

光量子医学研究センター

細胞イメージング研究分野

1 構 成 員

	平成17年3月31日現在
教授	1人
助教授	1人
講師（うち病院籍）	0人（ 0人）
助手（うち病院籍）	1人（ 0人）
医員	0人
研修医	0人
特別研究員	3人
大学院学生（うち他講座から）	1人（ 1人）
研究生	0人
外国人客員研究員	0人
技術職員（教務職員を含む）	0人
その他（技術補佐員等）	4人
合 計	11人

2 教官の異動状況

寺川 進（教授）（H. 5. 4. 1. ～現職）
 山本 清二（助教授）（H. 12. 3. 1. ～現職）
 櫻井 孝司（助手）（H. 8. 4. 1. ～現職）

3 研究業績

数字は小数2位まで。

	平成16年度
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	7編（ 0編）
そのインパクトファクターの合計	18.31
(2) 論文形式のプロシーディングズ数	2編
(3) 総説数（うち邦文のもの）	4編（ 4編）
そのインパクトファクターの合計	0
(4) 著書数（うち邦文のもの）	1編（ 1編）
(5) 報告書数（うち邦文のもの）	3編（ 3編）
そのインパクトファクターの合計	0

(1) 原著論文 (当該教室所属の者に下線)

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. Fan W, Yamamoto S, Hagiwara N, Wakazono Y, Sakurai T, Terakawa S : Caspase 3 activation induced by glutamate in rat cultured hippocampal neurons. *Neurotrauma Res* 15 : 41-44, 2003.

インパクトファクターの小計 [0.000]

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの (学内の共同研究)

1. Matsumoto Y, Yamamoto S, Suzuki Y, Tsuboi T, Terakawa S, Ohashi N, Umemura K : Na⁺/H⁺ exchanger inhibitor, SM-20220, is protective against excitotoxicity in cultured cortical neurons. *Stroke* 35 : 185-190, 2004.
2. Sakai T, Iwasaki S, Hoshino T, Terakawa S : Displacement of the reticular lamina with and without the tectorial membrane in the guinea pig cochlea. *Acta Otolaryngol* 124(7) : 778-82, 2004.
3. Koide M, Nishizawa S, Yamamoto S, Yamaguchi M, Namba H, Terakawa S : Nicotine exposure, mimicked smoking, directly and indirectly enhanced protein kinase C activity in isolated canine basilar artery, resulting in enhancement of arterial contraction. *J Cereb Blood Flow Metab*, 25 : 292-301, 2005.
4. Ohkura K, Kazui T, Yamamoto S, Yamashita K, Terada H, Washiyama, N, Suzuki T, Suzuki K, Fujie M, Ohishi K : Comparison of pH management during antegrade selective cerebral perfusion in canine models with old cerebral infarction. *J Thorac Cardiovasc Surg* 128 : 378-385, 2004.

インパクトファクターの小計 [11.60]

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

1. Takita M, Puka-Sundvall M, Miyakawa A, Hagberg H : In vivo calcium imaging of cerebral cortex in hypoxia-ischemia followed by developmental stage-specific injury in rats. *Neurosci Res* 48 : 169-173, 2004.
2. Yoshida Y, Tsuchiya R (Susuki R), Matsumoto N, Morita M, Miyakawa H, and Kudo Y : Ca²⁺-dependent induction of intracellular Ca²⁺ oscillation in hippocampal astrocytes during metabotropic glutamate receptor activation. *J Pharmacol Sci*, 97(2) : 212-8, 2005.

インパクトファクターの小計 [6.71]

(2) 論文形式のプロシーディングス

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. Sakurai T, Wakazono Y, Yamamoto S, Terakawa S : Slit-scanning microscope with a high NA objective lens for analysis of synaptic function. *Proc SPIE* 5322 : 108-113, 2004.

