベント堆積物の鉱物学的・岩石学的・堆積学的検討と歴史地震の特定－ |
| 三重県立津西高等学校 | 三重 | 橋本一哉（教頭） | ①三重大学、小学校<br>②中学校を追加 | 津西サイエンス・パートナーシップ・プログラム（津西 SPP） |
| 神戸大学篠山フィールドステーション | 兵庫 | 布施未恵子（特命助教） | 篠山鳳鳴高校、篠山産業高校、篠山市 | 地域密着型生物多様性保全システムの構築　－環境 DNA を用いた生物相モニタリング調査－ |
| 兵庫県立神戸高等学校 | 兵庫 | 繁戸克彦（教諭） | 神戸学院大学附属高校、東灘高校、兵庫高校、等 | 遺伝子を理解する分子生物学実験の開発、実施と共同実施校での実施による普及活動 |
| 和歌山県立桐蔭高等学校 | 和歌山 | 藤木郁久（教諭） | 和歌山大学、紀泉工房、大阪府立淀川工科高校、和歌山市立西脇中学、JAXA、セニオネットワークス、和歌山県教委 | ロケット、ロボット、マイコンを用いて宇宙を探求しよう |
| 福山市教育研究団体理科教育研究会 | 広島 | 久保木淳士（教諭） | 済美中学校、精華中学校、駅家南中学校、駅家中学校 | 思考力・判断力・表現力を育てる探究学習教材及び指導事例の開発 |
| 山口県立岩国高等学校 | 山口 | 松根健治（校長） | 早稲田大学、広島大学、山口大学、岩国市教委、山口県教委、徳山高校、山口高校、岩国市ミクロ生物館、JST | 「第二・第三の藤岡市助(ふじおか　いちすけ)を生み出す科学教育の推進」～「なぜ」をキーワードに、持続可能な未来社会を担う次代の科学者を育てよう～ |

## 平成２７年度科学教育振興助成対象

個別助成

| 学校名 | 都道府県 | テーマ |
|---|---|---|
| 札幌市立中央中学校 | 北海道 | 中学理科（運動とエネルギー領域）における課題探究型授業の構築について |
| 北海道龍谷学園双葉高等学校 | 北海道 | 小樽に関する水についての調査・研究 |

| 学校名 | 都道府県 | テーマ |
|---|---|---|
| 青森県藤崎町立明徳中学校 | 青森 | 身近なモノを通してエネルギーについて考えよう |
| 青森県立名久井農業高等学校 | 青森 | 農・工融合教育（プロジェクト学習）の研究 |
| 青森県立五所川原農林高等学校 | 青森 | 未活用資源を使った水質浄化の研究 |
| 陸前高田市立第一中学校 | 岩手 | マイクロスケール実験（電気分解・電池）、真空落下実験器 |
| 大船渡市立綾里中学校 | 岩手 | 静電気と電流に関する事物・現象に進んで関わり、それらを科学的に探究しようとする生徒を育てる。 |
| 仙台市立仙台青陵中等教育学校 | 宮城 | 抗原抗体反応のしくみ　～だ液を用いて血液型を調べよう～ |
| 宮城県東松島高等学校 | 宮城 | 長日・短日条件と花芽形成～教室で開花しないアサガオの花芽形成実験～ |
| 山形県立米沢興譲館高等学校 | 山形 | 人力サーマルサイクラーと電気泳動槽の自作でDNA判定実験を身近なものに |
| 山形県立米沢興譲館高等学校 | 山形 | 米沢の医学・工学「サイエンス・ルネサンス」～上杉鷹山公の医学館『好生堂』環境を現代の高校生に～ |
| 福島市立渡利中学校 | 福島 | 津波による塩害からの農地の復興を中学生の科学クラブの視点からどう取り組むか |
| 私立茨城高等学校・中学校 | 茨城 | 化学部研究への助成①花粉症の研究（カテキンの定量）②バイオエタノールの研究（固定化天然酵母を用いたアルコール発酵）③燃料電池の研究（水の電気分解装置を用いた教材の開発）④光触媒の研究（酸化チタンを用いた廃水処理）⑤n-ペンタノールによる水面の振動実験 |
| 石岡市立八郷中学校 | 茨城 | 科学が好きな生徒を育てるための科学部検定の実施 |
| 栃木県日光市立東原中学校 | 栃木 | 実験観察を通した放射線教育　～これからの社会で生きていくために～ |
| 栃木県立宇都宮中央女子高等学校 | 栃木 | タナゴ亜科魚類を通しての異校種交流 |
| 栃木県立小山高等学校 | 栃木 | 惑星探査プロジェクトの立案 |
| 栃木県立宇都宮商業高等学校 | 栃木 | 定時制生徒に興味・関心を持たせる実験や観察の開発による科学的探究心の育成 |
| 和洋国府台女子中学校高等学校 | 千葉 | 化石の模型（レプリカ）を作ってみよう |
| 千葉大学教育学部附属中学校 | 千葉 | 加速度センサーを利用した仮想空間における巨大画像資料を使った観察 |
| 富山県立富山中部高等学校 | 富山 | コウジカビ（*Aspergillus* 属）のセルロース分解条件の解明と利用　―酒造りの技術を応用したバイオエタノール生産の可能性を探る― |

| 学校名 | 都道府県 | テーマ |
|---|---|---|
| 金沢市立工業高等学校 | 石川 | 赤外線を利用した脈拍数計測装置の開発とその実験方法の工夫 |
| 福井市社中学校 | 福井 | 水中微生物の生体観察 |
| 福井市進明中学校 | 福井 | 地域が開発した新素材を活用した学習プログラムの作成 |
| 福井県立武生東高等学校 | 福井 | 日野山周辺の在来種タンポポの生態　～特に夏眠性とニッチの関係について～ |
| 山梨県立巨摩高等学校 | 山梨 | 櫛形山の植物標本作製とデジタル化 |
| 長野県長野工業高等学校 | 長野 | パソコン・タブレット端末用ゲームアプリケーション制作とマイコン RaspberryPi を使用した災害用動画中継ラジコンカーの開発 |
| 岐阜県立加茂高等学校 | 岐阜 | 国内のアルゼンチンアリ分布拡大に対する考察と道しるべフェロモンを用いた防除法についての取り組み |
| 静岡県立富岳館高等学校 | 静岡 | 総合学科高校生の科学的リテラシーを向上させる地域実践プログラム |
| 静岡県立清水西高等学校 | 静岡 | 有孔虫化石を用いた地域の古環境の推定 |
| 静岡県立浜松大平台高等学校 | 静岡 | 佐鳴湖水質の化学的、生物学的分析 |
| 静岡県立掛川西高等学校 | 静岡 | Arduino ボードコンピュータを使った、実験装置制作の基礎講座開催 |
| 静岡県立磐田農業高等学校 | 静岡 | LED の導入による閉鎖型植物工場での新たな授業展開 |
| 愛知県立稲沢高等学校 | 愛知 | 環境に優しい薬用植物 LED 植物工場化技術の確立と地域普及活動 |
| 愛知県立惟信高等学校 | 愛知 | 植物が未来を拓く |
| 愛知県立阿久比高等学校 | 愛知 | ICT を活用した生徒の研究発表能力の向上 |
| 三重県立桑名西高等学校 | 三重 | 桑名西高等学校　新教育プロジェクト『平成 27 年度　理数系科学への新たな出会い』 |
| 三重県立四日市南高等学校 | 三重 | 化学を問題解決型の集団思考で理解することの分析 |
| 三重県立津工業高等学校 | 三重 | ゼロハンカー製作を通した学びの実践と技能の伝承 |
| 草津市立玉川中学校 | 滋賀 | 環境や条件によってプランクトンの数や種類にどのような違いがあるのか |
| 滋賀県立高島高等学校 | 滋賀 | 地域の伝統発酵食品「鮒寿司」を科学する |
| 龍谷大学付属平安中学校・高等学校 | 京都 | クラブ活動（ネイチャー部）における小型脊髄動物の透明骨格標本作製およびその樹脂封入標本化の試み |

