

Group-2A

生体計測Ⅱ

医用画像

看護・介護・障害者支援

細胞工学・医用材料

複合感覚刺激が血流および皮膚温度に及ぼす影響

畠中智加¹, 萩原啓²

¹立命館大学大学院 情報理工学研究科, ²立命館大学 情報理工学部

1. はじめに

現代社会では、ストレスや疲労によって引き起こされる過労死や超過労働が問題となっており¹⁾²⁾、短時間での効率的な休息を行うことが求められている。

本研究では外部刺激を複合的に与えることで短時間で効率的な休息を取り、リラックスとリフレッシュのメリハリをつけることを目的とする。そのための前課題として、本実験では複合感覚刺激の相乗効果を検証する実験を行った。刺激としては温熱刺激、冷却刺激および振動刺激を用いた。これらの刺激を使用した理由としては、文化的影響が少ないためである。

2. 実験方法

本実験では被験者にレーザー組織血流計(オメガウェブ)および皮膚温度計測機器(グラム)を装着した状態で腕を机の上に乗せて着席してもらい、温度刺激を手甲に、振動刺激を手掌に与え、血流および皮膚温度の変化を計測した³⁾。先行研究より温熱刺激を50°C、冷却刺激を20°Cとし、振動周波数は30Hzとした⁴⁾⁵⁾⁶⁾。

3. 結果

赤血球成分(MASS)のタスク中における値の平均値を算出したグラフを示す(Fig. 1)。温度刺激の種類および有無に関わらず、振動刺激を与えたときのみ高い値をとっていることがわかる。

手甲におけるタスク中およびタスク後の皮膚温度の変化量を算出したグラフを示す(Fig. 2)。タスク中において、温熱刺激を与えた場合では振動刺激を与えない場合の方が、冷却刺激を与えた場合では振動刺激を与えた場合の方が変化量が大きいことがわかる。またタスク後においては、振動刺激を与えない場合の方が変化量が大きいことがわかる。

4. 考察

血流において振動刺激を与えた場合に高い値を取っていることから(Fig. 1)、局所的な温度刺激を与えた場合においては振動刺激のみが血流の促進に効果があると考えられる。

また皮膚温度においては、タスク中において冷却刺激を与えた場合では振動刺激を与えた場合の方が変化量は小さかった(Fig. 2)。これは、冷却刺激により冷やされた血液が振動刺激による血流の促進によって巡ることで体を冷やすことを妨げる作用が働いたからではないかと考えられる。

さらに、タスク後において温熱刺激を与えた場合および冷却刺激を与えた場合のいずれでも、振動刺激を与えた場合の変化量が小さいことが示唆された(Fig. 2)。これは温熱刺激および冷却刺激によって変化した皮膚温度が、振動刺激を複合的に与えることによる血流

の促進によって元の皮膚温度へ戻ることを妨げられたためではないかと考えられる。

謝辞

本研究を行うにあたり、実験に協力していただきました立命館大学情報理工学部知能情報学科生体情報研究室の皆様と、被験者として参加していただいた皆様に深く感謝いたします。

参考文献

- 厚生労働省:「労働時間等の現状について」、<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2010/03/dl/s0312-10f.pdf>、2010
- 厚生労働省:「脳・心臓疾患と精神障害の労災補償状況」、<http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/2r9852000002coxc.html>
- 桑原浩平他:「熱伝達率を加味した平均皮膚音の算出式」、人間と生活環境、pp.3-40, 2001
- 宮岡徹他:「手指および手掌における振動感覚の順応」、The Japanese Journal of Psychonomic Science Vol.5(号).No2, pp.63-69,1986
- 井上他:“Influence on Skin Temperature and Blood Flow by Local Thermal Massage Stimuli,”第27回生体・生理工学シンポジウム論文集、2012
- R. F. シュミット他:「コンパクト生理学」、医学書院、1997

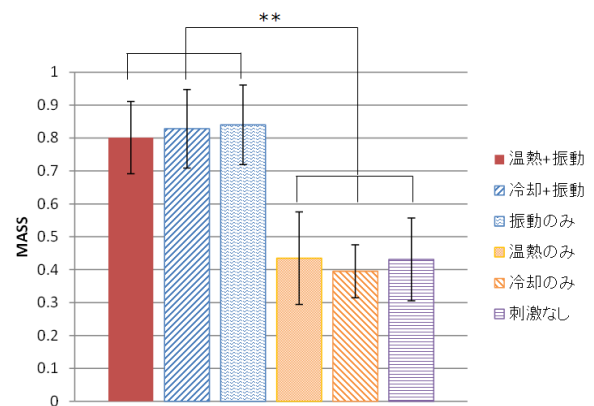


Fig. 1 赤血球成分(MASS)のタスク中における平均値

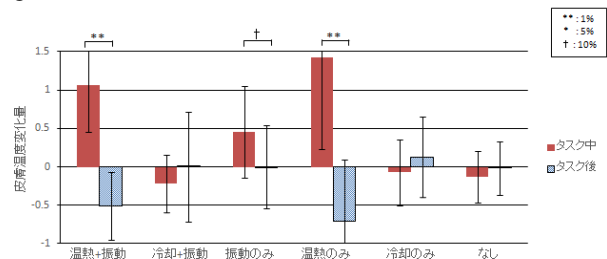


Fig. 2 手甲におけるタスク中・タスク後の変化量

温熱環境下における循環動態

青木彩夏¹, 寺田信幸²

¹ 東洋大学大学院工学研究科機能システム専攻, ² 東洋大学生体医工学研究センター

1. はじめに

近年の猛暑により, 屋外作業や労働環境, 運動環境での熱中症などの暑熱障害が問題となっている. 一方, 美容, 健康ブームにより温浴や温熱療法に関する研究も盛んに行われており, 様々な分野で効果が期待されている. 温熱環境に関する研究は古くから盛んに行われ, 体温調節系, 循環調節系, 体液調節系がそれぞれと密接に影響し合っている¹. 温熱刺激は強度, 時間, 頻度といった因子によって生体の反応が異なり, 詳細な効果及びそのメカニズムの全貌は明らかにされていない. その理由として実験の性質上, 連続したデータの取得が困難である事が挙げられる. そこで, 実験室内に簡易人工気象ボックスを構築し, 温熱環境下における循環動態を継続的に取得したので報告する.

2. 実験方法

2.1 実験環境

実験室内に, 家庭用小型サウナ(コロナ社製ナリッチ)を利用して簡易人工気象ボックスを構築した. ボックス内の被験者に装着したセンサー類は, ボックス外実験室の測定装置と有線で接続されている. 実験はサウナを通常運転させる事でナミストを発生させ, ボックス内の温度を40度とし湿度を100%とした. また, ボックス外の実験室は温度を28±1度とし湿度を55±5%とした.

2.2 実験プロトコル

実験は全て座位で行った. 実験室で10分間の安静状態(pre)を計測後, ボックス内で30分間の温熱負荷を与えた. その後再び実験室で30分間の安静状態(post)を計測し, 経過を観察した. 実験室とボックスとの移動等に5分程の時間を要した. 被験者は, 実験に関する説明を行い参加することに同意を得た20代の健常な成人男性6名とした.

血圧は生体情報モニタ(オムロン・コーリン社製BP-608 Evolution II)を用い, オシロメトリック法により1分毎に拡張期血圧と収縮期血圧を計測した. 解析時に拡張期血圧と収縮期血圧から平均血圧を算出し, 1分毎のデータとした. 心電図, 一回拍出量, 心拍出量, 心拍数は, フィジオフィロー(マナテック社)を用いて同時計測を行った.

3. 実験結果および考察

Fig. 1に総末梢血管抵抗(TPR), 心拍出量(CO), 心拍数(HR), 平均血圧(mBP)の結果を示した. 血圧は温熱環境下においても大きな変化を示さず一定の範囲内で推移した. 総末梢血管抵抗は温熱環境に暴露されると低下し始め, 暴露中低下し続けた. 心拍数と心拍出量は温熱環境下では上昇を続け, 人工気象ボックスから退室すると急激に低下し, 元のレベルに戻った. 低湿度環境下では, 発汗とその気化熱により体温を低下させるが, 高湿度環境下では汗の気化による熱

放散が抑制され, 結果として体温は上昇し, 皮膚血流量や発汗量は増加し続けてしまう. 皮膚血管床の拡張は総末梢血管抵抗の低下を引き起こす. その結果, 血圧は低下するが, 血圧を維持する調節系が働き, 心拍数, 心拍出量の増加が引き起こされたと考えられる².

今回, 温熱環境下における循環動態を継続的に取得する事ができた. 今後は, ミスト粒子のサイズによる差や首から下だけを加温する温熱療法との比較を行っていきたい.

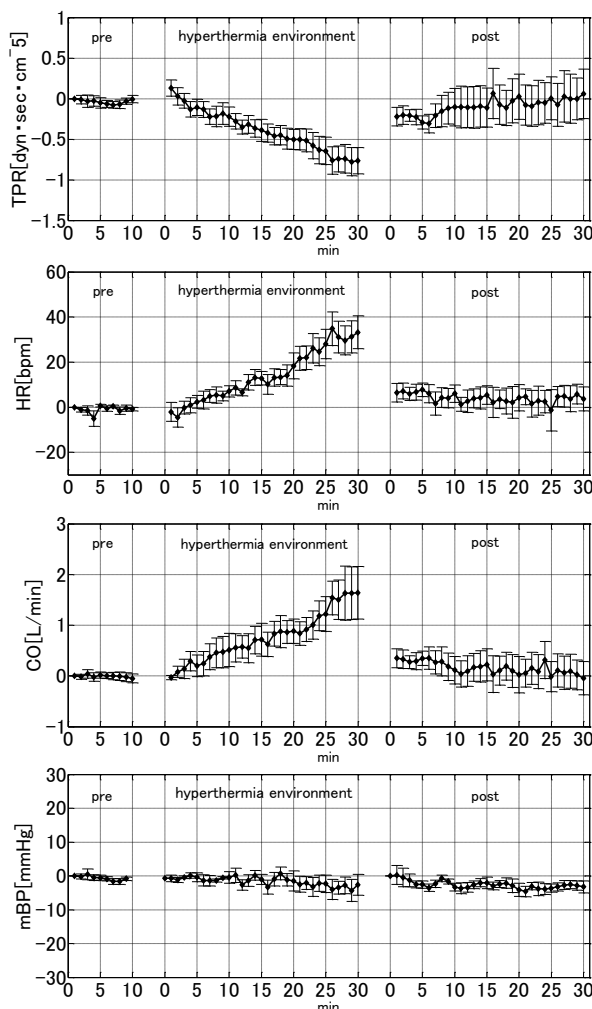


Fig. 1 Changes in total peripheral resistance (TPR), heart rate (HR), cardiac output (CO) and mean blood pressure (mBP) during the hyperthermia environment. n=6, mean ± S.E.

参考文献

- 1) 彼末一之監修:「からだと温度の辞典」, 朝倉書店, 2010
- 2) F.Yamazaki, S.Sagawa, R.Torii, Y.Endo, K.Shiraki: "Effects of acute hyperthermia on the carotid baroreflex control of heart rate in humans." Int J Biometeorol, Vol.40, pp200-205, 1997

外耳道内圧変動と静脈血行動態の関連性

水田萌木¹, 寺田信幸²

¹東洋大学大学院理工学研究科生体医工学専攻, ²東洋大学生体医工学研究センター

1. はじめに

我々は、耳栓状の装置を装着し、外耳道の内圧変化を低周波差圧センサーで検出することにより得られる体振動から、心拍に対応した信号を取り出すことに成功した¹⁾。この外耳道空間で検知される微弱な体振動の中心的なものが頸静脈圧変動であると考えられた。そこで今回、体位変換と飲水により静脈血行動態を変化させた際の外耳道内圧を計測し、その生理的妥当性を検討した。

2. 実験

2.1 実験装置

耳栓状の装置を装着し、外耳道の内圧変化を低周波差圧センサーで検出することにより得られる体振動から、頸静脈圧変動成分を抽出した。フィジオフロー(マナテック社)を用いて心電図、一回拍出量、心拍出量、心拍数を、フィナプレス(FMS社)を用いて連続血圧を、ストレインゲージ(Hokanson社)を用いて下肢の容積変化を、ピエゾ式呼吸ピックアップセンサー(ADInstruments社)を用いて呼吸変動を同時計測した。

2.2 体位変換実験

チルトベッドを用いて受動的に仰臥位の状態からhead-up tilt(HUT) 60°とhead-down tilt(HDT) 15°を5分間、以下の手順で行った際の外耳道内圧変動と上述の項目を同時計測した。

安静仰臥位→HUT60°→安静仰臥位→HDT15°→安静仰臥位

2.3 飲水実験

安静仰臥位で15分間測定した後、1リットルのスポーツ飲料を、2分間で全て飲み干すよう指示した。飲水後、仰臥位で45分間、体位変換実験と同様に計測を行った。

3. 結果・考察

3.1 体位変換実験

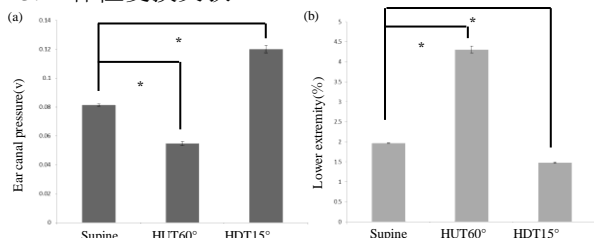


Fig.1 Changes in the ear canal pressure (a) and the volume of the lower extremity (b) during 60°HUT, 15°HDT. Values are means \pm SE. n=5.

* Significant change from supine position.

ヒトが仰臥位から立位になると重力により300~800mLの体液が胸腔内から下肢や腹部に移動し、静

脈還流が減少する²⁾。一方、HDT15°においては、これとは逆の変化が起こる。外耳道の内圧波形は、HUT60°では振幅が小さくなり、HDT15°では振幅が大きくなった。下肢容積は、HUT60°では増大し、HDT15°では減少した。これらの結果から、外耳道内圧波形の振幅は、静脈の血行動態を反映しており、頸静脈の血液量が多いと振幅も大きくなる。静脈は伸展性が高く重力の影響を強く受ける³⁾。今回の結果は重力の影響により体液がシフトし、上半身の静脈血流量が増加していることを示している。

3.2 飲水実験

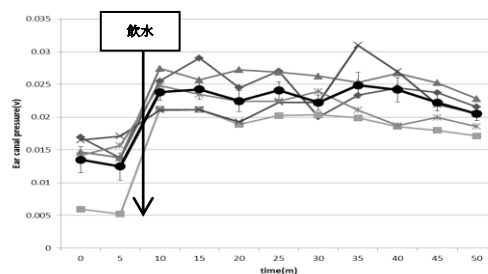


Fig.2 Changes in the ear canal pressure during drinking water. Values are means \pm SE. n=5.