2. Yoshida TO, Kohno E, Sakurai T, Hirano T, Yamamoto S, Terakawa S : Model for monitoring the process of photodynamic therapy in patients. Proc SPIE, January 2005.

(3) 総 説

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. 寺川 進 GFPイメージング バイオ高性能機器・新技術マニュアル 小原収, 谷口寿章, 市川哲生, 猪飼篤 編 タンパク核酸酵素8月増刊 共立出版 49(11):1641-1646 (2004)
2. 山本清二, 櫻井孝司, 若園佳彦, 寺川 進 ビデオイメージングによる生細胞機能解析 医学のあゆみ 210, 172-176 (2004) 7月号
3. 山本清二, 櫻井孝司, 若園佳彦, 寺川 進 : ビデオイメージングによる生細胞機能解析. 医学のあゆみ 210:1172-1176, 2004

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し, 共著者が当該教室に所属していたもの (学内の共同研究)

1. 小出昌代, 西澤 茂, 山本清二, 難波宏樹, 寺川 進 喫煙を模したnicotineの低濃度長期暴露が脳血管トーンスの調節に与える影響について 脳卒中の外科 (増刊号) 32, 68-73, 2004 (脳血管攣縮20, 68-73)

(4) 著 書

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. 寺川 進 早期発見への最先端医学 「未病の医学」(分担執筆) pp.12-17, 2005 静岡新聞社発行

(5) 報 告 書

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. 山本清二 : 科学研究費補助金 (基盤研究C-2) 研究成果報告書「興奮性神経細胞死における神経細胞核DNA損傷・修復の1分子イメージングによる評価」
2. 山本清二 : 科学研究費補助金 (基盤研究B-2) 研究成果報告書「脳ミトコンドリア障害のPETによる in vivo 評価法とトレーサーの開発」
3. 寺川 進 : 科学研究費補助金 (基盤研究B-2) 研究成果報告書「対物レンズ照射型エバネッセンス顕微鏡によるイオンチャネルゲート動態の解析」
インパクトファクターの小計 [0.000]

4 特許等の出願状況

	平成16年度
特許取得数 (出願中含む)	16件

1. 宮川厚夫ほか 内視鏡 H16. 4. 1 特願2004-109306
2. 寺川 進ほか DLP式共焦点・エバネッセンス同時走査顕微鏡 H16. 11. 30 特願2004-344681

3. 宮川厚夫ほか インドシアニングリーン定量カテーテル H16. 12. 7 特願2004-353711
4. 寺川 進ほか エバネッセントカテーテル H16. 12. 2 特願2004-348482
5. 宮川厚夫ほか 内視鏡 H17. 1. 28 特願2005-22148
6. 寺川 進ほか 光ビーム同期式イメージセンサとカメラシステム H17. 2. 1 特願2005-024687
7. 若園佳彦ほか DLPを用いたファイバー共焦点顕微鏡 H17. 2. 9 特願2005-32961
8. 寺川 進ほか ロボットの駆動方法 H17. 2. 9 特願2005-33367
9. 寺川 進ほか アクチュエーター駆動する多指バンド H17. 2. 16 特願2005-39457
10. 寺川 進ほか 単一の撮像装置で連続取得したビデオ映像による立体表示法 H17. 3. 22 PCT/
JP2005/05095
11. 寺川 進ほか DLP式スリット光走査顕微鏡 H17. 3. 29 特願2005-094188
12. 寺川 進ほか DLP式エバネッセンス走査顕微鏡 H17. 3. 29 特願2005-93685
13. 山本清二ほか 手術支援装置、方法及びプログラム H17. 3. 29 PCT/JP2005/005855
14. 櫻井孝司ほか ファイバー共焦点顕微鏡における生体用対物レンズ H17. 3. 29 特願2005-93685
15. 櫻井孝司ほか カテーテル留置システム H17. 3. 30 特願2005-97522
16. 寺川 進ほか 遠隔診断装置によるバーチャルホスピタル H17. 3. 30 特開2005-098556