| 学校名 | 都道府県 | テーマ |
|---|---|---|
| 同志社中学校 | 京都 | 活動を国際的に展開する中で、科学・技術の興味や関心を育む ～ロボット教材を中心題材として～ |
| 京都府立南丹高等学校 | 京都 | 探究学習を通した連携授業とその成果の検証 －高校生が小学生に教えるエネルギー科学実験授業－を通して |
| 京都府立桃山高等学校 | 京都 | バナナ皮の斑点化とドーパミン重合メカニズムの解明 |
| 神戸大学附属中等教育学校 | 兵庫 | 山陰海岸世界ジオパークを活用したジオパーク教育旅行の開発 -山陰海岸ジオパーク推進協議会と連携して- |
| 兵庫県立西脇高等学校 | 兵庫 | 兵庫県全域の基盤岩の形成過程の解明と防災への応用展開 |
| 兵庫県立兵庫高等学校 | 兵庫 | 大学と連携した国内外の自然科学探究活動 |
| 岡山県倉敷市立北中学校 | 岡山 | 体験的・視覚的にわかる理科教材の工夫 |
| 岡山県倉敷市立玉島東中学校 | 岡山 | 学ぶ意欲を高める授業の創造 ～思考力・判断力・表現力の育成～ |
| 広島県呉市立広南中学校 | 広島 | 蚊が0(くう)研究 PROJECT SEASON 2 |
| 広島市立基町高等学校 | 広島 | 広島城のお堀の水質に関する研究 |
| 山口県立防府商工高等学校 | 山口 | 従来とは異なる後乗り車椅子の製作 ～後からまたがって乗ることで乗り降りが一人でできる車椅子の検証～ |
| 山口県立下関中央工業高等学校 | 山口 | こども科学教室「こどもおもしろサイエンス」開催による地域貢献 |
| 山口県立周防大島高等学校 | 山口 | 地域の自然に学び、その良さを発信する環境学習 |
| 福岡県立八女高等学校 | 福岡 | 「矢部川水系の自然に関する探究及び保護・啓蒙活動」（継続）のための活動費補助のお願い |
| 熊本県立苓明高等学校 | 熊本 | 学び合いが起こる理科教育におけるアクティブ・ラーニング型授業 |
| 大分県立大分鶴崎高等学校 | 大分 | 高校生物「生態系とその保全」分野におけるフィールドワークを活用した学習プログラムの開発と実践 |

プログラム助成

| 申請機関名 | 都道府県 | 共同実施機関 | テーマ |
|---|---|---|---|
| 岩手大学 | 岩手 | 盛岡市こども科学館、久慈市中央公民館、滝沢市立柳沢中学校、岩手県立盛岡第三高等学校、盛岡市中央公民館、岩手県教育委員会、岩手県企業局、東北電力株式会社、NPO 法人環境パートナーシップいわて | ポスト3・11型エネルギー科学技術教育の学習プログラム開発とそれを用いた教育の実践 |
| 茨城県立土浦第三高等学校 | 茨城 | 茨城県立水海道第一高等学校、同茎崎高等学校、日本原子力研究開発機構、茨城県立水戸特別支援学校、株式会社高橋製作所、茨城大学、茨城県立竜ヶ崎南高等学校、同取手松陽高等学校 | 天文を入り口とした科学教育振興 ～スターキャッチコンテスト&車いすの科学者を～ |
| 埼玉県立川越女子高等学校 | 埼玉 | 埼玉県立豊岡高等学校、同飯能高等学校、同所沢西高等学校、同所沢高等学校、同蕨高等学校、同越谷北高等学校、同越谷高等学校、同熊谷西高等学校、同坂戸西高等学校、海城中学高等学校、日本獣医生命科学大学、早稲田大学、NPO 法人埼玉県絶滅危惧動物種調査団、埼玉県環境科学国際センター | 『チーム アライグマ』における埼玉県内アライグマ生息実態調査ならびに高校生によるシンポジウム開催・県内の他の外来生物（無脊椎動物）についての研修ならびに調査 |
| 千葉市科学館 | 千葉 | 千葉県立中央博物館、千葉県立市川工業高等学校、千葉市動物公園、千葉市立の中学校・高等学校 | ちばっとプロジェクト「ちば生きもの科学クラブ2015」を核とする博物館連携企画 |
| 千葉市教育委員会 | 千葉 | 千葉市科学館、千葉市立緑町中学校、千葉市立花園中学校 | 中学校科学部活性化事業における千葉市科学館ボランティアの参画 |
| 都立両国高等学校 | 東京 | 首都大学東京、埼玉県立熊谷西高等学校 | ニワトリ胚を用いた発生分野の課題研究型探求 ～受精卵から個体までの探求～ |
| 横浜国立大学教育人間科学部 | 神奈川 | 神奈川県立菅高等学校、神奈川県立横浜南陵高等学校、東京都立葛飾野高等学校、横浜市立平楽中学校、二宮町立二宮中学校 | 中学生・高校生におけるパフォーマンスを通した科学的思考力・表現力の育成とその実践による検証 |
| 能登町教育委員会 | 石川 | 金沢大学、石川県立能登少年自然の家、のと海洋ふれあいセンター、能登町立中学校（4 校）、能登町立小学校（5 校） | 能登町海洋教育推進プログラム |
| 岐阜県立大垣養老高等学校 | 岐阜 | 名城大学、岐阜大学、養老町小学校 2 校、同中学校 1 校、関ヶ原町小学校 1 校、同中学校 1 校、大垣市内の小学校 1 校、同中学校 1 校 | 滝伝説再現実験から次世代の環境資源利用と保全を考える |

| 申請機関名 | 都道府県 | 共同実施機関 | テーマ |
|---|---|---|---|
| 岐阜大学<br>教育学部 | 岐阜 | 静岡北中学校・高等学校、愛知県立一宮高等学校、早稲田大学本庄高等学院 | 中学生の科学的探究能力を向上させる理数コンペティション |
| 愛知県立<br>名古屋盲学校 | 愛知 | 富山県立富山視覚総合支援学校、石川県盲学校、静岡県立静岡視覚特別支援学校、同沼津視覚特別支援学校、同浜松視覚特別支援学校、愛知県立岡崎盲学校、岐阜県立岐阜盲学校、三重県立盲学校、愛知教育大学、日本福祉大学、岐阜大学、愛知県総合教育センター | 視覚障害のある児童生徒に対する科学教育プログラム「科学へジャンプ・イン・名古屋」の実施 |
| 京都府立<br>桃山高等学校 | 京都 | 京都工芸繊維大学、京都教育大学 | 『京伏”水”学』を核とした研究コミュニティーの形成 |
| 一般財団法人<br>大阪科学技術センター | 大阪 | 大阪市立聴覚特別支援学校、大阪府立生野聴覚支援学校、京都府立聾学校、大阪市立大学医学部附属病院、大阪市立総合医療センター、大阪府立堺聴覚支援学校、京都府立盲学校、奈良県立ろう学校、神戸大学医学部附属病院、京都大学医学部附属病院 | 特別支援学校（聴覚・視覚）及び病院院内学級等における特別出前科学教室 |
| 加古川市立<br>氷丘中学校 | 兵庫 | 加古川市立別府中学校、同中部中学校、同平岡南中学校、同加古川中学校、加古川市教育委員会、神戸親和女子大学、四天王寺大学、かがく教育研究所 | マイクロスケール実験を活用し、生徒が「気づき、考え、議論する」授業の研究 |

## 平成２８年度科学教育振興助成対象

個別助成

| 学校名 | 実務担当者<br>（職名） | 都道府県 | 申請題目 |
|---|---|---|---|
| 北海道有朋高等学校 | 西出雅成<br>（教諭） | 北海道 | イネ科植物を使ったファイトレメディエーションの研究 |
| 北海道稚内高等学校 | 磯　清志<br>（教諭） | 北海道 | 都市環境を考えさせる野外生態実習教材の開発 |
| 北海道湧別高等学校 | 上田浩人<br>（教諭） | 北海道 | 地域に根ざしたバイオマス発電の構想 |