飲水後、外耳道内圧波形の振幅が増大した。これは、飲水により血液量が増えたため、静脈還流量が増加したと考えられた。飲水により消化管内に取り込まれた水は、腸管から吸収されその後血管内に移動した。吸収には個人差があるが、静脈系は重力や静水圧変化の影響を受け易いため、飲水直後に大幅に外耳道内圧が上昇したと考えられる。

4. おわりに

今回、体位変換実験や飲水実験において、外耳道内圧の変動は、静脈血行動態と非常に類似しており、心電図とのタイミングからも頸静脈波形を捉えていると考えられた。頸静脈圧変動は右房の拍動に関連しており、右心機能の有用な診断情報となる。非観血・非侵襲に頸静脈圧変動を計測し、右心機能を常時連続モニターできることの意義は大きい。

参考文献

- 1) 寺田信幸:「外耳道内圧測定システム及び外耳道内圧測定方法」, 出願番号, 特願2010-101164
- 2) 五十嵐隆, 田中英高編集:小児科臨床ピクシス13,「起立性調節障害」, 2010年2月1日発行, 山中書店
- 3) N.Terada and T.Takeuchi:“Postural changes in venous pressure gradients in anesthetized monkeys,” The American Physiological Society, Vol.264, pp.H21-25, 1993

新たな循環調節機能検査システムの開発

臼井龍徳¹, 郷間雅樹^{2,3}, 木村義則², 寺田信幸⁴

¹東洋大学大学院理工学研究科, ²パイオニア(株), ³山梨大学大学院医学工学総合教育部,

⁴東洋大学生体医工学研究センター

1. はじめに

起立性低血圧症の診断装置には非観血連続血圧計が用いられている。しかし、この装置は高額であり、容易に測定を行うことが出来ないことから、簡易に循環調節機能を評価できる装置の開発が望まれている。そこでパイオニア社が開発した小型レーザードップラー血流計¹⁾を用いて、循環調節機能の簡易評価法について検討を行った。また、起立性低血圧症の診断に用いられる能動起立試験は、お年寄りや患者さんにそんきよの姿勢を維持させるのが困難であることが多い。そこで、現行の起立試験に代わる新たな試験法としてカフ試験と踏み台試験を考案したので報告する。

2. 実験方法

小型レーザードップラー血流計を、耳朶に取り付け耳朶皮膚血流量を連続血圧(BP)と同時に計測した。連続血圧はトノメトリー方式による連続血圧計(オムロン・コーリン社製BP-608 Evolution II)を用い計測し、平均連続血圧(mBP)を算出した。また、被験者は事前に実験内容を説明し、参加の承諾を得た健康男性を対象とした。実験時の環境温は $26\pm 1(^{\circ}\text{C})$ に設定した。

2.1 カフ試験

被験者の大腿部にカフを巻き、200mmHgの圧をかけ下肢への血行を阻害する。チルトベッドで3分間の仰臥位安静状態を維持した後、加圧しヘッドアップ60度で1分間維持した。被験者が呼吸を止めたのち圧リリースを行った。被験者に呼吸を再開させ1分後水平に戻した。一連の流れを1セットとし、合計3回行った。

2.2 そんきよ姿勢からの能動起立

椅子に座った状態から、そんきよの姿勢を1分間維持させ立ち上がらせた。起立する際には呼吸性動揺の影響をなくすため、軽く息を吐いて止めてから立ち上がるよう指示した。起立1分後椅子に座り安静とした。一連の流れを1セットとし合計3回行った。

2.3 踏み台起立

椅子に座った状態から、床に用意された高さ30cmの踏み台に1分間足を乗せた後、立ち上がらせた。起立する際には、軽く息を吐いて止めてから立ち上がるよう指示した。1分後椅子に座り安静とした。一連の流れを1セットとし合計3回行った。

3. 実験結果

3.1 カフ試験

カフ試験時の心拍数、平均血圧、耳朶血流を被験者5名の平均としてFig.1に示した。縦軸に測定項目の変化量を、横軸には時間経過を示した。また、圧リリース時を0秒とした。圧リリースを行うと、心拍数は約20bpm上昇し、10秒後から徐々に元の値に戻った。

平均血圧は約15mmHg低下し、リリース直後から15秒で元の値まで戻った。耳朶血流は約6ml低下し、15秒で元の値まで戻った。

3.2 そんきよ姿勢からの能動起立

そんきよの姿勢から立ち上がると心拍数は約20bpm上昇し、15秒後元の値まで戻った。平均血圧は立ち上がると約25mmHg低下し、徐々に戻っていき15秒で元の値まで戻った。耳朶血流は立ち上がると約10ml低下した。その後15秒ほどで元の値まで戻った。

3.3 踏み台試験

足を抱え込んでいる姿勢から立ち上がると心拍数は約18bpm上昇し、約13秒で元の値まで戻った。平均血圧は約20mmHg低下し、約13秒で元の値まで戻った。耳朶血流は立ち上がると約8ml低下した。その後15秒ほどで元の値まで戻った。

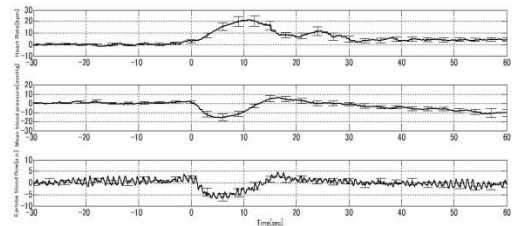


Fig.1 Changes in mean blood pressure and earlobe blood flow during cuff release test. Values are means \pm SE. n=5.

4. 考察

大腿部圧迫の解放による体液シフトを起こさせるカフ試験は、そんきよ姿勢からの能動起立に近い血圧低下が引き起こされた。そんきよ姿勢からの能動起立と踏み台を用いた起立を比べると、血圧および耳朶血流の低下に大きな差は見られなかった。これらの成績は、そんきよ姿勢による大腿部の圧迫と踏み台起立時の大腿部の圧迫の程度が、ほぼ同等であると考えられた。

また、いずれの試験法においても、血圧の反応と耳朶血流の反応に差が認められなかったことから、小型レーザードップラー血流計による耳朶血流測定は循環調節機能の簡易評価が十分可能であると考えられた。

参考文献

- 1) Y.Kimura, M.Goma, A.Onoe, E.Higurashi, and R.Sawada, "Integrated Laser Doppler Blood Flowmeter Designed to Enable Wafer-Level Packaging.", IEEE Transactions on Biomedical Engineering, Vol.57, Issue:8, pp.2026-2033.

高速分圧抵抗スイッチング電極を用いた

心臓信号源の移動軌跡の推定

坂上 友介¹, 吉脇 正泰¹, 牧川 方昭²

¹立命館大学大学院 理工学研究科 〒525-8577 滋賀県草津市野路東 1-1-1

²立命館大学 理工学部 〒525-8577 滋賀県草津市野路東 1-1-1

rr003035@ed.ritsumeai.ac.jp

1. はじめに

体表面に取り付けた電極で計測した心電図を利用した心臓電気活動の非侵襲推定は、心疾患の診断や治療への応用が期待されているため、多数の研究が行われている¹⁾。従来の方法では、多い場合には100個程度の電極を被験者に取り付ける必要があるため拘束性が高く、被験者の負担が大きい。本研究では、この課題を解決する方法として、我々が提案する高速分圧抵抗スイッチング電極を用い、心電図計測を実施した。

2. 理論

提案方法では、体表面の信号電極とGND電極の間に分圧抵抗を接続し、その接続状態を高速で切り換えることによって、信号源に関する電位と位置情報を同時に計測することが可能である²⁾。

本法では、生体を等価信号源電位 V_b と内部抵抗 R_{b1} , R_{b2} , 電極の接触抵抗 R_{c1} , R_{c2} により構成される電気回路網と考え、Fig.1のようにモデル化している。初段アンプの入力抵抗 R_m が非常に大きいとき、図中のスイッチを高速で切り換えることによって、式1)と2)に示す計測電位 V_{out} が計測され、これらから式3)に示す $R_{b1}+R_{b2}$ が算出される。ここで生体内の導電率が一様であると仮定すると、 $R_{b1}+R_{b2}$ は信号源が電極から離れると小さくなり、近づくとき大きくなると考えられる。 R_g は任意の値であり、電極と皮膚の接触状態の安定後には R_{c1} , R_{c2} を定数と考え、信号源の位置情報 L は式4)で表される。

$$V_{out} = V_b \quad 1)$$

$$V'_{out} = \frac{R_g}{R_{b1}+R_{b2}+R_{c1}+R_{c2}+R_g} V_b \quad 2)$$

$$R_{b1} + R_{b2} = \left(\frac{V_{out}}{V'_{out}} - 1 \right) R_g - (R_{c1} + R_{c2}) \quad 3)$$

$$L = \frac{V_{out}}{V'_{out}} - 1 \quad 4)$$

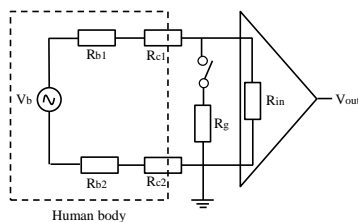


Fig.1 An equivalent electrical model

3. 方法と結果

信号電極を標準12誘導のV2, V3, V5に、GND電極を右腰部に配置して心電図を計測し、各電極での L を算出した。分圧抵抗の切り換え周波数とサンプリング周波数は200 Hz, 増幅率は70.4 dBとした。

Fig.2に結果の一例として、10拍分の心電図の加算平均波形における心電図の特徴点に対する各電極で算出した L による移動軌跡を示す。図に示すように、心活動に伴い心臓信号源は心房から心室へと移動している様子が可視化されている。

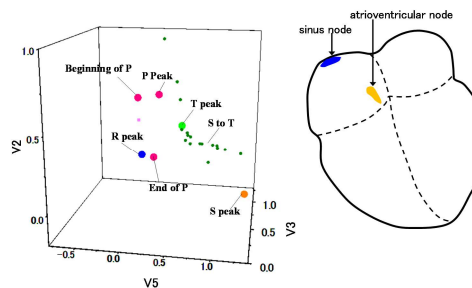


Fig.2 An example of 3-D trajectory of ECG signal source within the human heart.

4. おわりに

本研究は、高速分圧抵抗スイッチング電極を用いて、心電図計測を行った。その結果、各電極での信号源に関する位置情報 L を用いることで、心活動に伴う心臓信号源の移動軌跡を可視化することができた。

謝辞

本研究はJSPS科研費25282137の助成を受けたものである。

参考文献

- 1) C. Ramanathan, R. N. Ghanem, P. Jia, et al: "Noninvasive electrocardiographic imaging for cardiac electrophysiology and arrhythmia," Nature Medicine, Vol.10, No.4, pp.422-428, 2004.
- 2) Y. Sakaue, S. Okada, M. Makikawa: "Signal Source Estimation Inside Brain Using Switching Voltage Divider." Proceeding of XIII Mediterranean Conference on Medical and Biological Engineering and Computing 2013. Seville, pp.595-598, 2013.

ウェアラブル NIRS システムの開発と筋ポンプ機能評価への応用

横溝良幸¹, 高橋良介¹, 田川信之介¹, 西浦章起¹, 星 詳子², 高橋英嗣¹

¹佐賀大学大学院工学系研究科先端融合工学専攻

²東京都医学総合研究所

1. はじめに

NIRS(near-infrared spectroscopy)は、生体透過性に優れた近赤外光を用いて生体組織の酸素化状態を体表面から非侵襲的に計測する技術である。現在市販されている多チャンネルNIRS装置は、装置が大型かつ高価であり、また計測用光学プローブと装置本体が多数の光ファイバーでつながっているため、被験者の行動が大きく制限され、運動時の計測や小児や精神疾患患者等での計測が困難である。これらの問題を解決するためには、小型軽量で長時間身につけても邪魔にならないウェアラブルなNIRS装置が必要である。われわれは、2チャンネルのウェアラブルNIRSシステム(saga university wearable NIRS, swNIRS)を開発し、その有用性を階段昇降時の下肢筋酸素ダイナミクスの無拘束連続計測から証明した。

2. swNIRS システム

複雑な照射光波形制御を容易に実現するため、小型マイコン(STBee mini, Strawberry Linux)を中心としたswNIRSシステムを開発した。¹⁾ 受光データは無線通信モジュール(ZEAL-C02, ADC Technology)によりPCに伝送しリアルタイム処理が可能のほか、Androidスマートフォンで受信した後オフライン処理が可能である。照射光は5 kHzのAM変調とし、外乱光の影響を除去した。swNIRS装置本体の大きさは、現在国内で市販されている2チャンネルウェアラブルNIRS装置の約1/3にすることができた。

3. 実験方法

本システムの有用性を示すために、下肢筋(右大腿四頭筋中間広筋と右腓腹筋)の酸素ダイナミクスのモーションフリー計測を行った。中等度の負荷として、本学研究棟の階段を8階から1階まで下行、その後1階から8階まで上行する間の連続計測を行った。さらに体位変換(椅座位から立位)中の下肢筋酸素ダイナミクス測定を行った。大腿四頭筋-腓腹筋の血流配分を変えるために弾性ストッキング(足首25 hPa、ふくらはぎ17 hPa)を着用し、これらの実験を繰り返した。被験者は当研究室の学生2名で、インフォームドコンセントを得た。

4. 結果と検討

階段上行・下行時の測定から、下肢筋測定部位の血液量変化(Δ total Hb)および血液酸素化レベル(Δ Hb, Δ HbO₂)は、①重力、②律動的な筋収縮による筋ポンプ作用、さらには③筋エネルギー消費増加に伴う血流量増加等の因子が複雑に関係し合っていることが判明した。また、体位変換実験の結果より、階段歩行中の筋ポンプの影響は、歩行に伴う筋代謝増加に伴う筋血流量および酸素ダイナミクス変化をはるかに凌駕することがわかった。

また、弾性ストッキング装着により、座位から立位への変化時に見られた腓腹筋近傍組織の血液貯留は完全に抑制されたが、筋酸素レベルから見て、このことが階段上行時の筋酸素代謝増加に対して悪影響を及ぼすことはなかった。

5. まとめ

今回は、新しく開発したswNIRSの有用性を検証することを主目的として比較的簡単な実験をデザインしたが、筋ポンプによる下肢筋血液量の大きな変化のみならず、その酸素ダイナミクスの変化を追跡することができた。今後、身体不活動と筋酸素代謝の定量的評価、下肢閉塞性動脈硬化症患者の日常生活における下肢筋酸素ダイナミクス連続計測、深部静脈血栓症(いわゆるエコノミークラス症候群)の予防法開発等に本システムを利用する予定である。

参考文献

- 1) 横溝良幸, 鎌田啓輔, 副島悟志, 山本一十, 吉住宗平, 佐々木奨真, 星 詳子, 高橋英嗣:ウェアラブル NIRS システムの開発と応用. 信学技報 113(409): 1 - 5, 2014.