5 医学研究費取得状況

	平成16年度
(1) 文部科学省科学研究費	4件 (1,180万円)
(2) 厚生科学研究費	0件 (0万円)
(3) 他政府機関による研究助成	0件 (0万円)
(4) 財団助成金	0件 (0万円)
(5) 受託研究または共同研究	2件 (200万円)
(6) 奨学寄附金その他 (民間より)	1件 (100万円)

(1) 文部科学省科学研究費

寺川 進 (代表者) 基盤研究 (B) (2) 対物レンズ照射型エバネッセンス顕微鏡によるイオン
チャンネル動態の解析 170 万円 (継続)

山本清二 (代表者) 基盤研究 (B) (2) Intravital cell imaging法の開発と脳科学への応用－single
cell の知見のin situでの検証－ 460万円

山本清二 (公募研究・代表者) 特定領域研究 (2) Intravital cell imagingによる脳内カルシウム
信号の検討 360万円

櫻井孝司 (代表者) 奨励研究 (B) 単一グルタミン酸受容体チャンネルにおけるカルシウムイオン
流入過程の画像化 190万円 (継続)

(5) 受託研究または共同研究

共同研究 (ニコン(株)) 培養細胞の遺伝学的および生理学的な機能の状態を客観的かつ包括的に
評価する新規バイオイメーシング手法の確立 共同研究費 150 万円

共同研究 (株)メディカル・アプライアンス) 微弱電磁波の生体効果の研究 共同研究費 50万

円

6 特定研究などの大型プロジェクトの代表、総括

1. 寺川 進（代表者）文部科学省知的クラスター創成事業 オプトロニクスクラスター構想 総額 5,305.3万円
2. 寺川 進（拠点リーダー）文部科学省21世紀COEプログラム メディカルフォトフォトニクス 総額 13,700万円

7 学会活動

	国際学会	国内学会
(1) 特別講演・招待講演回数	0件	5件
(2) シンポジウム発表数	1件	3件
(3) 学会座長回数	0件	2件
(4) 学会開催回数	0件	1件
(5) 学会役員等回数	0件	3件
(6) 一般演題発表数	5件	

(1) 国際学会等開催・参加

3) 国際学会・会議等でのシンポジウム発表

1. Namba H, Tokuyama T, Yokota N, Sakai N, Tanaka T, Yamamoto S : Imaging guided surgery for gliomas (Symposium) 6th International Congress on Minimally Invasive Neurosurgery. 2005. 3. 7-10, Nagoya, Japan.

5) 一般発表

口頭発表

1. Yoshida TO, Kohno E, Sakurai T, Hirano T, Yamamoto S, Terakawa S : Model for monitoring the process of photodynamic therapy in patients. The 10th Congress, Asian-Pacific Association for Laser Medicine and Surgery, 15th Congress, International YAG Laser Society, Shanghai, China. 2004. 11. 5-7
2. Sakurai T, Wakazono Y, Yamamoto S, Terakawa S. Fiber-coupled Nipkow disk scanning confocal microscope. Photonics Asia. Beijing, China 2004. 8

ポスター発表

1. Yamamoto S, Golanov EV : Stabilizing effect of cerebellar fastigial nucleus stimulation on neuronal mitochondrial membrane potential. Experimental Biology (FASEB), 2004. 4. 17-21, Washington DC, USA
2. Golanov EV, Yamamoto S: Uncoupling Protein 4 : possible involvement in neurogenic neuroprotection. Experimental Biology (FASEB), 2004. 4. 17-21, Washington DC, USA
3. Yamamoto S, Tsuboi T, Sakurai T, Wakazono Y, Terakawa S : Inositol trisphosphate

pathway as a death signal induced by mitochondrial toxin in the hippocampal neurons.
Society for Neuroscience 34th Annual Meeting, 2004. 10. 23-27, San Diego, Ca, USA.