| 学校名 | 実務担当者<br>（職名） | 都道<br>府県 | 申請題目 |
|---|---|---|---|
| 北海道釧路江南高等学校 | 佐藤革馬<br>（教諭） | 北海道 | 簡易USBクリッカーを用いた高校理科の双方向型授業方法の研究 |
| 宮城県古川黎明中学校 | 齋藤弘一郎<br>（教諭） | 宮城県 | 現有の理科教育設備で観察・実験を効果的に行うための実践研究 |
| 宮城県東松島高等学校 | 佐々木敦<br>（教諭） | 宮城県 | なぜだろう？各教室におけるアサガオの花芽形成及び成長の違い ～日長及び温度条件，照度条件などの栽培条件が植物に与える影響～ |
| 宮城県気仙沼高等学校 | 三嶋廣人<br>（教諭） | 宮城県 | 鳴砂を題材にした科学的思考力育成 |
| 山形県立鶴岡南高等学校 | 猪口俊二<br>（教諭） | 山形県 | 山形県水産試験場、山形県立加茂水産高等学校と連携した「鶴南ゼミSS探究（鮮度測定）」 |
| 山形県立鶴岡南高等学校 | 笹木覚<br>（教諭） | 山形県 | 統計学で高校野球を科学する「セイバーメトリクス」 |
| 福島県南相馬市立石神中学校 | 稲葉真二<br>（教諭） | 福島県 | 「観察、実験の結果を分析して解釈する力を育てる学習活動の工夫」 |
| つくば桜並木学園<br>つくば市立並木中学校 | 市原猛<br>（教諭） | 茨城県 | 理科におけるアクティブラーニングの実践ーICT の活用を通してー |
| 佐野日本大学高等学校 | 谷津潤<br>（教諭） | 栃木県 | プラナリアに対する古典的条件付けの研究と教材化 |
| 栃木県立栃木農業高等学校 | 嵯峨俊介<br>（教諭） | 栃木県 | 土のうを利用した農業用ため池のビオトープ化並びに緊急時用水としての利用 |
| 栃木県立宇都宮中央女子高等学校 | 滝沢宏之<br>（教諭） | 栃木県 | タナゴ亜科魚類を通しての異校種交流2 |
| 埼玉県立浦和西高等学校 | 坂江隆志<br>（教諭） | 埼玉県 | 高校物理における分光分野での観察実験・観測用低分散分光器の開発と応用 |

| 学校名 | 実務担当者<br>（職名） | 都道<br>府県 | 申請題目 |
|---|---|---|---|
| 学校法人立教学院 立教新座中学校・高等学校 | 古田 豊<br>（教諭） | 埼玉県 | 富士山頂の自然に学ぶ教材開発～教員と高校生の参画型探究学習手法の創発 |
| 千葉市立高浜中学校 | 伊藤拓也<br>（教諭） | 千葉県 | 理科好きな生徒を育てる理科室作り |
| 東京都立八王子盲学校 | 丸山裕也<br>（教諭） | 東京都 | 視覚特別支援学校における物理・化学実験の充実～安全な探求的科学実験を目指して～ |
| 駒場東邦高等学校 | 松岡雅忠<br>（教諭） | 東京都 | 拡散の様子を可視化できる化学実験教材の開発 |
| 上越市立板倉中学校 | 土屋 泉<br>（教諭） | 新潟県 | 進化学習に生かすトンボ類の視覚と生態の進化 |
| 岐阜県立岐山高等学校 | 鹿野知幸<br>（理数科主任） | 岐阜県 | 電析法による色素増感太陽電池負極作製方法の研究 |
| 星陵中学校・高等学校 | 鈴木崇司<br>（教諭） | 静岡県 | BDF バスで人と資源を循環しよう！プロジェクト |
| 名城大学附属高等学校 | 吉川靖浩<br>（教諭） | 愛知県 | 庄内川における生物調査および図鑑・標本作成 |
| 愛知県立豊野高等学校 | 足立敏<br>（教頭） | 愛知県 | 生徒が実験計画を立てる化学の授業 ～ 論理的思考力の育成を目指して |
| 愛知県立名古屋南高等学校 | 臼井俊哉<br>（教諭） | 愛知県 | アダンソンハエトリグモ卵を用いた胚発生過程の研究 |
| 三重県立四日市南高等学校 | 中村陽明<br>（教諭） | 三重県 | 化学を問題解決型の集団思考で理解することの分析～リフレクションシートから授業改善点を把握する～ |
| 守山市立守山北中学校 | 中西亮平<br>（教諭） | 滋賀県 | 校内の生態系学習のプログラム開発 ～ICT 機器を活用した観察および協同学習を目指して～ |

| 学校名 | 実務担当者<br>（職名） | 都道<br>府県 | 申請題目 |
|---|---|---|---|
| 守山市立守山中学校 | 髙井あゆみ<br>（教諭） | 滋賀県 | ICT を活用した学習環境データの収集と科学的考察を通じた環境学習への取り組み　ー校舎改築時の学校環境を活かした環境学習モデルケースの提案を目指してー |
| 滋賀県立米原高等学校 | 森野泰行<br>（教諭） | 滋賀県 | 最終氷期の古環境復元 |
| 龍谷大学付属平安<br>中学校・高等学校 | 牧野正明<br>（進路部長） | 京都府 | クラブ活動（ネイチャー部）における小型動物の透明骨格標本および様々な樹脂封入標本の作製 |
| 京都府立鴨沂高等学校 | 星原庸平<br>（教諭） | 京都府 | 京蝋燭を科学する |
| 大阪府立桜塚高等学校 | 根岩直希<br>（教諭） | 大阪府 | 定時制高等学校における抗体の有用性と応用面を理解するための教材開発 |
| 清風中学・高等学校 | 池永明史<br>（教諭） | 大阪府 | アオコの毒性物質（ミクロシスチン：MC）の分解細菌の発見と毒性分解メカニズムの予想 |
| 追手門学院大手前中学校 | 福田哲也<br>（教頭） | 大阪府 | 最先端のロボット教育の推進　～世代をこえた学びの構築～ |
| 大阪府立茨木工科<br>高等学校 | 清水至中<br>（教諭） | 大阪府 | 高大連携による宇宙の”ものづくり”と”ひとづくり”の実践 |
| 大阪府立春日丘高等学校<br>定時制の課程 | 久好圭治<br>（教諭） | 大阪府 | 磁性に関する研究　（反磁性/常磁性物質を対象とした磁化率測定法の開発，磁場中での化学反応など） |
| 大阪府立伯太高等学校 | 東　照晃<br>（首席） | 大阪府 | 伯太高校みつばちプロジェクト |
| 神戸大学附属<br>中等教育学校 | 瀧本家康<br>（教諭） | 兵庫県 | 高等学校地学基礎と総合的学習を活用した六甲山麓における山風冷気流をテーマとした探究活動の実施 |
| 兵庫県立三田祥雲館<br>高等学校 | 谷川智康<br>（教諭） | 兵庫県 | 自作望遠鏡による小惑星測光観測 |
| 兵庫県立篠山東雲<br>高等学校 | 菊川裕幸<br>（教諭） | 兵庫県 | 地域資源としての竹有効利用法（再生可能エネルギー、飼料化）の研究 |

| 学校名 | 実務担当者<br>（職名） | 都道<br>府県 | 申請題目 |
|---|---|---|---|
| 兵庫県立東灘高等学校 | 松本誠司<br>（教諭） | 兵庫県 | 地域連携による神戸層群の化石調査 |
| 兵庫県立姫路工業<br>高等学校 | 市川宏之<br>（教諭） | 兵庫県 | セルラーゼ分泌菌の単離培養とセルロースの糖化 |
| 兵庫県立農業高等学校 | 南早矢香<br>（高等学校教諭） | 兵庫県 | 光合成細菌を活用したトマト栽培の実証試験 |
| 兵庫県立舞子高等学校 | 穂積正人<br>（高校教諭） | 兵庫県 | 天体観測用教材開発と天文教育の普及 |
| 兵庫県立御影高等学校 | 大多和光一<br>（教諭） | 兵庫県 | 脱、電気回路のブラックボックス化。回路カードを用いた生徒実験の開発。 |
| 奈良県立桜井高等学校 | 早川純平<br>（教諭） | 奈良県 | フラーレンを使った墨作り～膠を活用したフラーレン C60 の水溶化～ |
| 奈良県立青翔高等学校 | 水本祐之<br>（教諭） | 奈良県 | 教育と地域振興をつなぐ日本の古典園芸「変化アサガオ」 |
| 岡山県倉敷市立玉島東<br>中学校 | 山本芳幸<br>（教諭） | 岡山県 | アクティブラーニングで学ぶ意欲を高める～発見，追求，討論，分析，整理を通して～ |
| 広島県福山市立城北<br>中学校 | 久保木淳士<br>（教諭） | 広島県 | 理科授業における探究学習の創造・実践と育てたい資質能力を設定した単元作りの開発 |
| 学校法人　山口高川学園<br>高川学園中学高等学校 | 村田満<br>（指導教諭） | 山口県 | 生徒実験における PCR 法の導入と、それによる希少生物の保護に向けた研究 |
| 愛媛県立今治西高等学校 | 中川和倫<br>（教諭） | 愛媛県 | 生物部を地域のサイエンスコミュニケーターとして育成する活動 |
| 愛媛県立小松高等学校 | 髙橋遼介<br>（教諭） | 愛媛県 | ダイコンにおけるファイトレメディエーション能力の検証 |

| 学校名 | 実務担当者<br>（職名） | 都道<br>府県 | 申請題目 |
|---|---|---|---|
| 福岡県立糸島農業高等学校 | 近藤雅典<br>（教諭） | 福岡県 | 糸島の自然を守りたい！～小さなハエからの警鐘～ |
| 福岡県立宗像高等学校 | 羽生禎伸<br>（教諭） | 福岡県 | 自律型サッカーロボットの製作と研究 |
| 福岡県立福岡高等学校 | 跡部弘美<br>（教諭） | 福岡県 | 生物部による土壌から単離した放線菌の抗生物質の研究 |
| 小城市立芦刈中学校 | 水田昌子<br>（教諭） | 佐賀県 | 「有明海から学ぼう」~ムツゴロウを活用した発展的学習の取り組み～ |
| 鹿児島県立大島北高等学校 | 樋之口仁<br>（教頭） | 鹿児島県 | 離島小規模校におけるICT機器を用いた気象・宙象現象への理科課題研究と授業改善の工夫 |