Factors affecting the coordination between heart rate variability and physical acceleration during free-moving days

Kentaro Taniguchi^{1, 2} Akito Shimouchi¹ Junji Seki³ Tomoe Mizukami^{1, 2}

Naoya Jinno¹ Mikiyasu Shirai¹ Akitoshi Seiyama²

¹Department of Cardiac Physiology, National Cerebral and Cardiovascular Research Center, Suita, Osaka ²Human Health Sciences, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Kyoto ³Organization for Research and Development of Innovative Science and Technology, Kansai University, Osaka

【Object】 The aim of this study was to clarify factors affecting the relationships between heart rate variability (HRV) and physical acceleration (PA). Firstly, we hypothesized that coordination between physical acceleration and activity of the autonomic nervous system (ANS) in terms of heart rate variability (HRV) could be impaired with aging. To prove the hypothesis, we analyzed cross-correlation between the time-series of HRV and PA during free-moving days in the adult human. Moreover, we explored another factor that affects the relationships between both parameters.

【Methods】 HRV and PA were recorded every one minutes using with ActiveTracer (GMS Co. Ltd) from 65 normal subjects, including 18 young (20~40 years), 26 middle (40~60 years), and 21 elderly (> 60 years) for 24hours normal daily life. Their mental and physical information were obtained from the questionnaires (GHQ28, Cornel Medical Index, Self Depression Scale), venous blood analysis and physical examination.

【Analysis】 HRV was calculated by the Maximum Entropy Method (MEMcalc, GMS Co. Ltd). HRV indices were obtained by analyzing the R-R intervals by the linear frequency domain low frequency (LF) (0.04~0.15Hz), high frequency (HF) (0.15~0.4Hz) and LF/HF. Frequency bands are normalized HF/TF as parasympathetic activities and LF/HF as sympathetic activities. The **lag** was defined as the lag time (min) with the minimum p value calculated by the cross-correlation time-series analysis between HRV and PA. If the lag was not 0, we defined the coordination between ANS and PA was impaired.

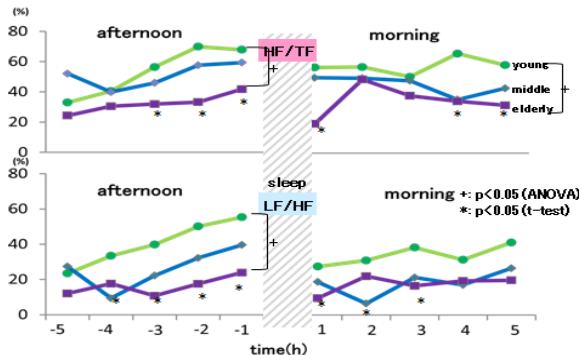


Fig.1 Frequency of **lag0** in the afternoon and morning

Table.1 Relationships between lag and index or stress

	index	lag	n	score	p value
HF/TF in the afternoon	R tension	lag -	37	1.4±1.6	0.034
		lag +	28	0.6±1.0	
HF/TF in	nocturnal awaking	lag -	24	0.4±0.7	0.001
		lag +	41	0.9±0.8	
the morning	D digestive organ	lag -	24	2.3±1.8	0.018
		lag +	41	4.1±3.4	
LF/HF in the afternoon	GHQ D (depression)	lag -	26	0.1±0.3	0.007
		lag +	39	0.9±1.8	

Table.2 Relationships between lag and diseases

HF/TF afternoon	lag +	lag -	χ^2	p value
Diabetes	(+) 4	0	9.183	0.004
	(-) 24	37		
HF/TF morning	lag +	lag -	χ^2	p value
Hyperlipidemia	(+) 22	4	5.847	0.028
	(-) 17	22		
HF/TF morning	lag +	lag -	χ^2	p value
Hepatic dysfunction	(+) 7	0	4.716	0.039
	(-) 32	26		

【Results and Discussion】 As shown in Fig.1, the frequency of **lag0** before and after night sleep in young group was significantly increased compared with those in elderly group. After the wake-up, the **lag0** tended to be decreased in all groups. The frequency of **lag0** was also affected by the mental conditions such as psychological tension and depression, nocturnal awakening and complaint related to the digestive organs (Table 1). In addition, the coordination was impaired in the subjects with diabetes, hyperlipidemia or hepatic dysfunction (Table 2). In summary, the coordination between autonomic nervous system and body acceleration was impaired by mental/physical conditions and several metabolic diseases possibly accompanied by aging.

【References】

(1)Otsuka K. Chronome and Janus Medicine, Medical review CO. Ltd, Tokyo, 1998 (2)Hosoda S. et al, A New Development of Time Series Analysis in Medical and Biological Sciences Hokkaido Toshokankoukai,1996 (3) van Ravenswaaij-Arts C et al, Heart rate variability. Ann Intern Med 118:436-447,1993.

Simultaneous measurement of human MCG distribution with an optically pumped K-Rb hybrid atomic magnetometer

Yosuke Ito, Daichi Sato, Keigo Kamada, Tetsuo Kobayashi

Graduate School of Engineering, Kyoto University

1. Introduction

In recent years, there has been a growing interest in applying optically pumped atomic magnetometers (OPAMs) to biomagnetic measurements such as magnetocardiograms (MCGs)¹⁾ and magnetoencephalograms (MEG)²⁾. In order to implement biomagnetic imaging, simultaneous acquisition of biomagnetic fields data at multiple locations is essential. Although multi-location mapping with multiple OPAMs has conventionally been carried out, it is difficult to fabricate sensor cells having the same properties. Therefore, we have proposed an OPAM using one cell containing K and Rb atoms³⁾. The OPAM has spatially homogeneous sensor properties throughout the whole of the cell. In this study, we measured human MCGs at multilocations simultaneously to demonstrate the feasibility of the biomagnetic measurements with our OPAMs.

2. Methods

Figure 1 illustrates the experimental setup of our OPAM system. The sensor cell containing K and Rb was set in a three-layered magnetic shield, which had shielding factor of about 10^6 at 10 Hz. The K atoms in the cell were spin-polarized by the circularly polarized pump beam emitted from the Ti-Sapphire laser. The spin polarization of the K atoms were transferred by spin exchange collisions with the Rb atoms. The Rb atoms were probed by the linearly polarized probe beam from the diode laser. The probe beam detected by a linear photodiode array. We used 8 channels with an interval of 4 mm in the photodiode array. The 31-year-old healthy male subject lay facedown on a bed.

3. Results and Discussion

The magnetic sensitivity in each channel at 10 Hz was 1.1 – 2.5 $\text{pT}_{\text{rms}}/\text{Hz}^{1/2}$, which was not high enough compared with the OPAMs using a polarimeter³⁾. This was due to electrical noise of the circuit of the photodiode array. Figure 2 shows the measured human MCGs after averageing 24 times. We could observe R and T waves of human MCGs clearly. In addition, the signal differences among all 8 channels represent the spatial distribution of the human MCGs indicating the feasibility of biomagnetic measurements with our system.

4. Conclusion

We carried out simultaneous multilocation measurements of human MCGs with our newly developed K-Rb hybrid OPAM. We could successfully observe typical features of human MCGs and their distribution.

Acknowledgement

This work was supported in part by the Innovative Techno-Hub for Integrated Medical Bio-imaging of the project for Developing Innovation Systems, Grant-in-Aid for Scientific Research (A) (24240081) and Grant-in-Aid for Challenging Exploratory Research (26560466), (25610171), all from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology (MEXT), Japan.

References

- 1) G.Bison, N.Castagna, A.Hofer, et al.: "A room temperature 19-channel magnetic field mapping device for cardiac signals," *Applied physics letters*, Vol.95, 173701, 2009
- 2) K.Kim, S.Begus, H.Xia, et al.: "Multi-channel atomic magnetometer for magnetoencephalography: A configuration study," *NeuroImage*, Vol.89, pp.143-151, 2014
- 3) Y.Ito, H.Ohnishi, K.Kamada and T.Kobayashi, "Development of an optically pumped atomic magnetometer using a K-Rb hybrid cell and its application to magnetocardiography," *AIP Advances*, Vol.2, No.3, 032127, 2012

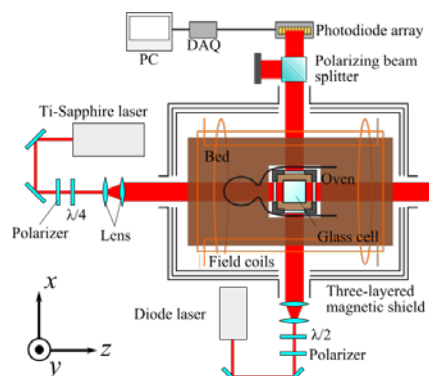


Fig. 1 Experimental setup.

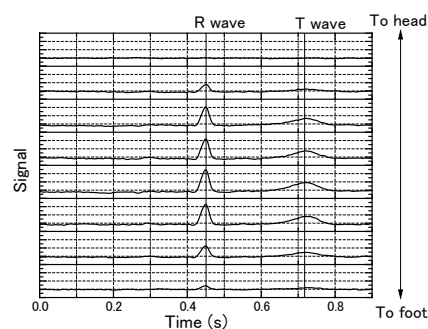


Fig. 2 Human MCGs measured with our K-Rb hybrid OPAM.

レーザードップラー血流計測の2層モデルでの実験的検討

清田尚也¹, 高山舞², 平野貴史¹, 藤井麻美子^{1,2}

¹ 上智大学大学院 理工学研究科

² 上智大学 理工学部 情報理工学科

1. 研究概要

レーザードップラー法を用いた血流計測は毛細血管中の低速の血球の流れを反映し、超音波計測にない利点がある。しかし、深部では多重散乱のためドップラー信号そのものの検出が難しく、また血流速度の推定や血流量の評価が難しいため、赤外光を用いた深部用の血流計はいまだ存在しない。本研究では、スラブ状ファントムを製作して実験を行い、センサファイバの光源検出間距離、流速および対象部位の深さドップラー信号との関係を、ファントム実験とモンテカルロ法を用いたシミュレーションにより実験的に検討した。

2. 実験モデル

流速はドップラー信号のパワースペクトラムの一次モーメントに比例する。しかし、パワースペクトルは流速の他に光源検出点間距離、血液の灌流領域の体積に影響を受ける。そこで、生体の毛細血管の分布を想定し表層皮膚層と深部(大脳皮質・筋肉)層の2層構造モデルで検討を行った。

3. 実験システムとスラブ状ファントム

ポリアセタール樹脂を用いて、スライド板を上部と下部に備えた層構造のファントムを製作した(Fig.1)。

表面に光ファイバを取り付け、レーザー光(波長785nm出力公称70mW)を光源Sから光ファイバを介して照射し、一定間隔離れた位置の検出点Dにて受光用の光ファイバを介し、APDモジュールで検出した。更にADコンバータを介してPCに取り込み、データをMathematicaで解析した(Fig.2)。

スライド板Aはファントムの表面から中心深さ2.5mmで板厚1mmの表層皮膚組織、スライド板Bは中心深さ10.5mmで板厚5mmの大脳皮質や筋肉組織、をそれぞれ表している。ファントムは、シリンジポンプを利用して可動板をスライドさせ、毛細血管の血流の動きを表現した。照射検出距離をSD距離とし、5mm, 10mm, 15mmで調整して実験を行った。

4. モンテカルロシミュレーション

Fig.1のファントム構造の条件に合わせて、Sから入射させた光子がファントム内を通過して散乱を繰り返してDに到達したときの、各光子のドップラー周波数を表示するプログラムを作成し、シミュレーションを行った。

各光子の伝搬の様子はFig.3をイメージしており、散乱過程で破棄する光子の基準を設け、Dに到達した光子のみを検出した。さらに、検出した光子のドップラーシフト量からドップラースペクトルを求めた。

5. 結果と考察

実験から得た実測値と、モンテカルロシミュレーションから得たシミュレーション値を比較・検討した。一次モーメントは流速に比例する形で得られた。パワースペクトルの傾きはシミュレーションとほぼ一致させることができた。今後は実用的なモデルを作り上げたい。

参考文献

- 1) "Spatially varying dynamical properties of turbid media probed with diffusing temporal light correlation", D.A. Boas Nd and A.G. Yodh, J.Opt.Soc.AmA, Vol.14, 1997
- 2) "Monte Carlo simulations and laser Doppler flow measurement with high penetration depth in biological tissue like head phantoms", G.Soelkner, G. Mitic, and R. Lohwasser, Appl.Opt., Vol.36, 1997

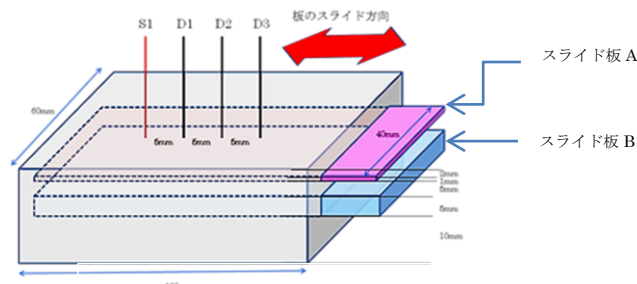


Fig.1 Structure of a phantom

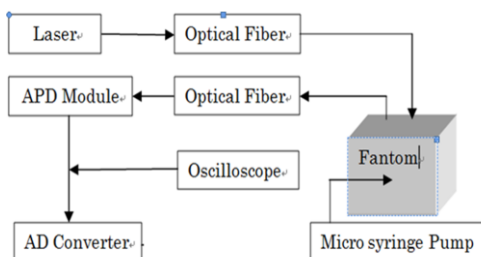


Fig.2 Outline of an experiment system

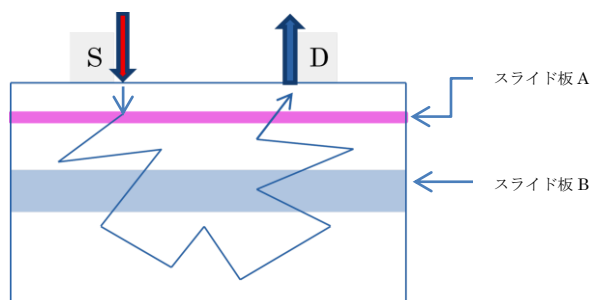


Fig.3. Model of the simulation

Adaptive beamforming technique for transcranial Doppler ultrasound blood flow velocity estimation with wide-bandwidth signal

Shigeaki Okumura¹, Aya Kita², Hirofumi Taki¹ and Toru Sato¹

¹Graduate School of Informatics, Kyoto University, ²Sakai Rumi Clinic

1. Background and Objective

Subarachnoid hemorrhage (SAH) is one of the most serious diseases for neurosurgeons. After SAH, from 20% to 40% of patients have poor outcomes, and one of the main causes for poor outcomes is vasospasm that reduces blood flow in the cranium and induces brain infraction. Because vasospasm generally occurs until 14 days after SAH occurrence, daily-monitoring technique for vasospasm is strongly desired. Transcranial Doppler ultrasound (TCD) which estimates intracranial blood flow is non-invasive test to detect the vasospasm. However, the reflected wave from the cranium has high-intensity, and thus TCD has low reliability. In this study, we propose the method to suppress high-intensity interferences to improve the accuracy of TCD.