(2) 国内学会の開催・参加

1) 主催した学会名

寺川 進 第13回浜松医科大学メディカルホトニクス・シンポジウム

2) 学会における特別講演・招待講演

1. 山本清二：光によるイメージングの現状と将来. 第17回バイオメディカル分析化学シンポジウム, 2004. 6. 4-6 西宮
2. 山本清二：浜松医科大学光量子医学研究センターと医工・産学連携. 浜松商工会議所定例技術交換研究会, 2005. 3. 30 浜松
3. 寺川 進「Fiber-coupled confocal microscope」第27回日本分子生物学会 ランチョンセミナー 2004. 12. 10 (神戸)
4. 寺川 進「光による生細胞のイメージング」静岡県遠州学会医会 2005. 2. 4 (浜松)
5. 寺川 進「メディカルフォトニクス」第109回遠江医学会 2005. 11. 21 (浜松)

3) シンポジウム発表

1. 櫻井孝司, 若園佳彦, 山本清二, 寺川 進 エバネッセント照明とスリット照明蛍光顕微鏡法による細胞の機能解析 第81回日本生理学会大会 シンポジウム 2004. 6. 2-4 札幌
2. 山本清二：Intravital Cell Imaging による脳内カルシウム信号の検討. 文部科学省特定研究班「神経グリア回路網」サマーワークショップ. 2004. 7. 15-16, 熱海
3. 山本清二：Intravital Cell Imaging による脳内カルシウム信号の検討. 文部科学省特定研究班「神経グリア回路網」平成16年度成果発表会. 2005. 1. 7-8, 東京

4) 座長をした学会名

1. 寺川 進 第27回日本神経科学会・第47回日本神経化学会合同大会 9. 21-21. 2004 (神戸)
2. 寺川 進 第4回日本再生医療学会総会 2005. 3. 1-2 (大阪)

(3) 役職についている国際・国内学会名とその役割

寺川 進 日本生理学会 評議員

寺川 進 日本バイオイメーキング学会 理事

寺川 進 日本バイオイメーキング学会 英文誌 'bioimages' 編集長

8 学術雑誌の編集への貢献

	国 内	外 国
学術雑誌編集数 (レフリー数は除く)	2件	0件

(1) 国内の英文雑誌の編集

1. Neurotrauma Research (Japanese Neurotrauma Society), Editorial Board (山本清二), PubMed/Medline登録無, インパクトファクター無
2. Bioimages (Japanese Bioimaging Society), Editor in Chief (寺川 進), PubMed/Medline登録無, インパクトファクター無

(2) 国内外の英文雑誌のレフリー

山本清二 (2回) : J Neuro trauma (USA), Brain Research(Nadlrland)

9 共同研究の実施状況

	平成16年度
(1) 国際共同研究	1件
(2) 国内共同研究	2件
(3) 学内共同研究	11件

(1) 国際共同研究

1. Dr. Eugene V Golanov, University of Mississippi Medical Center, Department of Neurosurgery (Jackson, MI, USA), "The imaging for the mechanism of the neuroprotection elicited by brain electrical stimulation" 個別実験によるデータ交換している。平成16年度科学研究費

(2) 国内共同研究

1. 青柳恭太, 高橋正身 (北里大学医学部) 「エバネセンス顕微鏡による細胞膜上のラフトの解析」 本研究室の顕微鏡を使用した観察結果を織り込んだ研究。
Aoyagi K, Sugaya T, Umeda M, Yamamoto S, Terakawa S, Takahashi M: The activation of exocytotic sites by the formation of phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate microdomains at syntaxin clusters. J Biol Chem. 280 : 17346-52. 2005
2. 永松信哉, 今泉美佳 (杏林大学医学部) 「GFPによるインスリン放出機構の解明」 個別の蛍光顕微鏡観察によるデータの集積。