プログラム助成

| 申請<br>機関名 | 実務担当者<br>（職名） | 都道<br>府県 | 共同実施機関 | テーマ |
|---|---|---|---|---|
| 宮城県仙台第一高等学校 | 小松原幸弘<br>（教諭） | 宮城県 | 宮城県気仙沼高等学校<br>宮城県古川黎明高等学校<br>宮城県石巻好文館高等学校<br>宮城県白石高等学校<br>福島県立福島高等学校<br>石川県立小松高等学校<br>秋田県立秋田南高等学校 | 宮城県に生息するメダカのルーツを探る<br>-高校生による高校生のための分子生物学特講- |
| 宮城県仙台二華高等学校 | 米本慶央<br>（教諭） | 宮城県 | 東北大学大学院工学研究科<br>東北大学大学院情報科学研究科<br>東北大学大学院農学研究科<br>東北大学大学院理学研究科<br>東北大学大学院法学研究科<br>東北工業大学工学部<br>宮城教育大学大学院<br>株式会社健康予防政策機構 | 日本の水問題に関する調査研究 |

| 申請<br>機関名 | 実務担当者<br>（職名） | 都道<br>府県 | 共同実施機関 | テーマ |
|---|---|---|---|---|
| 秋田県立大曲農業高等学校 | 大沼克彦<br>（教諭） | 秋田県 | 秋田県立大曲農業高等学校<br>立命館大学陸水学<br>信州大学物質循環学<br>秋田大学環境資源学 | 電気分解による田沢湖の中性化にともなうバイオマスと生態系の解明 |
| 秋田大学<br>教育文化学部 | 川村教一<br>（教授） | 秋田県 | 関東学園大学経済学部<br>城西大学理学部<br>東洋大学経済学部<br>秋田大学教育文化学部<br>東京学芸大学附属高等学校<br>茗渓学園高等学校<br>秋田大学教育文化学部 | 「フューチャー・アース」世代育成のための地球科学教育プログラムの開発、実践と評価 |
| 山形大学<br>大学院 教育実践研究科 | 今村哲史<br>（教授） | 山形県 | 山形大学地域教育文化学部<br>山形市教育委員会総合学習センター | 科学技術イノベーション人材を育成するための STEM 教育プログラムの開発 |
| 山形県立米沢興譲館高等学校 | 熊坂克<br>（教諭） | 山形県 | 山形県教育庁高校教育課<br>山形県立山形南高等学校<br>山形県立鶴岡南高等学校 | 小中高大・医を工学と医療で繋ぐサイエンス・ネットワーク構築 |
| 福島県立福島高等学校 | 橋爪清成<br>（教諭） | 福島県 | 福島県立相馬高等学校<br>福島県立磐城高等学校<br>宮城県古川黎明高等学校<br>宮城県仙台第一高等学校<br>宮城県仙台第二高等学校<br>秋田県立秋田中央高等学校<br>山形県立鶴岡南高等学校<br>County Upper School<br>Hinchley Wood School<br>UCL Academy<br>Seven Kings High School<br>St Mary Redcliffe & Temple School　Thomas Hardye Academy<br>Rikkyo School in England | 日英サイエンスワークショップを通した国際的な交流 |
| 東京都立戸山高等学校 | 田中義靖<br>（指導教諭） | 東京都 | 新宿区立富久小学校<br>新宿区余丁町小学校<br>新宿区小学校理科教育研究会<br>新宿区西早稲田中学校<br>新宿区立牛込第三中学校 | 生徒の主体的な活動の場としての実験観察体験における小中高大連携のチームの編成とカリキュラムの開発 |

| 申請<br>機関名 | 実務担当者<br>（職名） | 都道<br>府県 | 共同実施機関 | テーマ |
|---|---|---|---|---|
| 岐阜県立八百津高等学校 | 貝川友子<br>（実習教諭） | 岐阜県 | 岐阜大学応用生物科学部<br>岐阜県立加茂高等学校 | 生態系に悪影響を及ぼすアルゼンチンアリの防除法 |
| 静岡科学館 | 長澤友香<br>（館長） | 静岡県 | 静岡サイエンスミュージアム研究会<br>静岡市理科同好会<br>科学の祭典静岡大会実行委員会<br>静岡市教育委員会 | 理科授業のアクティブラーニングを支援する教材プログラムの開発と活用 |
| 星陵中学校・高等学校 | 鈴木崇司<br>（教諭） | 静岡県 | 東北大学農学研究科 | 次世代型「環(わ)」の文化の提案 |
| 愛知県立稲沢高等学校 | 長谷川光隆<br>（教諭） | 愛知県 | 愛知文教女子短期大学 生活文化学科<br>愛知県尾張農林水産事務所<br>内藤記念くすり博物館<br>富山県薬事研究所<br>愛知県立佐屋高等学校<br>愛知県立安城農林高等学校 | 地元特産薬用植物とそれを用いた料理の研究と普及 |
| 愛知教育大学 | 児玉康一<br>（教授） | 愛知県 | 富山県立富山視覚総合支援学校<br>石川県立盲学校<br>静岡県立静岡視覚特別支援学校<br>静岡県立沼津視覚特別支援学校<br>静岡県立浜松視覚特別支援学校<br>愛知県立名古屋盲学校<br>愛知県立岡崎盲学校<br>岐阜県立岐阜盲学校<br>三重県立盲学校<br>愛知県総合教育センター<br>日本福祉大学社会福祉学部<br>岐阜大学教育学部 | 視覚障害のある児童生徒に対する科学教育プログラム「科学へジャンプ・イン・東海（仮称）」の企画、実施と評価 |
| 滋賀県立高島高等学校 | 小林泰彦<br>（教諭） | 滋賀県 | 高島市立今津中学校<br>高島市立マキノ中学校<br>滋賀県立大学<br>滋賀県農政水産部水産課 | 源流域と琵琶湖をつなぐ流域環境の探究<br>−奥山・里山・里湖− |

| 申請<br>機関名 | 実務担当者<br>（職名） | 都道<br>府県 | 共同実施機関 | テーマ |
|---|---|---|---|---|
| 同志社中学校 | 沼田和也<br>（教頭） | 京都府 | 桃山学院中学校<br>滋賀大学教育学部附属中学校<br>奈良市立登美が丘中学校 | アジアを中心とした科学技術キャンプの実施 |
| 山口県立下関工科高等学校 | 春日貴江<br>（教諭） | 山口県 | 山口県立下関中央工業高等学校<br>山口大学大学院・理工学研究科 | 高校生による地域に科学の楽しさを伝える活動 |
| 高等教育コンソーシアム久留米 | 越地　尚宏<br>（久留米高専教授（兼）高等教育コンソーシアム久留米小中高連携部会長） | 福岡県 | 久留米大学（含：医学部）<br>久留米工業大学<br>聖マリア学院大学<br>久留米信愛女学院短期大学<br>久留米工業高等専門学校<br>久留米市<br>福岡県立青少年科学館<br>【参画／協力依頼予定校・機関】<br>久留米市内及び近郊小中学高校<br>久留米市教育委員会<br>久留米市理科教育センター<br>福岡県教育委員会<br>佐賀県教育委員会<br>鳥栖市教育委員会<br>小郡市教育委員会<br>八女市教育委員会<br>久留米市近郊各企業 | くるめ子どもキャンパス　ー出前授業や講座とサイエンスイベントで見て・考え・体験してみようー |
| 熊本高等専門学校八代キャンパス | 上土井幸喜<br>（教授） | 熊本県 | 熊本高専<br>熊本高専<br>沖縄高専<br>鹿児島高専<br>都城高専<br>有明高専<br>大分高専<br>佐世保高専<br>久留米高専<br>北九州高専<br>北九州高専 | 高専生による「小・中学生向け理科教育支援」～高専サイエンス支援ネットを利用したアイデア募集と実施～ |

| 申請<br>機関名 | 実務担当者<br>（職名） | 都道<br>府県 | 共同実施機関 | テーマ |
|---|---|---|---|---|
| 熊本県高等学校教育研究会地学部会 | 淀川壮之典<br>（教諭） | 熊本県 | 天草市立御所浦白亜紀資料館<br>熊本大学大学院自然科学研究科<br>熊本博物館ネットワークセンター | 大学や博物館等と連携したジオパークでのフィールドワークと成果発表の取組　～高校生アースサイエンスセミナー～ |