2. Materials and Methods

To suppress interferences, we first employ a moving target indicator (MTI) filter which completely suppresses stationary components of interferences. In TCD, interferences should have time-varying components caused by movement of the probe or the head. Therefore, we apply the Capon method, one of the adaptive signal techniques, to the signal after MTI filtering. The method calculates optimal weighting vector to minimize the output power subject to keep the response of desired signal. The method requires estimation of the covariance matrix where its element expresses the cross-correlation between received signals of two elements. Because the covariance matrix is estimated by averaging independent data samples, we estimate the covariance matrix by averaging in the axial and temporal directions to achieve high-temporal resolution [1]. In our proposed method, axial and temporal averaging length corresponds to axial and temporal resolution.

We evaluated the proposed method in a simple numerical simulation. The center frequency of transmit signal is 2.0 MHz, the band-width was 50% and the focal depth was 5.0 cm, the arrival direction of an interference was 10 degree, and the true blood flow velocity was 1.0 m/s. The intensity of time-varying component of the interferences was 40 dB lower than that of the whole interference. As the axial and temporal averaging length was 1.5 mm and 0.8 ms, the axial and temporal resolution of the proposed method was 1.5 mm and 0.8 ms, respectively.

3. Results

Fig. 1 shows the blood flow velocities estimated using the conventional delay-and-sum (DAS) beamforming method and the proposed method. A linear array probe consisted of 4, 16 and 64 elements, and the ratio of the desired signal intensity to the interference intensity (SIR) ranged from -20 to -70 dB. The DAS beamformer with 4 elements and 64 elements failed to estimate the blood flow velocity when the SIR is less than -30 dB and -60 dB, respectively. Contrary, the proposed method succeed to improve the accuracy in estimating blood flow velocity, and the 64 element probe succeeded to estimate the blood flow velocity with the estimation error of less than 0.05 m/s when the SIR is -70 dB.

4. Conclusions

We proposed the adaptive beamforming technique to suppress a high-intensity interference. The numerical simulation result indicates that the employment of the adaptive beamforming technique may improve the accuracy in estimating blood flow velocity by using ultrasound Doppler technique. The result also indicates that the employment of a probe with many elements may improve the performance of the adaptive beamforming technique. We believe our proposed method is effective for TCD.

References

- 1) S.Okumura, A.Kita, H.Taki and T.sato: “適応型信号処理を用いた少数素子超音波経頭蓋骨血流速度法の基礎検討,”日本超音波医学会第87回学術集会論文集, 2013.

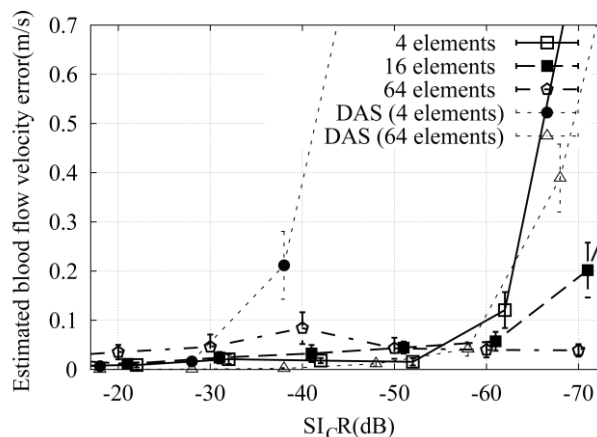


Figure 1: The blood flow velocity estimation results.

非線形回路と可変閾値を用いた埋込型神経信号検出・伝送回路の開発

○野村 尚彦, 島谷 祐一, 京相 雅樹

東京都市大学大学院工学研究科

1. はじめに

神経科学や生理学の分野で生体活動と神経活動の関係を明らかにする目的で埋込型神経信号計測・伝送回路の研究が進められている[1]。この技術はBCIや筋電義手の制御などロボット工学や医療分野に応用可能である。本研究では多チャンネルでの神経信号の長期的な計測を目的とし神経信号の振幅低下および雑音増加の状況においても神経信号を安定的に計測できる神経信号計測システムの実現を目指す。

これまでの研究では、活動電位の発生頻度のみを検出するシステムを提案し、多チャンネルでの同時計測が可能な神経信号計測システムを実現した。本報告では、製作した神経信号計測システムの省電力化を目指したシステム構成の改良に加え、ラットの神経信号の長期計測実験を行う。

2. システム構成

提案システムは信号増幅部と信号処理部に分けられる。信号増幅部は非線形増幅回路(NLA)と自動利得制御回路(AGC)で構成され、NLAは振幅が V_{th} 以下の入力信号に対しては増幅度が0に近い値になっている。AGCは入力信号の雑音振幅をNLAの低増幅度を示すレベルに自動調整することにより、SN比を改善しつつ活動電位を最も検出しやすい大きさまで増幅する。

信号処理部はマイクロコントローラ、コンパレータ、PWM信号変換用のLPFから構成される。まず適当な時間の神経信号をサンプリングし、統計処理により算出した閾値をコンパレータのリファレンス電圧として設定することによりキャリブレーションを行う。その後、コンパレータで活動電位を検出し、指定された時間間隔の活動電位発生頻度を計測し、シリアル通信によりPCに伝送する。

これまでの研究で製作したシステムは閾値電圧の発生にDAコンバータを使用していたが、多チャンネル化に不向きな問題があった。本報告ではPWMにより閾値電圧を生成するように改良を施すことにより、更なる省電力化を目指した。

3. 実験方法、結果

事前に取得した神経信号を用い、同じ神経信号をこれまでの計測システムと改良を施したシステムに入力し、その出力である活動電位のカウント数を比較した。Fig.4の結果が低消費電力化したシステムがこれまでの同じ性能を示し、システムの有用性を示すことが出来た。

4. 今後の目標

今後はラットの神経信号を用いた多チャンネル長期計測実験を行う。長期的計測において製作したシステムが雑音増加などの入力信号の変化に対して、活動電位を正しく検出するか評価を行う。

参考文献

[1] Reid R.Harrison "A Low-Power Integrated Circuit for Adaptive Detector of Action Potentials in Noisy Signals" IEEE EMBS ,pp.3325 ,2003

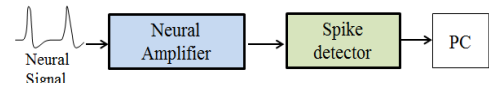


Fig. 1 architecture of neural recoding system

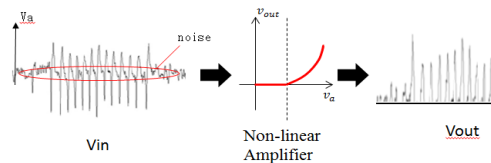


Fig. 2 operation of neural amplifier

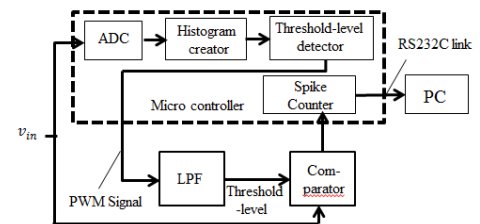


Fig. 3 architecture of spike detector

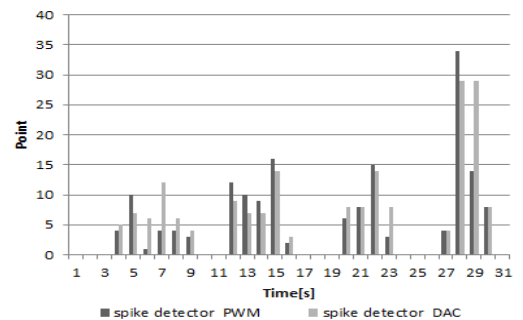


Fig. 4 spike detector(PWM,DAC) output

Non-staining imaging of lipid and collagen in atherosclerotic arterial wall

Tomoyo Tao¹, Harsono Cahyadi², Shuichiro Fukushima¹, Mamoru Hashimoto¹, Tsutomu Araki¹

¹Graduate School of Engineering Science, Osaka University, ²Institute of Technology and Science, Tokushima University

1. Introduction

Coherent Raman scattering (CRS) techniques such as coherent anti-Stokes Raman scattering (CARS) and stimulated Raman scattering (SRS) provide label-free detection based on the intrinsic vibrational signatures of the specific molecules. Therefore, it offers a non-invasive imaging of lipid which is the main component in atherosclerotic plaques. Second harmonic generation (SHG) is exclusively sensitive to noncentrosymmetric materials. Hence, it enables a label-free de-tetection of collagen, which is known to be unpredictably formed around the plaques¹.

We have developed CRS/SHG nonlinear optical multimodal microscopy system for detection of atherosclerotic lesion. We perform CARS/SHG imaging of spontaneously hyperlipidemic mouse.

2. CRS/SHG multimodal microscopy system

Figure 1 shows a schematic of the optical setup of the CRS/SHG multimodal microscopy system. Ti:Sapphire oscillators were used for generating pump and Stokes pulses. They produced picosecond pulses at a repetition rate of 80 MHz. The wavelength of pump and Stokes pulses were 709 nm and 888 nm, respectively. Pump and Stokes pulses were overlapped on a dichroic mirror, introduced to the objective lens, and they were focused on the sample. SHG signals were collected by the backscatter detection. On the other hand, CARS and SRS signals were detected by the forward-scattered lights. A dichroic mirror divided CARS and SRS signals.

3. CARS/SHG imaging

Figure 2 shows results of CARS/SHG simultaneously imaging. Samples are longitudinal cross-sections at left common carotid artery of 32-week-old mouse (C57BL/6.KOR/Stm Slc-Apoe^{shl}, Japan SLC) fed lipid-rich diets. Images were obtained at lesion and normal area. In Fig. 2(a)-(b), oil red O stained sample was used for histological observation. Figure 2(c)-(d) are transmission images, and Fig. 2(e)-(f) are merged images of CARS and SHG images. Green signal indicates CARS signal at the Raman band of 2845 cm^{-1} which is assigned to CH_2 symmetric stretching vibration. Blue signal indicates SHG signal by pump pulse laser. Image size is 296 μm square.

SHG signal was obtained from the collagen in the adventitia, and the lipid distribution was visualized by CARS signals. Furthermore, Intensity of SHG signals around the lesion was higher than normal area. Therefore

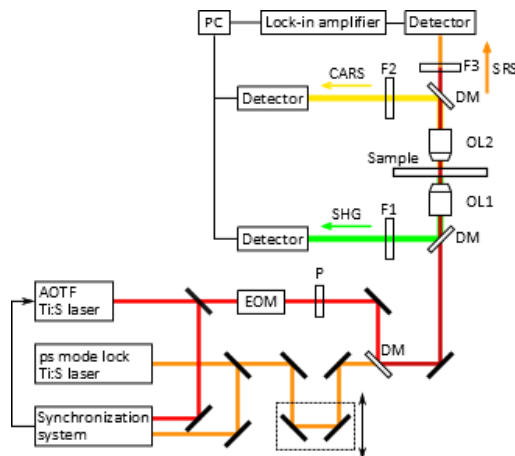


Fig. 1 Optical setup of multimodal microscopy system.

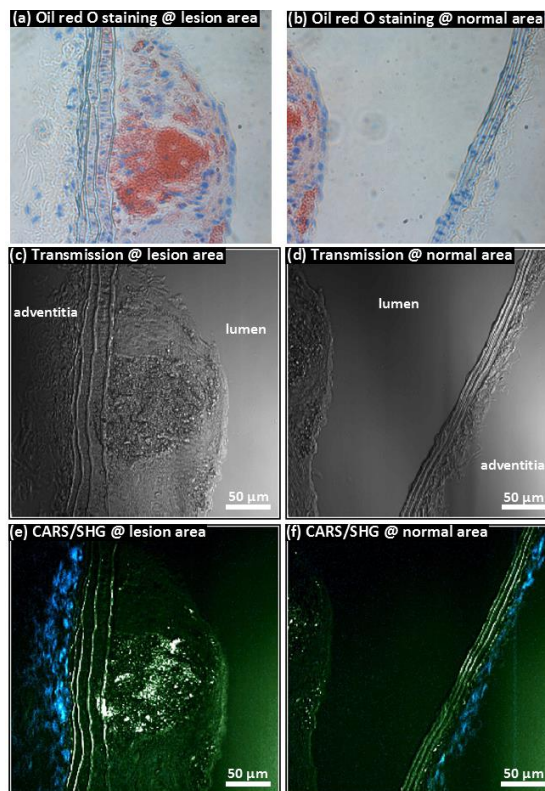


Fig. 2 Transmission and CARS/SHG images of cross-section samples.

it suggests that abnormally produced collagen is detectable with the developed microscopy system.