(3) 学内共同研究

1. 大澤 恵, 梶村昌良 (内科学第1) 「ヒスタミン H2 受容体・GFP 融合蛋白を用いた可視的観察による H2 受容体のリガンド刺激による調節機構の解明」
2. 土井松幸, 佐藤重仁 (麻酔蘇生学) 「光テクノロジーを利用した血中微量物質の連続的定量法の開発」
3. 中島芳樹, 佐藤重仁 (麻酔蘇生学) 「Intravital videomicroscopy による小腸微小循環動態の検討」
4. 小出昌代, 西澤 茂 (脳神経外科学) 「くも膜下出血後の脳血管攣縮の病態に果たす PKC の役割の光学的手法による検討」
5. 永房鉄之, 長野 昭 (整形外科) 「破骨細胞の骨吸収能の解析」

6. 大倉一宏，数井暉久（外科学第1）「脳梗塞モデルにおける antegrade selective cerebral perfusion による脳循環動態の検討」
7. 山本淳考，難波宏樹（脳神経外科）「新規光増感剤による脳腫瘍光線力学療法の検討」
8. 林 秀晴・中村玲子（内科学第3）「高忠実度イメージングによる遠隔診断」
9. 小出幸夫（微生物学）「走査顕微鏡による DNA 解析」
10. 花井洋行・田中達郎（光学医療診療部）「内視鏡の高機能化」
11. 難波宏樹・徳山 勤（脳神経外科学）「脳手術ナビゲーションシステムの開発」

10 産学共同研究

	平成16年度
産学共同研究	8件

1. 共焦点法を含む新型走査顕微鏡システム開発（文部科学省知的クラスター創成事業 オプトロニクスクラスター構想）浜松医大光量子センター，浜松医大医学部，静岡大学工学部，横河電機(株)
2. 高機能内視鏡と手術ナビゲーションシステム開発（文部科学省知的クラスター創成事業 オプトロニクスクラスター構想）浜松医大光量子センター，浜松医大医学部，静岡大学情報学部，パルステック工業(株)
3. 手術ナビゲーションシステム開発（文部科学省知的クラスター創成事業 オプトロニクスクラスター構想）浜松医大光量子センター，浜松医大医学部，静岡大学情報学部，フジノン(株)
4. 手術ナビゲーションシステム開発（文部科学省知的クラスター創成事業 オプトロニクスクラスター構想）浜松医大光量子センター，浜松医大医学部，本多電子(株)
5. 高機能内視鏡開発（文部科学省知的クラスター創成事業 オプトロニクスクラスター構想）浜松医大光量子センター，浜松医大医学部，ジーマ(株)
6. 遠隔医療と高忠実度色再現イメージングシステム開発（文部科学省知的クラスター創成事業 オプトロニクスクラスター構想）浜松医大光量子センター，浜松医大医学部，静岡大学工学部，浜松ホトニクス(株)
7. 微弱電磁波の生体効果の研究 浜松医大光量子センター，(株)メディカル・アプライアンス
8. 培養細胞の遺伝学および生理学的な機能の状態を客観的かつ包括的に評価する新規バイオイメージング手法の確立 浜松医大光量子センター，ニコン(株)

12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

1. 新型顕微鏡の開発

（櫻井孝司，若園佳彦，山本清二，寺川 進）

共焦点顕微鏡法を生体内で実現することを目指して，イメージングファイバーで伝送された像を共焦点顕微鏡を通して観察するための試作機の改造と高機能化を追求した。この装置の課題点として，背景蛍光の強度が高まる傾向があり，この原因を，イメージングファイバー結合させる第2対物レンズの固定に用いる接着剤にあることを突き止めた。接着剤の種類を選ぶことにより性能の向上を目指した。