平成２８年度 科学教育振興　追加募集

１）小学生を巻き込んだ活動　【プログラム】

| 学校名 | 実務<br>担当者<br>（職名） | 都道<br>府県 | 共同実施機関 | 申請題目 |
|---|---|---|---|---|
| 宮城県石巻工業高等学校 | 佐光克己<br>（教諭） | 宮城県 | 石巻市内小学校２校以上<br>石巻市内中学校２校以上 | 河川の災害に対して自分たちができることを考える |
| 福島成蹊高等学校 | 山本剛<br>（理科教諭） | 福島県 | | 微小生物を活用した高校生（自然科学部員）による理科実践～自分たちで採集した微小生物を使った観察教室～ |
| 和洋国府台女子中学校高等学校 | 植田幹男<br>（教諭） | 千葉県 | 和洋女子大学（予定）<br>千葉県市川市近隣の小学校（予定） | 小学生対象実験講座「放課後 Science Team」の企画・運営 |
| 台東区立忍岡小学校 | 吉藤玲子<br>（台東区立忍岡小学校校長） | 東京都 | 台東区立上野中学校 | わたしたちの海について知ろう！学ぼう！体験しよう！ |
| たつの市立揖保川中学校 | 糸井香代子<br>（校長） | 兵庫県 | たつの市立龍野東中学校<br>たつの市立御津中学校<br>たつの市立誉田小学校<br>兵庫県立龍野高校<br>兵庫県立龍野北高校<br>たつの市教育委員会<br>たつの市青少年館<br>こどもサイエンスひろば | 中高生が教える小学生のためのかがく教室 |
| 島根県立益田高等学校 | 福満晋<br>（教諭） | 島根県 | 島根県益田市教育委員会<br>島根県教育委員会 | 益田市すべての小学校へのアウトリーチ活動「出前授業」・「理科読を楽しむ会」 |
| 北九州工業高等専門学校 | 山本和弥<br>（准教授） | 福岡県 | | 小学生への理科教育を通じた理系キャリア教育（特に女子生徒にむけて） |

| 学校名 | 実務<br>担当者<br>（職名） | 都道<br>府県 | 共同実施機関 | 申請題目 |
|---|---|---|---|---|
| 坊津学園 | 西村太希<br>（教諭） | 鹿児島<br>県 | 希望が丘学園鳳凰高等学校<br>鹿児島大学教育学部<br>坊津歴史資料センター<br>南さつま市商工会 | 科学的探求心を持ち，問題解決力を高め，未来を切り拓く児童生徒の育成 |

２）意欲的な小学校の先生方を支援する活動

| 学校名 | 実務<br>担当者<br>（職名） | 都道<br>府県 | 共同実施機関 | 申請題目 |
|---|---|---|---|---|
| 新宿区立富久小学校 | 由木正浩<br>（主幹教諭） | 東京都 | 新宿区立天神小学校<br>新宿区立余丁町小学校<br>新宿区立四谷第六小学校<br>新宿区立落合第四小学校 | 都心部の小学校に通う児童の科学的な見方や考え方を育む小学校連携 |
| 京都市野外教育研究会（京都市立第四錦林小学校） | 橋本英敏<br>（代表幹事（小学校教諭）） | 京都府 | | 京都市野外教育研究会　自然観察プログラムおよび野外教育活動 |
| 兵庫県立尼崎北高等学校 | 吉田英一<br>（教諭） | 兵庫県 | | ものづくり都市の子ども達と科学するペーパークラフト |
| 兵庫県立西脇高等学校 | 川勝和哉<br>（教諭） | 兵庫県 | 神戸大学他 | 西脇高校の生徒と近隣地域の小学校教員が共同で野外調査書や実験書を作成し授業を実施 |
| 安芸太田町教育委員会 | 沖本直樹<br>（学校教育課主幹） | 広島県 | 東京大学 CoREF<br>新しい学びプロジェクト参加団体（21 団体）<br>日本技術士会中国本部<br>広島県立加計高等学校<br>安芸太田町立加計小学校<br>安芸太田町立筒賀小学校<br>安芸太田町立上殿小学校<br>安芸太田町立戸河内小学校<br>安芸太田町立加計中学校<br>安芸太田町立筒賀中学校<br>安芸太田町立戸河内中学校 | アクティブラーニング（協調学習）による主体的・協調的に学ぶ科学教育プログラム |

| 学校名 | 実務<br>担当者<br>（職名） | 都道<br>府県 | 共同実施機関 | 申請題目 |
|---|---|---|---|---|
| 飯塚市立図書館（指定管理者：㈱図書館流通センター） | 大石俊一<br>（飯塚市立図書館長（指定管理者）） | 福岡県 | 福岡大学 | 公立図書館が地域で展開する新形式の読み聞かせ－「理科読」への挑戦 |

## 平成２９年度科学教育振興助成対象

個別助成

| 学校名 | 都道府県 | 申請題目 |
|---|---|---|
| 札幌市立富丘小学校 | 北海道 | 理科が好きな子どもを育てる |
| 弘前市立相馬中学校 | 青森県 | 電気エネルギーの利用を身近なものとして理解しよう |
| 弘前市立第三中学校 | 青森県 | 身の回りの現象から科学を身近に理解する |
| 秋田県立秋田高等学校 | 秋田県 | 突然変異抑制効果を持つ物質の探索 |
| 川俣町立川俣小学校 | 福島県 | 「あったらいいな」を形にして発想する喜びと創造力を高める活動 |
| 茨城高等学校・中学校 | 茨城県 | 化学部の研究 |
| 茨城県立水戸第二高等学校 | 茨城県 | 高校生の視点に立った Belousov-Zhabotinsky 反応の長時間挙動の解析 |
| みなかみ町立新治小学校 | 群馬県 | 絶滅危惧種「赤谷の森のイヌワシ」を保護する自然林再生・復旧の試み |
| 群馬県立前橋女子高等学校 | 群馬県 | 物理基礎の比熱測定実験を「分銅」が劇的に変える！ |
| 春日部市立幸松小学校 | 埼玉県 | ICT 機器を活用した知識構成型ジグソー学習の実践 |
| 山村学園山村国際高等学校 | 埼玉県 | マウス腸内フローラから観察した健康食品の機能性 |
| 浦和実業学園高等学校 | 埼玉県 | 低温下での緑色光または青色光の照射と魚類の成長速度の変化 |
| 千葉大学教育学部附属中学校 | 千葉県 | 生徒が積極的に実験に参加できる新しい授業実践　－タブレットPCの活用－ |