Reference

- 1) Y. Nakajima, H. Tasaki: "Atherosclerosis," Nagai Shoten, 2006 (in Japanese)

単軸引張によるヒト赤血球の変形能の測定

—見かけのヤング率と形状回復時定数の関係—

郡慎平¹, 加藤陽介², 田地川勉³, 山本恭史³, 板東潔³

¹ 藍野大学医療保健学部 臨床工学科, ² 関西大学大学院 理工学研究科,

³ 関西大学システム理工学部 機械工学科

1. はじめに

赤血球は極めて優れた変形能を有しており、自身の大きさ(直径8 μm , 厚さ2 μm)よりも小さい直径3 μm 程度の毛細血管内を柔軟に変形しながらスムーズに通過することができる。しかしながら病気などが原因で変形能力が低下すると、赤血球は毛細血管を通過しにくくなる、または詰まらせてしまい、血流を妨げる原因となる。これは高血圧症や各種循環器病の発症要因となることから、赤血球の変形能を把握することは極めて重要であるといえる。本研究では、マイクロピペットを用いて静止流体中で赤血球に単軸引張ひずみを与え、そのときの引張応力とひずみの関係から見かけのヤング率を測定し、また引張から解放された赤血球が元の形状まで回復するまでの形状過程時定数を測定し、その関係から赤血球変形能の評価を試みた。

2. 実験方法と実験結果

健常な20代成人男性から採取した血液サンプルに対して変質による影響をできるだけ排除するために、採血後24時間以内に実験を行った。実験では、マニピュレータに取り付けたマイクロピペットで赤血球を吸引・保持し、相対する向きから別のマイクロピペットで吸引後、引張変形させた。このときのひずみと引張応力を記録した。また、赤血球両端を引張り続けるとやがて吸引力を赤血球の復元力が越え、片方のピペットから赤血球が解放される。解放された瞬間から、赤血球がもとの形状に戻るまでの時間とひずみを記録した。

健常赤血球に対する引張応力とひずみの関係(一例)を図1に、形状回復過程におけるひずみと時間の関係(一例)を図2に示す。図2(a)は単軸引張方向のひずみ量と時間の関係を、(b)はひずみと時間の関係を片対数表示した結果である。図1において引張応力とひずみの間に比例関係が見られたことからHookeの法則から見かけのヤング率を算出した結果、 $E_a=36.2 \text{ Pa}$ が求まった。サンプル数41として見かけのヤング率を測定した結果、平均で25.5Paであった。また図2(a)から赤血球の形状回復過程においてひずみは指数関数的に減少していることが確認されたことからKelvin model¹⁾をもとに形状回復時定数を算出した。その結果 $\tau_r=84.8 \text{ ms}$ であった。サンプル数82として時定数を測定した結果、平均時定数(幾何平均)は113msであった。なお図2(b)に示す片対数グラフにおいて $\epsilon_x=0.03$ は顕微鏡の空間分解能(測定限界)を示しており、時定数算出には $\epsilon_x \geq 0.03$ の条件を用いた。

各赤血球について、求められた見かけのヤング率 E_a と形状回復時定数 τ_r についてデータ整理を行ったところ、見かけのヤング率の増加に伴い時定数が低下する傾向が観察された。標準粘弾性体モデルであるKelvin modelにおける時定数は赤血球の弾性特性と粘性特性の比で表される(粘性に比例、弾性に反比例)ことから、本実験結果は理論に沿った妥当性があると言える。今後、見かけのヤング率並びに形状回復時定数の数値を基に粘性特性を特定できれば、力学を基にした赤血球の変形特性の定量評価が可能となると考えられる。

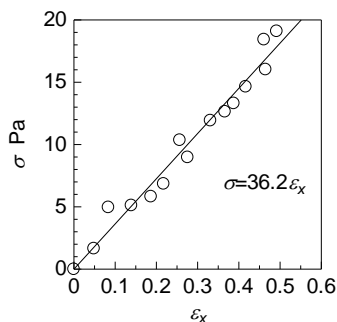
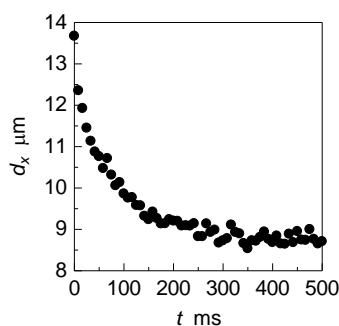
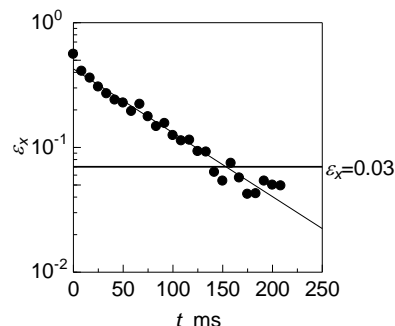


Fig.1 Relationship between tensile stress and strain.



(a) Recovering process on an erythrocyte's diameter



(b) Relationship between strain and time (single logarithm)

Fig.2 Results for calculation of a time constant on shape recovering.

参考文献

1) Y.C.Fung: Biomechanics Mechanical Properties of Living Tissues, Springer-Verlag, 1993

輝度情報を利用した細胞核抽出法の改良の再検討

皇甫 明慧¹, 小中 信典², 芥川 正武², 榎本 崇宏²

¹徳島大学大学院, ²徳島大学大学院 STS 研究部

1. はじめに

正常組織画像と癌組織画像とを画像処理によって判別することを目的に、まず、正常組織画像(図1)に対して、楕円テンプレートを用いた細胞核抽出方法¹⁾、その抽出方法の改良²⁾について検討を行った。そして、細胞核抽出精度を評価するため、目視での細胞核座標抽出、その補正を行った結果、エラー率が6%以下と良好な結果³⁾を得ることが出来た。細胞核以外の領域で輝度値が高い、すなわち、白い領域でも40%以上高い抽出値を持っていることが分かった。図2の黄色部分で緑丸(○)で明示していた。輝度情報を利用した細胞核抽出法の改良を行った⁴⁾今回、さらに、輝度情報の条件を追加し、検討したので、その結果を報告する。

2. 実験方法

今まで、エッジ抽出、エッジ部分とその内側のテンプレートマッチングで細胞核と抽出してきた(式1)。その結果を調べてみると、図2のように細胞核でない領域、特に、白い領域で、高い一致率(40%以上)を示している。この白い領域での高い一致率を除く、すなわち、黒い領域を優先するため、白黒の輝度値 I_{bw} に対する、重みづけ関数 $W(I_{bw}, n)$ を用いている。今回追加した $n=2$ の $W(I_{bw}, 2)$ は $n=1$ よりは、このウェイトづけの変化は緩やかになっている(図3)。

$$G_{ring-in}(x, y) = G_{ring}(x, y) \times G_m(x, y) \\ = \frac{\sum_{i,j} E(x+i, y+j) T(i, j) \sum_{i,j} (1-E(x+i, y+j)) T_m(i, j)}{\sum_{i,j} T(i, j) \sum_{i,j} T_m(i, j)} \quad (1)$$

$$W(I_{bw}, n) = 1 - \left(\frac{I_{bw}}{255}\right)^n = (255 - I_{bw}(i, j)) / 255 \quad (2)$$

$$G(x, y)(n) = G_{ring-in}(x, y) \times \frac{\sum_{i,j} T_m(i, j) W(I_{bw}, n)}{\sum_{i,j} T_m(i, j)} \quad (3)$$

T_m : 楕円テンプレートの内部

3. 結果

$n=1$ と $n=2$ の抽出結果は図4に示している。 $n=2$ の方は $n=1$ より、細胞核の分布が良く抽出されたと考えられる。そのエラー率の分布は図5に示している。 $n=2$ のエラー率は8.26%になった。 $n=2$ の場合は $n=1$ より0.46%に下がったことが分かった。

参考文献

- 1) 皇甫明慧、信学会技術研究報告会, Vol.111, pp.17~20, 2011.7
- 2) 皇甫明慧、電気関係四国支部, No.13-1, 2011.9
- 3) 皇甫明慧、電気関係四国支部, No.13-37, 2012.9
- 4) 皇甫明慧、電気関係四国支部, No.13-16, 2013.9

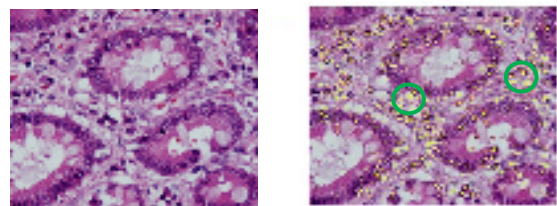


Fig. 1 Normal tissue Fig. 2 Matching result

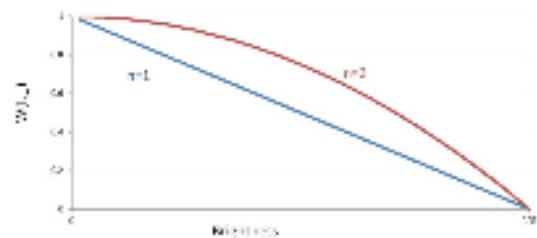
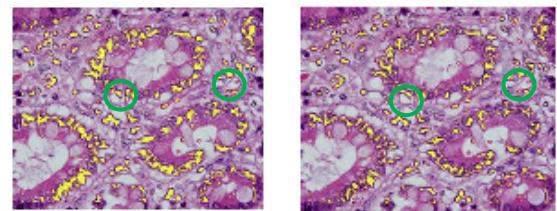


Fig.3 $W(I_{bw}, n=1,2)$



(a) $n=1$ (b) $n=2$

Fig. 4 Matching results

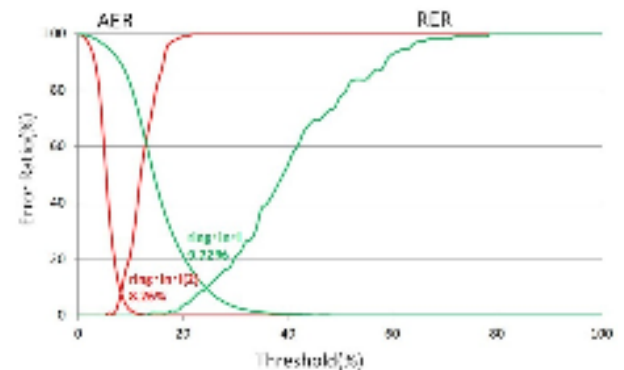


Fig. 5 Error Ratio

微小位相物体による走査型位相差顕微鏡の性能評価

三宅 泰広¹, 日坂 真樹², 生田 孝³

¹大阪電気通信大学大学院 医療福祉工学研究科 医療福祉工学専攻

²大阪電気通信大学 医療福祉工学部 医療福祉工学科

³大阪電気通信大学 工学部 電気電子工学科

1. はじめに

細胞検査における生体試料の分光観察は組織状態を得るための有力な手段である。医療分野における組織の光学顕微鏡観察では、染色による吸収分布観察や位相板による屈折率分布観察が検査に大きく貢献している。我々は近年輪帯照明と画像処理とを融合した走査型顕微鏡による吸収および屈折率分布観察の基礎研究を進めてきた。位相構造を含む生体組織を無染色かつ3次元で観察できれば、新たな診断材料として利用できる可能性を持つ。本研究では試作した顕微鏡性能の評価を目的として、検出用ピンホールを配置した走査型位相差顕微鏡において微小位相構造物を3次元観察し、物体の屈折率断層画像や深さ方向の空間分解能について実験的に評価した。

2. 走査型位相差顕微鏡による位相構造試料の3次元観察

Fig.1 に走査型位相差顕微鏡の原理図を示す。開口数 0.55 の輪帯絞り付き対物レンズで波長 632.8nm の He-Ne レーザーを観察試料である油滴に輪帯照射し、ピエゾ素子に装着した試料をステップ間隔 290nm, 64×64×64 セルで3次元走査した。試料からの透過光と回折光を含む円環状光強度分布を対物レンズで検出用ピンホールに集光照射し、直径 5 μ m のピンホールからの射出光を CCD カメラで撮影した。

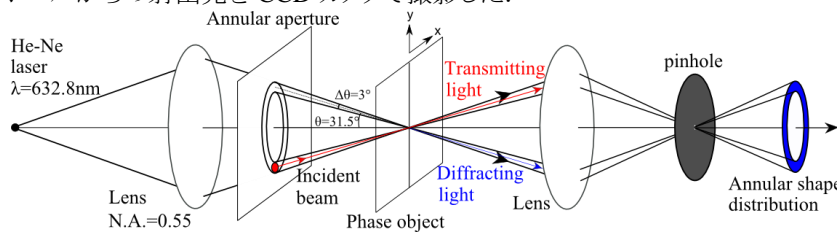


Fig.1 Optical setup for phase-contrast scanning optical microscope

3. 画像処理による観察画像再生とピンホール配置による深さ空間分解能の評価実験

x-y 平面で撮影した各円環状光強度分布[Fig.2(a)]を 120 方位に分割し、それぞれの領域の平均光強度で 120 枚の傾斜方位画像を再構成した。傾斜方位画像に含まれる吸収および屈折率の構造成分(結像成分)と多重散乱の影響を受けた非線形結像成分に対して、結像成分を選択的に抽出する 8 の字状空間周波数フィルタを各傾斜方位画像に適用し、各スペクトルを重ね合せて補完したスペクトルの逆フーリエ変換から位相画像を再生した(Fig.2(b))。これらの処理を各深さ位置の傾斜方位画像に適用し、試料の3次元構造情報を得た。Fig.2.(b)の実線内には直径 0.87 μ m の位相構造の油滴が分布しており、実線内の破線は Fig.2.(c), (d)に対応する。各画像はそれぞれピンホールを配置した場合とピンホールを配置していない場合の断層位相画像である。焦点面以外の光をピンホールが除去することで、油滴分布の深さ方向への焦点深度が 3.6 μ m(35.4%)小さくなった。ピンホールで焦点面近傍のみの構造情報を再生できたため、深さ方向の空間分解能が向上する結果となった。