Digital Micro Mirror Device (DMD)を共焦点ピンホールとして使用した蛍光顕微鏡を試作した。この顕微鏡によって、実際に生物資料の共焦点蛍光像を捉えることができた。マイクロレンズ付きニプコウ板を走査装置として用いる共焦点顕微鏡において、DMDを光の入射光路に置き、照明領域を限定する応用は、光刺激や光学観察のROIの設定に有用である。このような装置を構築するための基礎試験を進めた。

波長1034 nmにおいて最大出力を発生し、運用操作が容易であることを特徴とする半導体型フェムト秒パルスレーザーを用いて2光子励起を行うことを試みた。GFPとYFPおよびアクリジンオレンジの蛍光が観察でき、515 nmに相当する緑の光による励起ができることが確認された。集光したレーザー光を2次元走査することにより蛍光画像が容易に得られた。長い波長の光の組織深達力のよさを利用した、深部の光学断層画像を捉える応用に向いており、in vivoイメージングのための手法として有用なツールとなることが明らかになった。

2. 内視鏡の高機能化

(宮川厚夫, 寺川 進, 山本清二, 花井洋行¹, 阿部圭一², B. Tsagaan², 橋本岳³; ¹光学医療診療部, ²静岡大学・情報学部, ³静岡大学・工学部)

内視鏡先端からビーム光を複数、平行に投光することにより、対象物表面に光スポットによる目盛りを投影して、対象内の構造の大きさを測れるようにすることを目標とした。実際に臨床的に使用される直径13 mmの下部消化管用内視鏡の先端アルミブロック部に4本の計測目盛投光用光学系を取り付ける溝を新たに形成した。これに、ビデオカメラや観察用照明光源、鉗子孔用チューブなどの取付けを行った。計測目盛投光用光学系は、シングルモード光ファイバーと直径1.0mmのマイクロレンズを組み合わせて製作した。光源に635 nmのレーザダイオードを用いた。計測目盛用光ビームは、直径0.2 mmの絞りを使用した結果、投光用光学系の直前で0.2 mm、約100 mm離れて0.5 mmのビーム径が得られた。このビーム光はほとんど拡散しておらず、期待どおりの性能であり、初期目標の達成が可能であること示された。しかし、これらの投光用光学系を組み立てるマイクロマニピュレータの剛性不足と、固定用接着剤の硬化収縮による位置ずれで、計測目盛用光ビームは十分な光量が得られなかった。この結果、計測目盛投光用光学系の内視鏡先端部への取付けは課題として残された。

3. 手術ナビゲーション法の開発

(山本清二, 寺川 進, 難波宏樹¹, 徳山 勤¹, 山本淳考¹, 阿部圭一², B. Tsagaan², 中谷広正², 早川邦夫³; ¹脳神経外科, ²静岡大学・情報学部, ³静岡大学・工学部)

超音波スキャナーで脳の深部情報を撮影し、その時の超音波スキャナー自体の位置情報を3Dレーザー計測装置で測定することを試みた。その際のマーカーおよび超音波プローブの形状について検討を行った。MRIを変形させるシステムを完成させるための入力データとして、3Dレーザー計測像、ビデオ画像、超音波エコー像の3つを同一の脳神経外科手術で取得することに成功し、3つの画像データを共通の空間座標に載せることが可能であることが分かった。超音波プローブの形状・マーカーに関しては、データの取得が短時間で可能なCCDカメラによる方が実用的であるという結論に至った。そのマーカーとしては、翼状のマーカーにCCDカメラで認識できる的状の円

形目印が最適であろうと思われた。また、超音波プローブの形状は筒型で、プローブ自体をあまり動かす必要のない超音波発振器が自動回転するタイプが望ましいとの結論に至った。結果の一部は、国際シンポジウム6th International Congress on Minimally Invasive Neurosurgery (March 7-9, 2005, Nagoya) で口頭発表した (Image guided surgery for gliomas: Namba H. et al.)。