| 学校名 | 都道府県 | 申請題目 |
|---|---|---|
| 銚子市立第五中学校 | 千葉県 | 生徒の疑問を引き出す教材の開発と思考力，創造力を高める指導法の工夫 |
| 千葉県立東葛飾高等学校 | 千葉県 | 缶サットへの挑戦～模擬人工衛星の製作を通した「ものづくり」教育～ |
| 日本大学習志野高等学校 | 千葉県 | 化学部生徒による化学実験教室実施の指導および大学教員による高大連携教育の計画と実施 |
| 江戸川区立南篠崎小学校 | 東京都 | 児童が動植物と触れ合う活動を通して生物の多様性に気付かせる取組 |
| 神奈川県立平塚農業高等学校初声分校 | 神奈川県 | ハイドロゲル・アルギン酸カルシウム・生分解性プラスチックを利用したカプセル開発 |
| 神奈川県立弥栄高等学校 | 神奈川県 | 青銅鏡の大型化に対する最適な鋳造条件の研究 |
| 高岡市立志貴野中学校 | 富山県 | 生徒の自己有用感や協調性を高める科学部（自然科学部）指導の実践 |
| かほく市立高松中学校 | 石川県 | 2年化学分野における恋愛物語とその実践例 |
| 山梨県立韮崎高等学校 | 山梨県 | 生徒が進める課題研究における分子生物学的・生化学的解析への取組み |
| 長野市立山王小学校 | 長野県 | 長野盆地の生い立ちを校歌の一節をもとに繙く―小学校第 6 学年理科「土地のつくりと変化」の学習を通して― |
| 長野県松本工業高等学校 | 長野県 | 軽い薄い透明、手作り電子デバイスの教材開発 |
| 静岡県立韮山高等学校 | 静岡県 | バイオテクノロジーを題材にした科学教室で地域貢献及び教材の開発 |
| 岡崎市立愛宕小学校 | 愛知県 | 異校種学校や企業・施設と連携する「本物との出会い」を大切にした理科学習の工夫 |
| 三重県立桑名西高等学校 | 三重県 | 桑名西高等学校　新教育プロジェクトⅣ『平成 29 年度　理数系科学への新たな出会い』 |
| 三重県立四日市工業高等学校 | 三重県 | ロボット創造開発のためのCAD／CAM／CAEシステムを用いた実用的なものづくり教育手法の開発 |
| 三重県立伊勢工業高等学校 | 三重県 | CFRP焼成炉に関する製作研究を通じた学び |
| 守山市立明富中学校 | 滋賀県 | iPad を活用した多様な表現・双方向コミュニケーションによる 能動的・協働的な理科授業の実践 |
| 綾部市立何北中学校 | 京都府 | 理科室を発見の場に |

| 学校名 | 都道府県 | 申請題目 |
|---|---|---|
| 大谷中学校・高等学校 | 大阪府 | 既存の製品にはない機能を持つ実験装置の開発を通じて物理教育の発展に貢献する |
| 大阪府立東住吉高等学校 | 大阪府 | 理科研究部部員による地域の小中学生向け実験教室の実験内容の多様化に向けて |
| 大阪府立大手前高等学校定時制の課程 | 大阪府 | 重力の魔術師をめざして ～微小重力発生装置・重力可変装置を製作し，様々な惑星・衛星の表面重力をつくる～ |
| 大阪府立枚方高等学校 | 大阪府 | 枚方にホタルを取り戻す～枚高ホタルプロジェクト |
| 大阪府立三島高等学校 | 大阪府 | タブレットを用いた授業の新展開・・・拡張現実（AR）技術を用いた教材の開発と活用 |
| 兵庫県立姫路聴覚特別支援学校 | 兵庫県 | ロボットを利用したものづくり教育 |
| 神戸大学附属小学校 | 兵庫県 | 3 年生の子どもたちの「もの」としてのとらえを，「素材」としてのとらえに変える授業プログラムの開発 |
| 神戸市立糀台小学校 | 兵庫県 | 子供の主体性を育てる理科教育の充実を目指して |
| 兵庫県立小野高等学校 | 兵庫県 | 葉緑体 DNA の解析によるスミレ属の分子系統解析 |
| 兵庫県立兵庫高等学校 | 兵庫県 | 大学院生と学ぶ自然科学探究活動Ⅰ |
| 帝塚山中学校高等学校 | 奈良県 | ロボット教室開催を通した人づくり ～参加児童・指導生徒、両方の成長を願って～ |
| 日野町立黒坂小学校 | 鳥取県 | 科学が好きな子どもを育てる 黒坂小かわこっ子ドリーム・ホーププラン |
| 岡山大学教育学部附属中学校 | 岡山県 | 体感型常設展示と授業を連動して主体的に探究する能力を高める ～中学校地球領域の新たな視点の獲得を通して～ |
| 広島市立戸山小学校 | 広島県 | 小・中連携による大雨洪水・土砂災害の危険予測学習に重点を置いた教育プログラム ～ 防災教育を通じて科学への関心を高める実践の工夫～ |
| 広島市立中広中学校 | 広島県 | 中広中学校区内の環境調査の実施と、調査結果を使った身近な環境の教材化 ～太田川流域の水質調査と環境放射線について～ |
| 広島県立広島国泰寺高等学校 | 広島県 | ヨコエビの植物繊維を分解するセルラーゼ獲得の進化を探る |

| 学校名 | 都道府県 | 申請題目 |
|---|---|---|
| 広島県立祇園北高等学校 | 広島県 | 研究や研究発表をとおして将来研究者になりたいと考える生徒を増やす取組み ～博物館や大学などと連携して行う科学研究～ |
| 山口県立小野田工業高等学校 | 山口県 | 「高校生と小学生が一緒に考える」出前実験実習による学びあい学習 |
| 山口県立萩商工高等学校 | 山口県 | ウインターイルミネーションの製作を通した情報技術や電気実習の発展学習 |
| 徳島県立城北高等学校 | 徳島県 | サイエンス部生徒課題研究の充実 |
| 福岡県立八女高等学校 | 福岡県 | 絶滅危惧種アサザの生育に関する土壌調査 |
| 佐賀県立佐賀商業高等学校 | 佐賀県 | 体験を重視する学びによる科学への興味・関心を高める取り組み |
| 鹿児島市立甲東中学校 | 鹿児島県 | 中学理科の授業に使える理科模型の開発及び活用方法の研究 |
| 三島村立片泊中学校 | 鹿児島県 | 離島における貴重な生物の研究と最先端のテクノロジーを取り入れた授業の開発 |
| 希望が丘学園鳳凰高等学校 | 鹿児島県 | サイエンスクラブの活動での主体的な学びを通した，生徒の「生きる力」の育成 |

プログラム助成（初年度）

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目 |
|---|---|---|---|
| 宮城県富谷高等学校 | 宮城県 | 富谷市教育委員会<br>富谷市立富谷小学校<br>富谷市立富ヶ丘小学校<br>富谷市立東向陽台小学校<br>富谷市立あけの平小学校<br>富谷市立日吉台小学校<br>富谷市立成田東小学校<br>富谷市立成田小学校<br>富谷市立明石台小学校 | 地域特産物ブルーベリーの研究と高校生による小学生向け科学教室 |
| 宮城教育大学 | 宮城県 | 仙台市教育委員会<br>（今年度実施例・仙台市立大沢小学校・仙台市立西多賀中学校。新年度の6月に決定する） | 子供達の理科の弱点を補強するためのチャレンジングな指導法改善の支援 |

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目 |
|---|---|---|---|
| 山形大学 | 山形県 | 山形県教育庁<br>山形県教育センター<br>山形市教育委員会<br>山形県立博物館<br>山形県立産業科学館<br>鶴岡市立加茂水族館 | ヤマガタサイエンスアカデミーでの人材育成の指導法の研究とネットワーク化 |
| 茨城工業高等専門学校 | 茨城県 | 茨城県立土浦第三高等学校<br>茨城県立水戸特別支援学校<br>茨城県立下妻特別支援学校<br>福島県立安積黎明高等学校<br>福島県立新地高等学校<br>鳥取大学<br>藁谷製作所<br>日本原子力機構 | 車いす仕様ナスミス望遠鏡自動追尾化による特別支援学校と普通校の交流～茨城から福島へ～ |
| 埼玉県立越谷北高等学校 | 埼玉県 | 埼玉県総合教育センター<br>埼玉県立川越女子高等学校<br>埼玉県立飯能高等学校<br>埼玉県立所沢西高等学校<br>埼玉県立所沢高等学校<br>埼玉県立浦和高等学校<br>埼玉県立越ヶ谷高等学校<br>埼玉県立熊谷西高等学校<br>埼玉県立坂戸西高等学校<br>海城中学高等学校<br>早稲田大学人間科学学術院<br>日本獣医生命科学大学獣医学部<br>埼玉県絶滅危惧動物種調査団<br>埼玉県環境科学国際センター | 外来生物研究ネットワークによる、埼玉県内外での外来生物の生息実態調査、ならびに高校生によるシンポジウム開催・県内の他の外来生物についての研修ならびに調査 |
| 能登町立小木中学校 | 石川県 | 能登町教育委員会事務局<br>金沢大学環日本海域環境研究センター臨海実験施設<br>石川県立能登少年自然の家<br>のと海洋ふれあいセンター<br>一般社団法人能登里海教育研究所<br>能登町立中学校（3校）<br>能登町立小学校（5校） | 九十九湾海洋教育推進プログラム |