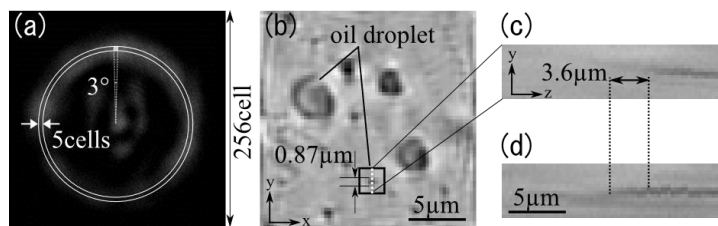


Fig.2 (a) Annular image captured by CCD camera and (b) the lateral phase-contrast image, (c) the axial phase-contrast image in y-z plane with a pinhole, (d) the reproduced phase-contrast image without a pinhole

4. おわりに

検出用ピンホールを設置した走査型位相差顕微鏡を用いて油滴の位相画像を観察し、断層画像における深さ分解について実験的に検討した。焦点面近傍以外の情報を遮断し深さ方向への焦点深度が 35.4%低減されたため、検出用ピンホール挿入は走査型位相差顕微鏡における空間分解能の向上に有効であることを実験的に検証した。

5. 参考文献

- 1) Y. Miyake, M. Hisaka, T. Ikuta, : "Phase-Contrast Scanning Optical Microscopy of Biological Tissues Using Annular Illumination," Biomedical Imaging and Sensing Conference 2014, BISCp3-1, 2014
- 2) 三宅 泰広, 日坂 真樹, 生田 孝, "輪帯照射を用いた走査型位相差光学顕微鏡による生体組織細胞の観察," 生体医工学シンポジウム 2013, 4-2-10, 2013

磁性ナノ粒子イメージングにおけるスキャン軌道と画像分解能に関する検討

清水 翔太¹, 土屋 寛貴¹, 初田 朋希², 高木 智幸², 野口 智暁², 石原 康利²

¹ 明治大学大学院 理工学研究科, ² 明治大学 理工学部

1. はじめに

近年, 新たな医用画像診断技術として, 磁性ナノ粒子イメージング (Magnetic Particle Imaging: MPI) が注目を集めている[1], [2]. MPIとは, 生体内に投与した磁性ナノ粒子から生じる微弱な磁化信号を検出し, がんや循環器疾患を画像化する技術である. MPIでは, 磁性ナノ粒子から生じる磁化信号を直接検出できることから, 磁気共鳴イメージングに比べて高感度化と高分解能化が期待されている. しかしながら, MPIにおける従来の画像再構成法[2]では, スキャン時間の増大と画像ボケによる画像分解能の低下が問題となっている. そこで, 本研究では磁性ナノ粒子から検出された信号に対して再構成画像から算出される信号を逐次近似させることで, 再構成画像に生じる画像ボケを反復補正する画像再構成法を提案する. 更に, この画像再構成法に信号検出位置の連続的なスキャン法[3]を導入することで, スキャン時間と画像再構成に最適なスキャン軌道を検討する.

2. 信号検出位置のスキャン法

MPIにおける基礎的な画像再構成法[1]では, 信号検出位置の離散的なスキャン法が採用されてきた. この手法ではスキャン時間の増大が問題とされている. そのため, 本研究では, いくつかの連続的なスキャン法[3]を検証し, 最適なスキャン軌道を検討する. 具体的には, 直交する交番磁場の周波数比を調整することで, 2次元空間におけるスキャン軌道を図1のように変化させる.

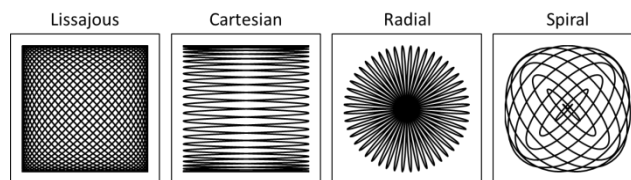


Fig. 1 Scan trajectory.

3. 画像再構成法

従来の画像再構成法[2]では, 再構成画像に画像ボケが生じる問題が存在していた. そのため本研究では, 磁性ナノ粒子から検出された信号 $V(t)$ に対して再構成画像から算出される信号を逐次近似させることで, 再構成画像の画像ボケを反復補正する画像再構成法を提案する.

この手法の概略図を図2に示す. まず初めに, 従来の画像再構成法を用いて再構成画像を得る. その後, 再構成画像から磁化信号 $C(t)$ を算出し (図2(1)), 観測信号との差分により誤差信号 $D(t)$ を計算する (図2(2)). 次に, この誤差信号に従来の画像再構成法を適用することで, 誤差画像を生成する (図2(3)). 最後に, 元となる再構成画像から誤差画像分を減算し, 画像ボケの補正を行う (図2(4)). 以上のプロセスを反復して行うことで, 再構成画像の画像ボケを抑制する.

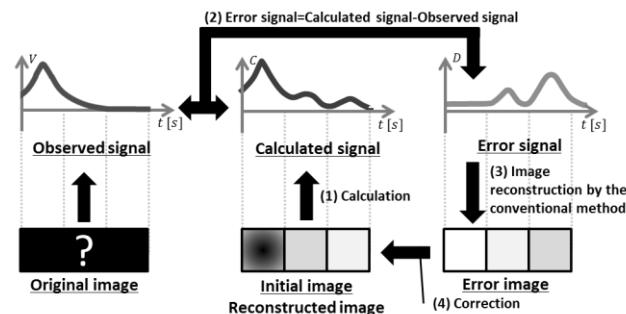


Fig. 2 Image reconstruction method.

4. 数値実験結果

上記のスキャン法及び画像再構成法を用いた数値実験結果を図3に示す. 設定条件は撮像領域 $20\text{ [mm]} \times 20\text{ [mm]}$, 粒径 25 [nm] , 反復回数500とし, スキャン時間 1 [s] , 100 [s] の再構成画像を示す. なお, 評価指標は最小二乗誤差 (MSE) を用いた. この結果から, 本研究での画像再構成法は従来の画像再構成法[2]より画質が向上した. また, リサーチ軌道によるスキャン法が最も優れていることが示された.

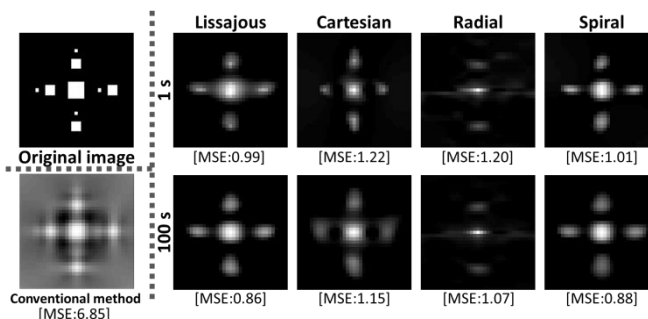


Fig. 3 Reconstruction results of each scan method.

参考文献

- 1) B. Gleich, J. Weizenecker, "Tomographic imaging using the nonlinear response of magnetic particles", Nature, vol. 435, pp. 1214–1217, 2005.
- 2) Y. Ishihara, T. Kuwabara, and N. Wadamori, "Image resolution and sensitivity improvements of a molecular imaging technique based on magnetic nanoparticles", in Electromagnetic wave, by Vitaliy Zhurbenko, In-Tech, pp. 493–510, 2011.
- 3) J. Weizenecker, J. Borgert, and B. Gleich, "A simulation study on the resolution and sensitivity of magnetic particle imaging", Phys. Med. Biol., vol. 52, pp. 6363–6374, Oct. 2007.

MR elastography における粘弾性率分布推定手法の特性評価

水野 僚介¹, 菅 幹生^{1,2}, 小島 隆行², 中牟田 隆司³, 吉満 研吾³

¹千葉大学, ²放射線医学総合研究所, ³福岡大学

1. 研究背景

疾患と生体組織の硬さ(組織弾性率)には相関があることが知られている. 生体組織の非侵襲的な弾性率測定法として, magnetic resonance elastography¹⁾ (MRE)がある. MREは外部加振装置によって生体内に発生させた弾性波を画像化し, 弾性波画像に対して逆問題を解くことで組織弾性率を定量的に推定する. 弾性率推定手法は複数提案されており, 手法毎に定量性やノイズに対する頑健性, 波長(周波数)依存性, 空間分解能などの特性が異なる. 本研究では, 推定手法の特性をシミュレーションと実験データから検討することを目的とした.

2. 方法

シミュレーションによる弾性波画像は, 弾性率が4 kPaで均一な立方体の弾性体上面に, 上面と平行な方向に振動を与えることで下面方向に伝搬する横波を想定して作成した. 実験による弾性波画像は, MRI装置(Discovery MR750 3T, GEHC-J)を利用し, アクリルアミドを主成分とする均一円柱状弾性ゲルファントム上面に空気圧振動子を配置することで取得した. 加振周波数は, 60 Hzと80 Hz, 100 Hz, matrix sizeは64 x 64 x 64, voxel sizeは4 x 4 x 4 mm³とした.

推定手法はdirect inversion (DI)とintegral type reconstruction formula²⁾ (ITRF), local frequency estimation³⁾ (LFE)を対象とした. DIでは前処理としてノイズ低減処理を, DIとITRFでは縦波を取り除くための処理を適用した. ITRFで利用するテスト関数のサイズは7 pixelとした. LFEはMayo Clinicが公開しているソフトウェア(MRE/Wave)を用いた. 弾性率分布画像(elastogram)に対して, 撮像領域を中心に15 x 15 pixelのROIを設定し, 平均値と標準偏差(SD), 変動係数(CV)を算出した. 弾性波画像にはSNRが400から50になるようにノイズを付加した.

3. 結果

各手法で得られた代表的なElastogramをFig. 1に示す. ITRFはDIやLFEと比較して定量性が高く, ノイズに対して頑健で, 波長(周波数)依存性が小さいことが確認できた(Fig. 2). ITRFで利用するテスト関数の大きさは, 弾性波の半波長以上にする事で定量性が高くなることが確認できた(Fig. 3).

4. まとめ

粘弾性率分布推定手法をシミュレーションと実験データを用いて比較することで, ITRFはDIやLFEよりも定量性が高く, 波長(周波数)依存性が小さく, ノイズに対して頑健であることを示した. 今後の課題は, ITRFで利用するテスト関数の自動設定法の開発や, 空間分解能特性を評価することである.

参考文献

- 1) R. Muthupillai et al., SCIENCE, 1995 269:1854-1857
- 2) M. Suga, et al., Proc. ISMRM, 2009;17:2506
- 3) A. Manduca et al., Med. Image. Anal., 2001, 5:237-254

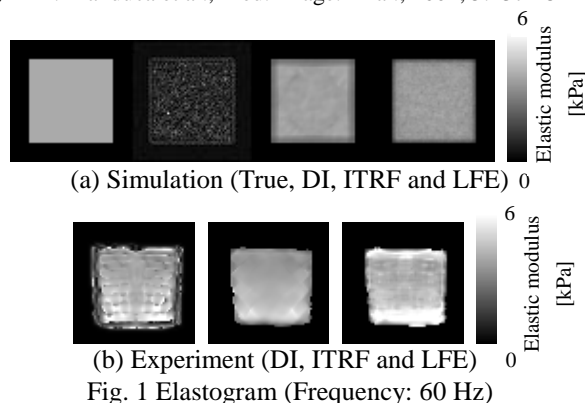
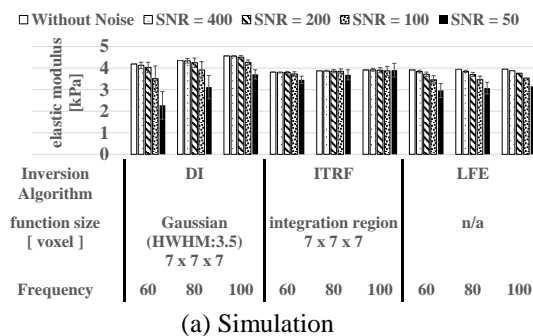
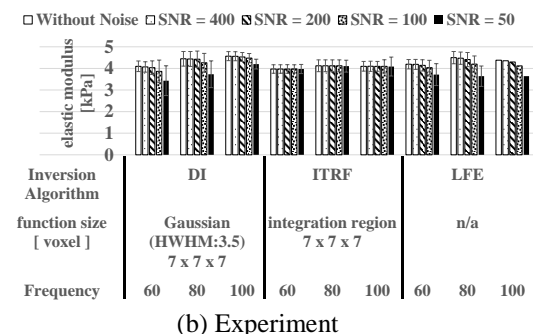


Fig. 1 Elastogram (Frequency: 60 Hz)



(a) Simulation



(b) Experiment

Fig. 2 Estimation result

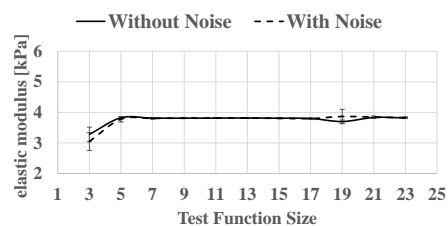


Fig. 3 Relationship between test function size and elastic modulus

多呼吸周期 MR 画像を用いた肝臓3次元動態モデルの構築

熊本 悦子¹, 松本 龍彦², 林 真弘², 黒田 輝^{3,4}

¹神戸大学情報基盤センター, ²神戸大学大学院システム情報学研究科, ³東海大学大学院工学研究科,
⁴千葉大学フロンティア医工学センター

1. はじめに

MRガイド下集束超音波治療を呼吸等による移動・変形を伴う肝臓に適用するには, その動きに追従して照射対象を固定, すなわち「ロックオン」する必要がある¹⁾. そこで我々は, 肝臓のマルチスライスMR画像を用いて, 3次元動態モデルを構築し, 血管の樹状構造に基づく移動・変形の動態解析結果を元に照射点追尾を行うことを考えた. MR画像を用いた肝臓の3次元モデル化や4次元撮像には, ナビゲータエコーを用いた方法²⁾, 呼吸同期による方法³⁾等がある. これらの方法では, 撮像したい呼吸位相を確認しながら撮像するため, 連続した呼吸位相を再現できる画像を取得するのに時間を要する. 本研究では, 患者の負担を軽減するため, 息止めなどの呼吸制御は可能なかぎり行わず, 比較的ゆっくりとした呼吸の下で撮像した画像の並べ替えを行うことで, 肝臓3次元動態モデルを再構成する手法を提案する.