上記の座標軸の共有を目指して、レーザスキャナで計測した3次元形状とそれに付随するCCDカメラで撮影したカラー画像とのレジストレーションの方法を開発した。2つの方法で得た空間座標を持つ画像の間のレジストレーションについては、ほぼ実用的な位置合わせが行えた。マーカーを手がかりにMRI画像から抽出された脳表面との位置合わせも行った。MRI画像から脳領域を抽出する処理については、正解画像と抽出結果との間の平均距離の算定から、本研究で用いるのに十分な正確さが得られたものとする。

さらに、腫瘍の範囲を光学的に判定するための基礎的知見を得る目的で、脳腫瘍に取り込ませた色素の蛍光を検出する方法 (光線力学診断) に関する動物 (ラット脳腫瘍モデル) 実験を行った。ラット脳腫瘍モデルにて、光線力学療法に用いる光増感剤 (ATX-S10) を用い、脳腫瘍イメージングを in vivo で行って、脳腫瘍の蛍光像を取得することに成功、術中に蛍光観察して脳腫瘍を識別できることを立証した。実験結果は、第63回日本脳神経外科学会総会 (平成16年10月6-8日, 名古屋) で口頭発表した (光線力学療法に用いる新規光増感剤ATX-S10Na(II)による脳腫瘍イメージング: 山本清二, 山本淳考, 平野達, 寺川 進, 難波宏樹)。

4. 遠隔診断法の開発

(寺川 進, 中村玲子, 林 秀晴¹, 下平美文², 松井 隆², 伊藤友孝²; ¹内科学第3, ²静岡大学・工学部)

昨年に続き、インターネットを介して遠隔地の患者の診察をおこない、適切な診断を下すことのできるようなイメージングシステムの構築を推進した。遠隔操縦ロボットアームの手先に電極を取り付け、心電図をほぼリアルタイム計測することを進め、また、超音波エコー装置のプローブを取り付け、胸部と腹部のBモード断層像を遠隔的に観察することができるようにした。これらの診断機器を操作するロボットの動作について、安全性と容易な操作性を確保するための工夫を施した。ロボットアームの端部にもカメラを取り付け、必要に応じて、部屋を見渡すカメラと切り替えられるようにした。ロボットアームは50 gの力で押し戻せるように、センサーを介してアクティブな制御をし、人体の存在が想定される空間にはアームが入らないようにする制限をつけた。さらに、遠隔地にいる医師のインターネットを介しての操作を支援するため、実時間位置推定プログラムにより、ロボットアームの動作時に、その仮想的な位置をビデオカメラが捉えた画像を表示するモニター画面上にCGとして重ねて表示する機能を付加した。これによって、初心者でも目標位置を行き過ぎることなくロボットアームの先端を望むところに動かすことができるようになった。また、遠隔診断のために色情報を現実の色に忠実に伝送するカメラと表示装置を開発し、それによって、いくつかの皮膚病変の撮影記録をして、その再生画像の評価を行った。

5. 脳虚血による神経細胞死とDNA断片化の分子機構

(茨木京子, 王 勇, 櫻井孝司, 山本清二, 寺川 進)

グルタミン酸毒性によって引き起こされる神経細胞死に際して、微分干渉顕微鏡法によって早くから観察される核内顆粒の出現が、どのような分子的な変化を反映するものかを調べた。特にDNAの断片化についてコメットアッセイ法を併用して解析した。 H_2O_2 処理のような酸化的ストレスを与えると大きな尾を引いたコメット模様が見られ、DNAが断片化することが確認できた。培養ラット海馬神経細胞に1 mMの濃度でグルタミン酸処理をすると、少し小さいが、同様のコメット模様が見られた。また、アポトーシス反応を引き起こすといわれるスタウロスポリンを培養液に添加した場合には、大きなコメット模様が見られた。これらのことから、微分干渉像に現れる核内の顆粒は、DNAが断片化し、DNA分布の均一性が破られて生ずるものと結論された。脳内での神経細胞死の過程に関わる分子信号を解析するために、プローブとなる色素の脳実質への負荷法を比較検討し、染色できたものについて、イメージングファイバー結合式蛍光顕微鏡により観察することを試みた。実際に、生きたラットの大脳基底核内において、GFPを発現した神経細胞の形態を蛍光像として捉えることに成功した。同法を、全脳虚血ストレス時の変化を観察するために、応用できることがわかった。