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目 |
|---|---|---|---|
| 三重県立神戸高等学校 | 三重県 | 鈴鹿市立神戸小学校<br>鈴鹿市立神戸中学校<br>鈴鹿市内各中学校（10校）<br>鈴鹿医療科学大学<br>三重大学<br>国際環境情報移転センター<br>三重環境学習情報センター<br>（株）万協製薬<br>（株）ホンダ技研工業 | 小中高大産をつなぐ理数・科学教育 |
| 京都ノートルダム女子大学 | 京都府 | ノートルダム学院小学校<br>京都市立洛央小学校<br>京都市立葵小学校<br>京都市葵児童館 | 地域連携型科学遊びプログラム「自然と遊ぼう！」の開発・実施 |
| 大阪府立堺工科高等学校 定時制の課程 | 大阪府 | プール学院大学・短期大学<br>堺市立美原中学校<br>堺市立熊野小学校 | 廃油発電によるエコ・プロジェクト |
| 香川県立三本松高等学校 | 香川県 | 高知県立高知小津高等学校<br>兵庫県立神戸高等学校<br>京都府立桃山高等学校<br>奈良県立奈良高等学校<br>石川県立金沢泉丘高等学校<br>静岡県立磐田南高等学校<br>愛知県立一宮高等学校<br>高知工科大学 システム工学群<br>東京学芸大学 教育学部 | 可聴音による落雷位置の調査及び落雷位置とスプライト発生位置との関係を探る |
| 香川県立香川中央高等学校 | 香川県 | 高松市立大野小学校 | ホタルの生息地の環境調査および保存活動 |
| 福岡工業大学附属城東高等学校 | 福岡県 | 宗像市立大島小学校<br>宗像市立大島中学校<br>福岡市立志賀中学校<br>新宮町立相島小学校<br>新宮町立新宮中学校相島分校<br>福岡工業大学工学部生命環境学科<br>九州大学 農学部 | 玄界マリンフロンティアプロジェクト |

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目 |
|---|---|---|---|
| 大牟田市立吉野小学校 | 福岡県 | 大牟田市立駛馬南小学校<br>大牟田市立駛馬北小学校<br>大牟田市立明治小学校<br>大牟田市立中友小学校 | 未来へつなぐ大牟田の川と有明海の海洋プロジェクト |
| 長崎県立宇久高等学校 | 長崎県 | 佐世保市立宇久小学校<br>佐世保市立宇久中学校<br>長崎大学教育学部<br>鹿児島大学理学部 | ふるさとの島を4D計測 ～宇久ストリートビューの製作～ |

意欲的な小学校の先生方を支援するプログラム助成（初年度）

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目 |
|---|---|---|---|
| 岐阜県養老町立養北小学校 | 岐阜県 | ロンドン大学<br>養老町小中理科教育研究会<br>（養老小学校、広幡小学校、上多度小学校、池辺小学校、笠郷小学校、養北小学校、日吉小学校、高田中学校、東部中学校） | ローカル・グローバル情報を活用した理科授業のあり方～地学分野における児童の科学的思考力を育てる～ |
| 三島市教育研究会小学校理科部 | 静岡県 | 三島市教育研究会<br>（三島市内全小学校14校） | チーム三島理科教育向上計画～理科好きな先生の育成が理科教育を変える |
| 滋賀 CST 研究会 | 滋賀県 | 滋賀 CST 研究会<br>（彦根市立鳥居本小学校、彦根市立城西小学校、草津市立矢倉小学校、大津市立瀬田小学校、大津市立瀬田中学校、東近江市立箕作小学校）<br>滋賀大学<br>滋賀県教育委員会<br>滋賀県内各市教育委員会 | 滋賀の理科教育推進プログラム～小学校教員の理科の指導力向上を求めて～ |
| 同志社小学校 | 京都府 | 京都市立岩倉南小学校<br>京都水族館 | 岩倉川を中心とした里山の自然を学ぶ理科プログラムの研究 |

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目 |
|---|---|---|---|
| 愛媛大学教育学部 | 愛媛県 | 愛媛県教育委員会（義務教育課・愛媛県総合教育センター）<br>松山市教育委員会（松山市教育研修センター）<br>愛媛県立総合科学博物館<br>愛媛県立とべ動物園<br>松山市立生石小学校<br>松山自然科学教室<br>面河山岳博物館 | 科学系社会教育施設を活用できる小学校教員の育成と支援 |
| 四国中央市理科同好会 | 愛媛県 | 愛媛県四国中央市全小・中学校<br>愛媛大学教育学部<br>東北大学大学院生命科学科 | 教員の指導力向上と理科教育の振興 |

プログラム助成（２年目）

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目名 |
|---|---|---|---|
| 宮城県石巻工業高等学校 | 宮城県 | 石巻管内（石巻市、東松島市、女川町）教育委員会管轄の小中学校 | 河川の災害に対して自分たちができることを考える　～防災を通して科学のおもしろさを理解する取組～ |
| 宮城県仙台第一高等学校 | 宮城県 | 宮城県岩ヶ崎高等学校<br>宮城県古川黎明高等学校<br>宮城県利府高等学校<br>仙台城南高等学校<br>宮城教育大学<br>仙台市八木山動物公園<br>仙台市科学館 | 宮城県内に生息するメダカのルーツを探る　－高校生による高校生のための分子生物学特講－ |
| 宮城県仙台二華中学校・高等学校 | 宮城県 | 東北工業大学工学部<br>東北大学大学院工学研究科<br>東北大学大学院環境科学研究科<br>東北大学大学院情報科学研究科<br>仙台市立連坊小路小学校 | 日本の水問題に関する調査研究 |
| 秋田県立大曲農業高等学校 | 秋田県 | 立命館大学<br>信州大学<br>秋田大学<br>仙北市立生保内小学校<br>仙北市立桧木内小学校 | 電気分解による田沢湖の中性化がもたらす生態系への影響の調査 |

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目名 |
|---|---|---|---|
| 秋田大学　教育文化学部 | 秋田県 | 秋田大学国際資源学部<br>関東学園大学経済学部<br>城西大学理学部<br>東洋大学経済学部<br>海洋研究開発機構 | 「フューチャー・アース」世代育成のための地球科学教育プログラムの開発，実践と成果 |
| 山形県立米沢興譲館高等学校 | 山形県 | 山形大学<br>東北大学大学院<br>山形県教育委員会<br>山形県高等学校文化連盟科学専門部<br>米沢市内の全中学校、高等学校 | 小中高大・医を工学と医療で繋ぐサイエンス・ネットワーク構築 |
| 山形大学大学院教育実践研究科 | 山形県 | 山形大学地域教育文化学部<br>山形市教育委員会総合学習センター | 科学技術イノベーション人材を育成するためのSTEM 教育プログラムの開発 |
| 福島県立福島高等学校 | 福島県 | ケンブリッジ大学<br>ﾕﾆﾊﾞｰｼﾃｨ・ｶﾚｯｼﾞ・ﾛﾝﾄﾞﾝ<br>クリフトン科学トラスト<br>County Upper School<br>St Mary Redcliffe and Temple School<br>Newham Collegiate School<br>Thomas Hardy School<br>Merchants' Academy<br>Hinchley Wood School<br>Seven Kings High School<br>立教英国学院<br>福島県立相馬高等学校<br>福島県立磐城高等学校<br>宮城県古川黎明高等学校<br>宮城県仙台第一高等学校<br>宮城県仙台第二高等学校<br>山形県立鶴岡南高等学校<br>山形県立米沢興譲館高等学校<br>立教池袋高等学校 | 日英サイエンスワークショップの実施 |
| 福島成蹊高等学校 | 福島県 | 地元の小学校 | 微小生物を活用した高校生（自然科学部員）による理科実践　～自分たちで採集した微小生物を使った観察教室～ |