2. 方法

まず息止めによる腹部冠状断面像を撮像し, 次にゆっくりとした呼吸下での腹部矢状断面マルチスライスMR画像を取得する. 撮像は, 3.0T MR装置(Signa EXITE HDxt ver.16, GE Healthcare UK Ltd.)を用いて行い, 高速撮像法でありながら高いS/N比が得られ血液や水などの組織が高信号となるTrueFISPを用いた. 1群目の画像上で横隔膜を含む小領域を設定し, 以降の画像群についてはテンプレートマッチングを用いて横隔膜領域の位置を抽出した. マルチスライスの横隔膜位置の変化とあらかじめ撮像した冠状断面(Fig.1)の横隔膜位置を比較することにより, 呼気, 吸気, 最大呼気, 最大吸気に分類した. 抽出した横隔膜の動きが連続となるよう分類した

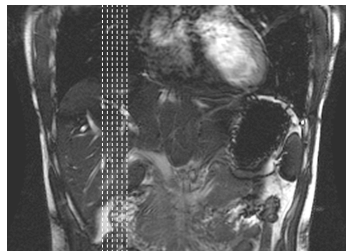


Fig.1 Image slice locations on coronal image (dotted lines).

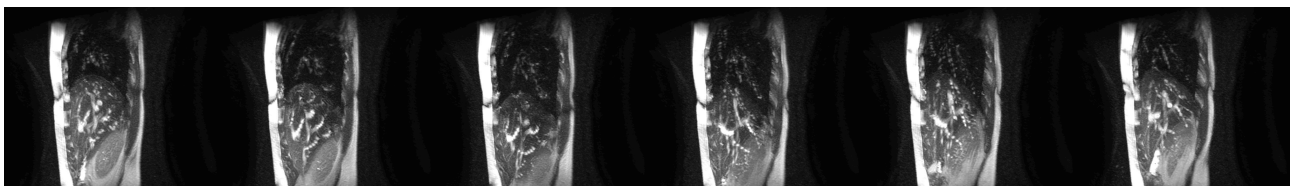


Fig. 3 Reconstructed four-dimensional liver model (frame=5,15,25,35,45,55)

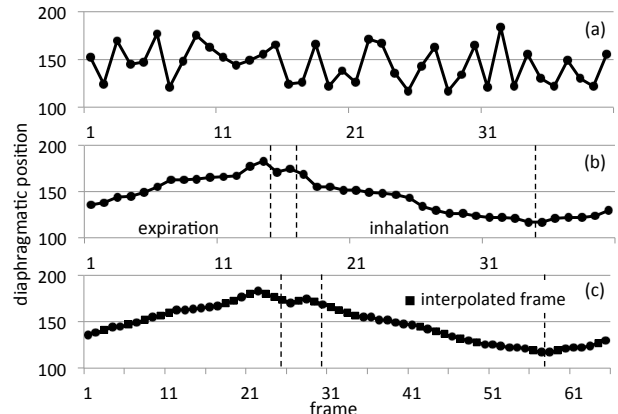


Fig. 2 Diaphragm positions of each frame.
(a) Original, (b) arranged, (c) interpolated

めらかな肝臓3次元動態モデルを構築した.

3. 結果と考察

健康ボランティア腹部のゆっくりとした呼吸下での矢状断面6スライスのマルチスライス像41群および息止めによる冠状断面像を取得し, 肝臓4次元モデルを構築した. Fig. 2に横隔膜位置の推移, Fig. 3に構築した3次元動態モデルを示す. モデルの時間軸連続性は, 横隔膜位置の抽出精度に左右される. 肺野と肝臓組織の境界部分は比較的コントラストが高く, テンプレートマッチングにより横隔膜を含む領域は全画像246枚中241枚(98%)認識されたが, 領域内での横隔膜位置にはばらつきが見られたため今後改善の必要がある.

4. まとめ

ゆっくりとした呼吸下で撮像したマルチスライスMR画像より, 肝臓3次元動態モデルを構築した. 今後, 横隔膜位置の認識率を向上すると共に, このモデルより肝臓の移動・変形を定量的に捉え, それに基づいた集束超音波の照射点追尾手法を検討する.

参考文献

- 1) D.Kokuryo, E.Kumamoto, E.Takao, et al., Magn Reson Med, Vol.67, No.1, pp.156-163, 2012
- 2) J.Tokuda, S.Morikawa, H.A.Haque, et al., Magn Reson Med Vol.59, No.5, pp.1051-1061, 2008.
- 3) Y.Hu, S.D.Caruthers, D.A.Low, et al., Int J Radiat Oncol Biol Phys, Vol.86, No.1, pp.198-204, 2013.

Rapid imaging with compressed sensing in ultra-low field MRI

Kazuhiro Tamiwa¹, Takenori Oida¹, Tetsuo Kobayashi¹

¹Dept. Electrical Engineering, Graduate School of Engineering, Kyoto University

1. Introduction

Magnetic resonance imaging (MRI), which is able to obtain anatomical and functional tomographic images non-invasively, is a very important tool for medical diagnosis, basic science and so on. In recent years, ultra-low field MRI (ULF-MRI), whose magnetic field is much smaller than that of conventional MRI, has been attracted wide attention. Meanwhile, compressed sensing approach¹⁾ has been developed as a rapid imaging method in conventional MRI. In conventional MRI with wide bandwidth, MR signals are acquired in very short readout (sampling) time, so that phase encode reduction with compressed sensing is effective for rapid scan. On the other hand, since the Larmor frequency less than 10 kHz was utilized in ULF-MRI, a narrow signal bandwidth is used in MR signal detection. Therefore, ULF-MRI requires high frequency resolution with long readout time greater than 100 ms. In general, when a biological object is scanned, prolonged readout time causes motion artifact. In addition, since a minimum echo time is constrained by the readout time, prolonged readout time causes lower signal-to-noise ratio (SNR) due to T2 and T2* relaxation. In this study, we propose a readout and phase encode reduction method with compressed sensing to reduce readout time and realize rapid imaging in ULF-MRI.

2. Methods

In order to evaluate influence of readout reduction to image reconstruction, k-space data were created by Fourier transforming Shepp-Logan's head phantom image²⁾, whose matrix size was 256×256 . In this case, the phase encode steps were 256 and the readout data length was 256. Then, we simulated the compressed sensing with readout and phase encode reductions. Subsequently, we evaluated the similarity of the images between Fourier reconstruction with full sampled k-space data and L1-norm optimized reconstruction with undersampling data as follows.

1. The undersampling rates in phase encode steps (R_p) and readout data length (R_r) were determined with setting total under sampling rate to 20% ($R_r \times R_p = 0.2$).
2. The variable density undersampling¹⁾ of k-space data were generated at random.
3. The images were reconstructed from undersampled data by L1-norm optimization reported by Lustig¹⁾.
4. The similarity between original and reconstructed images were evaluated by information content weighted structural similarity measure (IW-SSIM) and information content weighted peak signal-to-noise ratio (IW-PSNR)³⁾.
5. Fifty patterns of undersampled k-space data were evaluated by repeating steps 2 to 4.

3. Results and Discussion

The 10% trimmed means of IW-SSIM and IW-PSNR as a function of R_p were shown in Figs. 1(a) and 1(b), respectively. These figures indicated that both of the similarity measures were dependent with R_p and had their maximum values when R_p was around 0.5. Therefore, the readout time was able to be shortened by compressed sensing with readout reduction. In addition, these results indicated that the images were able to be reconstructed with small errors by appropriate under sampling rates in both phase encode steps and readout data length.

Acknowledgement

This work was supported by JSPS KAKENHI Grant Number 26120522, 24240081.

References

- 1) M.Lustig, D.Donoho, J.M.Pauly, "Sparse MRI : The application of compressed sensing for rapid MR imaging," *Magnetic Resonance in Medicine*, Vol.58, No. 6, pp.1182-1195, 2007
- 2) Anil K.Jain, "Fundamentals of Digital Image Processing," Englewood Cliffs, NJ, Prentice Hall, p.439, 1989
- 3) Z.Wang, Q.Li, "Information content weighting for perceptual image quality assessment," *IEEE Transactions on Image Processing*, Vol.20, No.5, pp.1185-1198, 2011

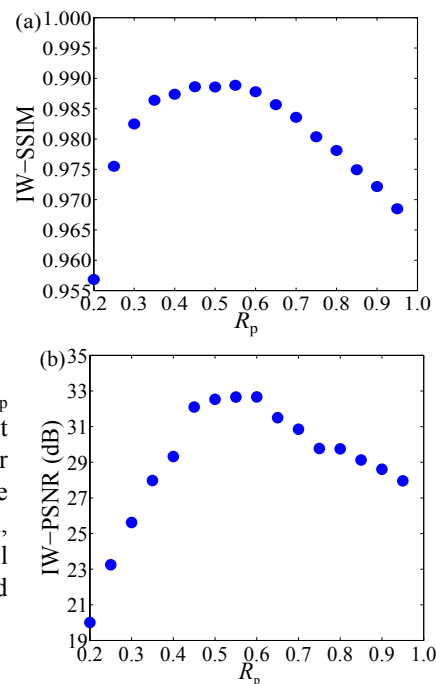


Fig. 1 IW-SSIM (a) and IW-PSNR (b) as a function of R_p .

Improvement of signal-to-noise ratio with multiple flux transformers in ultra-low field MRI using an atomic magnetometer

Takenori Oida¹, Masato Muto¹, Tetsuo Kobayashi¹

¹ Dept. Electrical Engineering, Graduate School of Engineering, Kyoto University

1. Introduction

Ultra-low field magnetic resonance imaging (ULF-MRI) has attracted attention because it has an advantage that a multimodal MRI system such as a hybrid MRI and magnetoencephalography system¹⁾ can be realized. In addition, it is possible to overcome limitations of present high-field MRI, e.g., a large chassis, heavy weight, and risk for patients with metal implants. In ULF-MRI measurements, since weak low-frequency MR signals must be detected, and thus, ULF-MRI requires magnetic sensors with high sensitivity at a low-frequency range. In recent years, it was reported that optically pumped atomic magnetometers (OPAMs) under a spin exchange relaxation free condition have very high sensitivity and their sensitivity are theoretically expected to be $0.01 \text{ fT}/\sqrt{\text{Hz}^2}$. Therefore, OPAMs have been considered to be as sensors of ULF-MRI. In ULF-MRI with OPAMs, because alkali metals, such as potassium, used for the OPAMs have different resonant frequencies from those of proton MR signals in the same magnetic field, the remote detection of the MR signals with a flux transformer (FT) was proposed by Savukov et al³⁾. However, the signal-to-noise ratio (SNR) of the MR signal detection was limited by not only the sensitivity of the OPAM but also that of the FT⁴⁾. In this study, to improve signal-to-noise ratio (SNR) of MR signal measurements in ULF-MRI with an OPAM, we propose a remote detection method by using multiple FTs with saddle-shaped pair coils.

2. Methods

In order to confirm the effectiveness of our proposed method, numerical analyses of SNR of MR signal measurements with an OPAM and multiple FTs were performed when the coil parameters of saddle-shaped output coil, such as angle and the number of turns, were changed. In addition, the parameters of the saddle-shaped output coil were optimized for each number of FTs. Subsequently, the SNR for each number of FTs was compared to evaluate the effectiveness of increase number of FTs.

3. Results and Discussion

Numerical analyses of SNR as functions of angle, the number of turns and the number of FTs were shown in Fig. 1(a), 1(b) and 1(c), respectively. Fig. 1(a) and 1(b) indicated that the parameters of the saddle-shaped output coil should be optimized for improving the SNR of MR signal measurements. Although signals were improved by increasing each parameter of output coil, thermal noises were increased by extending the copper wire of FTs. Therefore, the FTs had the optimum parameters from the balance between improving signals and increasing thermal noises. From Fig. 1(c), on the other hand, it was also found that the SNR was improved by increasing the number of FTs. However, the SNR was saturated by increasing the number of FTs. It was considered to be caused by increasing distance between the FTs and the coil center.

4. Conclusion

We demonstrate improvement of SNR in ULF-MRI with an OPAM by adopting multiple FTs according to numerical analyses. It was found that the increasing FTs was effective to improve SNR, whereas angle and the numbers of turns has optimal values.

Acknowledgement

This work was supported by JSPS KAKENHI Grant Number 26820156, 24240081.

References

- 1) P.T. Vesonen, et al.: "Hybrid ultra-low-field MRI and magnetoencephalography system based on a commercial whole-head neuromagnetometer," *Magnetic Resonance in Medicine*, Vol.69, No.6, pp.1795-1804, 2013
- 2) I.K. Kominis, et al.: "A subfemtotesla multichannel atomic magnetometer," *Nature*, Vol.422, pp.596-599, 2003
- 3) I.M. Savukov, et al.: "MRI with an atomic magnetometer suitable for practical imaging applications," *Journal of Magnetic Resonance*, Vol.199, No.2, pp.188-191, 2009
- 4) T. Oida, et al.: "Optimization of flux transformer for optically pumped atomic magnetometer in ultra-low field MRI systems," *IEEE Transactions on Magnetics*, Vol.47, No.10, pp.3074-3077, 2011

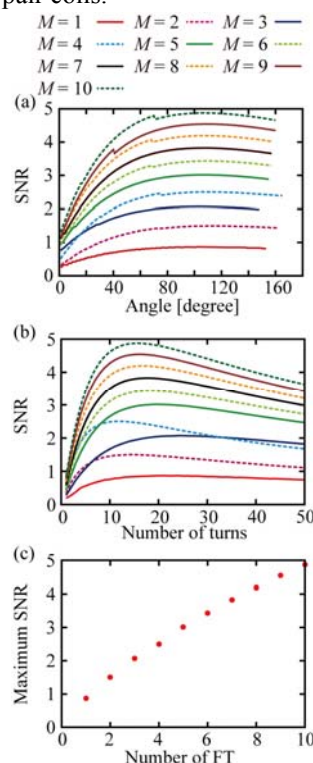


Fig. 1 SNR as functions of angle (a), number of turns (b), number of FTs (c). M represents the number of FTs.