6. フコイダンの細胞接着と血液凝固に対する効果

(呉 鴻，櫻井孝司，山本清二，寺川 進)

HeLa細胞を培養し、培養液に2 mg/mlの濃度でフコイダンを添加してその効果を調べた。フコイタン添加24時間後に半分程度の細胞がガラス基質より剥離した。それらの細胞の半分程度は死滅したが、残りは死ぬことなく、フコイダンのない培養液中に移して培養を続けると接着し増殖した。同じ濃度で、ラットの血液にフコイダンを添加すると、血液の凝固能が大きく抑えられた。これらの効果は、フコイタンポリマーのもつ多数の SO_3^- 基が細胞表面の負電荷と競合して、細胞が他の細胞やガラス基質に接着するのを阻害するために起こると考えられた。

13 この期間中の特筆すべき業績、新技術の開発

1. イメージ伝送をする光ファイバーにより、生きた動物個体内の深部の顕微鏡画像を得る技術を開発した。これまでにない倍率で、ラット大脳基底核のタンパクリン酸化酵素と融合させたGFPを発現する神経細胞の画像を初めて捉えた。生きたラットの肝内類洞における蛍光染色好中球の画像も捉えることができた。この成功は、in vivoイメージングのトレンドを加速させ、本来の構築を持つ組織内での生きた細胞の活動を解析する顕微鏡観察の分野を広げることに貢献した。
2. これまでより長波長のフェムト秒パルスレーザーを用いた2光子励起蛍光顕微鏡の構築は、2光子励起法の世界を拡張するものである。励起できる色素の範囲が広がり、より長波長側に蛍光スペクトルを持つ色素の観察が容易になった。細胞等の生物標本の自家蛍光による蛍光画像のコントラストの低下が避けられ、長波長であることにより、細胞への光毒性も低下するものと考えられる。2光子励起による蛍光観察に応用できる色素が増加したことは、蛍光観察法への大きな貢献である。
3. 大脳と海馬の表層部にプローブ色素を負荷する方法について、マイクロピペットを介した空圧

注入法、硬膜下投与法などを実施し、その染色結果を調べた。Ca反応を捉えるFluo-3、NOを捉えるDAF-FM、 O_2 を捉えるMitoSOX、ONOOを捉えるAPFなどについて十分な染色ができることが分かった。GFP融合蛋白の発現を目指して、プラスミドを側脳室内に投与する手法で、神経細胞へのGFP融合蛋白の発現が得られることがわかった。脳の深部においても、イメージングファイバー結合式共焦点顕微鏡により、これらの蛍光色素の信号が得られるようになった。

14 研究の独創性、国際性、継続性、応用性

1. 光学装置の開発においては高い独創性を発揮しており、その成果は、共同研究企業を介して、国際的に通用する製品を育成することに通じている。知的クラスターの研究活動の中で開発を進めている光学イメージング装置は確実な製品化を目指すものであり、5年間の継続性を持った計画の中で研究を戦略的に進めている。開発した光学観察装置は、顕微鏡や内視鏡として実用化される見込みであり、その高い応用性が明らかである。

15 新聞、雑誌等による報道

1. 寺川 進 「癌早期発見のための最先端研究」 静岡新聞 2004. 5. 28
2. 同 上 ラジオ
3. 新聞5紙「新型顕微鏡－ファイバー顕微鏡」 2004. 11
4. 新しい内視鏡 静岡テレビ 午後6時ニュース 2004. 10. 28