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目名 |
|---|---|---|---|
| 和洋国府台女子中学校高等学校 | 千葉県 | 千葉県市川市近隣の小学校<br>（本校講座に参加希望をしていただいた小学校）<br>大東文化大学スポーツ・健康科学部 | 小学生対象実験講座「放課後 Science Team」の企画・運営 |
| 東京都立戸山高等学校 | 東京都 | 東京大学海洋教育推進研究センター<br>新宿区立富久小学校 | 生徒の主体的な活動の場としての実験観察体験における小中高大連携のチームの編成とカリキュラムの開発 |
| 台東区立忍岡小学校 | 東京都 | 台東区立上野中学校 | わたしたちの海について知ろう！学ぼう！体験しよう！ |
| 岐阜県立八百津高等学校 | 岐阜県 | 岐阜大学応用生物科学部<br>岐阜県立加茂高等学校 | 静かなる侵入者アルゼンチンアリ～分布拡大への考察と行動学的研究～ |
| 静岡科学館 | 静岡県 | 静岡サイエンスミュージアム研究会<br>静岡市教育委員会<br>特定非営利法人体験科学教育研究所（リアルサイエンス）<br>静岡大学 | 理科授業のアクティブラーニングを支援する教材プログラムの開発と活用 |
| 星陵中学校・高等学校 | 静岡県 | 静岡北中学校・高等学校または地域の小中学校<br>静岡理工科大学<br>東北大学 | 次世代型「環(わ)」の文化の提案 |

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目名 |
|---|---|---|---|
| 愛知教育大学 | 愛知県 | 富山県立富山視覚総合支援学校<br>石川県立盲学校<br>静岡県立静岡視覚特別支援学校<br>静岡県立沼津視覚特別支援学校<br>静岡県立浜松視覚特別支援学校<br>愛知県立名古屋盲学校<br>愛知県立岡崎盲学校<br>岐阜県立岐阜盲学校<br>三重県立盲学校<br>日本福祉大学<br>岐阜大学<br>愛知県総合教育センター | 視覚障害のある児童生徒に対する科学教育プログラム「科学へジャンプ・イン・東海（仮称）」の企画、実施と評価 |
| 滋賀県立高島高等学校 | 滋賀県 | 高島市立マキノ中学校<br>高島市立今津中学校<br>滋賀県立大学 環境科学部<br>滋賀県 農政水産部 水産課 | 源流域と琵琶湖をつなぐ流域環境の探究―奥山・里山・里湖― |
| 同志社中学校 | 京都府 | 福井大学教育学部<br>桃山学院中学校<br>香港大学付属王錦中小学校<br>台湾 淡江高級中学<br>韓国 徳寿中学校 | アジアを中心とした科学技術キャンプの実施と発展 |
| たつの市立揖保川中学校 | 兵庫県 | たつの市教育委員会<br>兵庫県立龍野高等学校<br>兵庫県立龍野北高等学校<br>たつの市青少年館こどもサイエンスひろば | 中高生が教える小学生のためのかがく教室 |

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目名 |
|---|---|---|---|
| 島根県立益田高等学校 | 島根県 | 益田市教育委員会<br>NPO法人ガリレオ工房<br>益田市立益田小学校<br>益田市立吉田小学校<br>益田市立高津小学校<br>益田市立吉田南小学校<br>益田市立安田小学校<br>益田市立鎌手小学校<br>益田市立真砂小学校<br>益田市立豊川小学校<br>益田市立西益田小学校<br>益田市立桂平小学校<br>益田市立戸田小学校<br>益田市立中西小学校<br>益田市立東仙道小学校<br>益田市立都茂小学校<br>益田市立匹見小学校<br>益田市立道川小学校 | 益田市（益田市周辺）の全ての小学校へのアウトリーチ活動「出前実験」・「理科読を楽しむ会」 |
| 山口県立下関工科高等学校 | 山口県 | 山口県立下関中央工業高等学校<br>山口県立下関工業高等学校<br>山口大学大学院 | 高校生による地域に科学の楽しさを伝える活動 |
| 高等教育コンソーシアム久留米 | 福岡県 | 久留米大学<br>久留米工業大学<br>聖マリア学院大学<br>久留米信愛女学院短期大学<br>久留米工業高等専門学校<br>福岡県立青少年科学館<br>久留米からくり振興会<br>株式会社ブリヂストン<br>久留米絣組合<br>久留米市教育委員会<br>高良大社<br>福岡県下及び熊本の各中学校<br>福岡県立明善高等学校<br>久留米大学附設高等学校<br>八女学院高等学校<br>福岡工業大学附属城東高等学校<br>東海大学付属福岡高等学校<br>上智福岡中学高等学校<br>熊本県立第二高等学校 | くるめ子どもキャンパス　－出前授業や講座とサイエンスイベントで見て・考え・体験してみよう－ |

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目名 |
|---|---|---|---|
| 北九州工業高等専門学校 | 福岡県 | 北九州市児童文化科学館<br>北九州市立志井小学校<br>北九州市立花尾小学校<br>北九州市立黒崎中央小学校 | 小学生への理科教育を通じた理系キャリア教育（特に女子生徒にむけて） |
| 熊本県高等学校教育研究会地学部会 | 熊本県 | 熊本県立熊本北高等学校<br>熊本県立熊本西高等学校<br>熊本県立菊池高等学校<br>熊本県立八代高等学校<br>熊本県立第一高等学校<br>熊本県立大津高等学校 | 高校生アースサイエンスセミナー～大学や博物館等と連携したジオパークでのフィールドワークと成果発表の取組～ |
| 熊本高等専門学校 | 熊本県 | 沖縄工業高等専門学校<br>鹿児島工業高等専門学校<br>都城工業高等専門学校<br>有明工業高等専門学校<br>大分工業高等専門学校<br>佐世保工業高等専門学校<br>久留米工業高等専門学校<br>北九州工業高等専門学校 | 高専生による「小・中学校向け理科教育支援」～高専サイエンス支援ネットを利用したアイデア募集と実施～ |
| 南さつま市立　坊津学園 | 鹿児島県 | 東京大学海洋アライアンス海洋教育促進研究センター<br>鹿児島大学教育学部<br>鹿児島県立鹿児島水産高等学校<br>希望が丘学園鳳凰高等学校<br>タツノオトシゴハウス<br>鹿児島水圏生物研究所<br>南さつま市農林水産課<br>坊津歴史資料センター<br>川辺地区理科研究協議会 | 科学的探求心を持ち，問題解決力を高め，未来を切り拓く児童生徒の育成 |

意欲的な小学校の先生方を支援するプログラム助成（２年目）

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目名 |
|---|---|---|---|
| 新宿区立富久小学校 | 東京都 | 東京大学<br>新宿区立余丁町小学校<br>新宿区立落合第四小学校<br>新宿区立四谷第六小学校<br>新宿区立天神小学校 | 都心部の小学校に通う児童の科学的な見方や考え方を育む小学校連携 |

| 学校名 | 都道府県 | 共同実施校 | 申請題目名 |
| --- | --- | --- | --- |
| 京都市野外教育研究会 | 京都府 | 京都市小学校教員 | 京都市野外教育研究会　自然観察プログラムおよび野外教育活動 |
| 兵庫県立尼崎北高等学校 | 兵庫県 | 尼崎市教育委員会（市内小中学校）<br>兵庫県教育委員会（県内公立高等学校）<br>尼崎市（公民館ほか）<br>青少年のための科学の祭典実行委員会 | ものづくり都市の子ども達と科学するペーパークラフト |
| 兵庫県立西脇高等学校 | 兵庫県 | 神戸大学人間発達環境学研究科<br>西脇市立重春小学校<br>たつの市立御津小学校<br>西脇市内のすべての小学校<br>たつの市内のすべての小学校 | 西脇高校の生徒と近隣地域の小学校教員が共同で野外調査書や実験書を作成し授業を実施 |
| 安芸太田町教育委員会 | 広島県 | 新しい学びプロジェクト（参加 21 団体）<br>東京大学 CoREF<br>日本技術士会中国本部<br>安芸太田町立加計小学校<br>安芸太田町立筒賀小学校<br>安芸太田町立上殿小学校<br>安芸太田町立戸河内小学校<br>安芸太田町立加計中学校<br>安芸太田町立筒賀中学校<br>安芸太田町立戸河内中学校<br>広島県立加計高等学校 | アクティブ・ラーニングによる主体的・協調的に学ぶ科学教育プログラム |
| 飯塚市立図書館 | 福岡県 | 福岡大学理学部物理科学科<br>福岡県立嘉穂高等学校<br>福岡県立嘉穂高等学校附属中学校<br>飯塚市の小中学校<br>飯塚市立潤野小学校<br>飯塚市立小中一貫校頴田校、他 | 公立図書館が地域で展開する新形式の読み聞かせ－「理科読」への挑戦（Ⅱ） |

公益財団法人
中谷医工計測技術振興財団　年報

32号

平成 31 年 3 月 20 日　発行

発行所　公益財団法人
中谷医工計測技術振興財団
〒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)5719-2125　FAX(03)5719-2135
URL：https://www.nakatani-foundation.jp/

編集・発行人　寶 田　馨

印刷　(有)盛光印刷所