Development of qualification methods of vascular conditions from nailfold microcapillary image

Katsuya Nagayama¹ and Ichiro Miura²

¹Kyushu Institute of Technology, ²Juntendo University

1. Introduction

According to the 2012 vital statistics of the Ministry of Health, Labour and Welfare, cause of death in about 30% of Japanese are vascular lesions such as heart disease and cerebrovascular disease. Microcirculation can be mentioned as one of those that contribute to its pathology. The impaired blood flow in lifestyle-related diseases has suggested involvement of vasa vasorum; perivascular capillaries. It is assumed that changes of capillary structure is the initial lesion of impaired blood flow. Observation of nailfold capillary is a simple method with non-invasive and blood sampling is not required. In collagen diseases such as scleroderma, involvement of the impaired blood flow is evident. Its involvement in hyperlipidemia, and other disease with high morbidity, is also becoming apparent.

The health status of the capillaries, have been conventionally determined by observations of experts who have experienced many cases. The development of quantitative techniques has been desired. In our study, we propose a new processing method of capillary fingertip image taken by the microscope. The quantification of microcapillary shape was performed by thickness, width, length, bend etc., and the objective is to contribute to preventive medicine.

2. Method of image processing and quantification

The flow of image processing from nailfold microcapillary figure are, noise processing, extracting feature points and the classification of the feature point by the SVM (Support Vector Machine). By this method, the feature extraction is possible, even for blurred vessels and intersecting blood vessels.

Normal pattern of nailfold capillaries is hairpin shape with thin line from the previous studies. In abnormal patterns with the disorder of microcapillary blood flow, the length is short, the width and vessel diameter is large, image is unclear and has meandering shape. Thus, we selected particularly 6 parameters as the index, such as, bending frequency, vessel diameter, clearness, capillary width, blood velocity and roundness, and quantified them and examined for usefulness. In addition, we have quantitatively evaluated the microcapillary change by supplement intake.

Fig.1 shows the capillaroscopic image and processed image before and after ingestion. Fig.2 shows the radar chart with the parameters quantified by image processing. The 6 parameters in the radar chart are, hairpin degree (bending frequency), diameter ratio, clearness, capillary width, blood velocity and roundness (aspect ratio). Radar chart indicates that health is better if the region is large. In this case, improvement tendency of blood flow was observed in straightness, hairpin degree and blood velocity, while the clearness, thickness ratio, width is invariant.

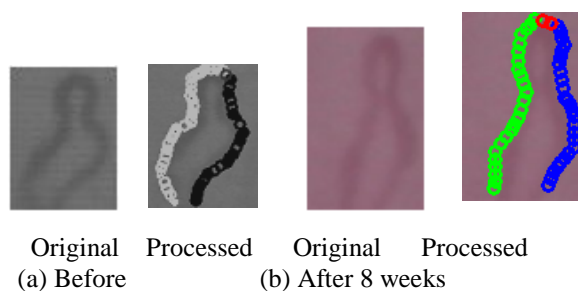


Fig. 1 Image processing of fingertip blood vessel

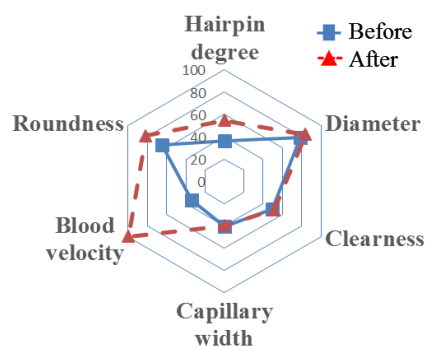


Fig. 2 Radar Chart

3. Conclusion

We examined the evaluation method by image processing of the fingertip blood vessels. Using the clinical figures of the nailfold capillary, we tried to clear characteristics of the fingertip capillaries by the feature point extraction. Also it has been realized to simplify the process by performing the numerical values for the state of the fingertip blood vessel from the clinical picture, to prepare a program for calculating the parameters automatically. Further, it could be useful to evaluate the performance of supplementation measuring the parameters of the microcapillary shape by image processing. In the future, high accuracy image processing is indispensable. It is expected to clarify the relationship between the nailfold microcapillary deformation and vascular disease.

Automatic Doppler Volume Fusion of 3D Ultrasound by using Point-based Registration of Shared Bifurcation Points

Shinya Onogi, Tuan Hung Phan, Takashi Mochizuki, Kohji Masuda

Graduate School of Bio-Applications and Systems Engineering,
Tokyo University of Agriculture and Technology, Tokyo, Japan

1. Introduction

Ultrasound is widely used for diagnosis such as heart or fetus assessment. Moreover, 3D blood vessel can be also acquired as 3D Doppler volume by a matrix array probe (3D probe) without any contrast agents. This information is also useful for intra-operation or intervention as well as diagnosis. However, Doppler volume is incomplete because obtained volume dimension is still limited and Doppler signal strength depends on flow direction. Therefore, in this study, we propose a methodology for multi Doppler volume fusion by automatic registration of shared bifurcation points.

2. Method

The proposed method can be briefly described in following steps, 1) Obtain multiple Doppler volumes from various directions at the same area in the body by using a 3D probe; 2) Measure Respective probe positions in 1) by a tracking device for initial registration. 3) Extract bifurcation points of the respective Doppler volumes by 3D thinning processing, 4) Register the respective point sets by using the probe position 2) as an initial transformation, 5) Find the best fitting transformations from all combinations of the bifurcations using point-based registration.

3. Validations

To validate the proposed method, 20 Doppler volumes of four human subjects were acquired (five volumes per a subject). As for the initial registration based on a tracking device, the errors were 10.35 mm. Meanwhile, the final errors after the proposed registration were 0.53 mm. One of the fused result is shown in Fig. 2.

4. Conclusions

The results demonstrate that the proposed method has a great potential for intra-operative blood vessel network extraction to support minimally invasive surgery or therapy.

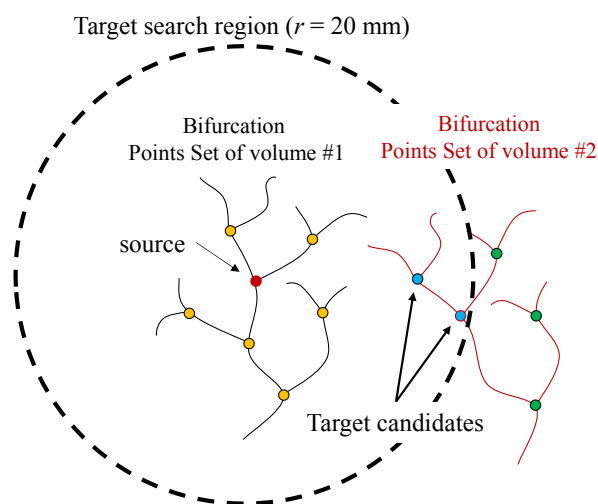


Fig. 1. Automatic search algorithm of shared bifurcation points.



Fig. 2. A sample of the results of volume fusion in a human liver. Left: transformed volumes, Center: Fused Volume, Right: Skeleton of the fused volume.

超音波三次元撮像用高速演算システムのハード・ソフト協調設計

柳田裕隆¹, 和田裕人¹, 田村安孝¹, 高橋龍尚²

¹山形大学大学院理工学研究科, ²旭川医科大学医学部

1. はじめに

超音波三次元撮像用のエコーデータや撮像領域の要素数は、2次元撮像用のデータに比べて数十倍から100倍程度のデータ量になる。市販の三次元撮像の表示は、1秒間に表示できるボリュームが[vol/s]程度になってしまっている。我々の三次元撮像用イメージングシステムでは、CPU単体で処理を行った場合0.134 [vol/s]と市販のものに比べても低速である。我々は、3次元データを表示するまでの時間を高速に行うために、FPGAやGPGPUや複数コアのCPUによる並列計算をするシステムを設計し、それぞれの表示速度の検証を行った。シミュレーションの結果、FPGAを用いた場合^[1]が最も高速で、ボリュームレートが約4.098となり、CPUのみのシステムに対し約30倍、GPGPUを用いたシステムでは約0.426となり約10倍の高速になり、市販のイメージングシステムに比べても高速に表示ができることが明らかになった。

2. 超音波三次元イメージングシステムの概要

本実験システムは、メカニカルスキャンも電子スキャンも行わない、コード変調による多重化送受信方式を採用している。この方式では超音波2Dアレイに配置されている送信素子は一斉に音波を送信し、受信もすべて同時に行う。このイメージングシステムのプログラムは相互相関と遅延加算の2つのプロセスで構成されている。一つ目の相互相関ではセンサアレイから全てのエコーデータを受け取り、各超音波送信素子からのデータを分別するための復調処理である相互相関関数の積算を行う。その後、超音波三次元空間上の経路ごとにエコー強度を配置するための遅延加算を行って1つの3次元画像を得る。本システムで用いている超音波2Dアレイとイメージングエリアやターゲットなどの配置をFig1に示した。受信素子は直径40[mm]の円周上に32[個]配置し、送信素子はその内側直径20[mm]および直径10[mm]の円周上に配置した、同心円状に配置している。超音波基本周波数は2.0[MHz]、受信のサンプリング周波数は16.0[MHz]で行った。また、イメージングエリアはアレイ中心から150[mm]離れた点を中心とした一辺が70[mm]の正方形である。各辺のピクセル数は縦および横が64[pixel]、奥行き方向が256[pixel]とした。

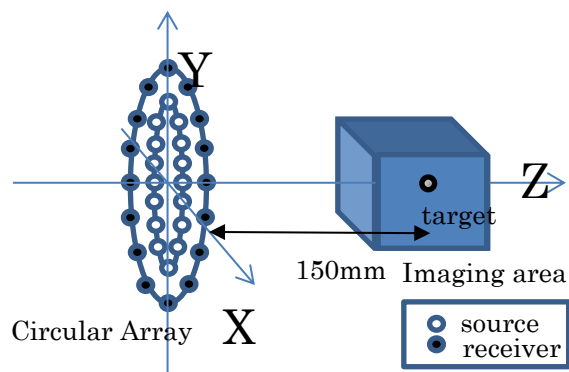


Fig.1 Imaging setup for 3D Acoustic Imaging

3. 並列化

計算時間の基本時間はIntel Xeon E5645を用いてプログラムを実行したときの実行時間7.455[sec] (0.134 [vol/s]) であり、この実行時間(ボリュームレート)に対しての効果を確認する。本イメージングプログラムはC言語で記述されており、プログラム記述並列化可能部分の抽出にはOpenMPを使用した。GPGPUで計算を行う際に使用するグラフィックカードはNVIDIA GTX295(クロック数:576MHz,メモリ:896MB,OpenCL 1.0)を用い、FPGAでは動作周波数50MHz,ロジック・エレメント数:38951個,メモリ:290KBのハードウェアの条件で計算を行った。

4. 結果

GPGPUを用いた並列計算ではボリュームレート約0.426 [vol/s]となり、CPUのみシステムに比べて3倍程度の増加にとどまった。FPGAを用いた場合のボリュームレートが約4.098[vol/s]となり、最速であった。CPUのみのシステムでのボリュームレートに対し約30倍高速化が実現した。今回はハードウェア化で一般的に行われる固定小数点化等の効率化を行っていない²⁾。この点を改善することによってさらに高速に演算を行える可能性がある。

謝辞

本研究は科研費(24500537)の助成を受けたものである。

参考文献

- 1) K. Satoh, J. Tada, H. Yanagida and Y. Tamura. Parallel image reconstruction operation by dedicated hardware for three-dimensional ultrasound imaging. Proc. of IEEE UFFC, (2007): 1522-1525
- 2) M. Mubarak Ali, R. Arun, S. Saravanan, "Runtime Partial Reconfiguration of FPGAs for DSP Applications," Procedia Engineering 30 (2012) pp.514-518, 2012

適応型信号処理を用いた高分解能超音波イメージング: 血管イメージングへの適用

瀧 宏文¹, 瀧 公介², 山川 誠³, 工藤 基², 椎名 毅⁴, 佐藤 亨¹

¹京都大学大学院情報学研究科, ²滋賀医科大学解剖学講座, ³京都大学先端医工学研究ユニット,

⁴京都大学医学研究科

1. はじめに

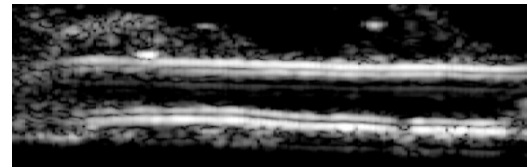
医用超音波イメージングの特色は、リアルタイムに画像取得が可能であること、軟部組織描出能に優れること、放射線被ばくがなく安全であること、安価で簡便に使用できることが挙げられる。このため、臨床現場では広く用いられている。特に生活習慣病のスクリーニング・治療効果の評価を行う場合、頸動脈の超音波画像を取得し血管壁の肥厚や狭窄の有無を調べる。超音波イメージングの高分解能化は頸動脈に生じる変化を早期に発見できる可能性があり、生活習慣病のスクリーニング・治療効果の評価に役立つと考えられる。

我々は周波数領域干渉計法と適応型信号処理法の1つであるCapon法を用いた信号処理法を用いリアルタイム高分解能超音波イメージング法を提案してきた^{1,2)}。図1は従来法で得られた豚大腿動脈のB-mode像と提案法で得られた画像である¹⁾。商用の超音波診断装置(Hitachi EUB-8500)を用いて撮像し、得られたraw dataに提案法を適用した。本稿では提案する高分解能超音波イメージング法について概説し、そのイメージング特性について報告する。

2. 適応型信号処理を用いた高分解能超音波イメージング法

周波数領域干渉計法は大気レーダー分野で開発された高距離分解能イメージング法であり、血管内optical coherence tomography (OCT)カテーテルでも採用されている。受信信号の各周波数成分の位相はその周波数と目標距離の積に依存するため、所望距離に対応する位相回転量を補正し全周波数成分を加算することにより所望距離からのエコー信号を強調することができる。超音波イメージングは大気レーダーやOCTカテーテルと異なり、広帯域信号を使用し、各周波数成分の電力正規化を行う必要がある。さらに、適応型信号処理法の1つであるCapon法³⁾を用いて適切な位相補正量を用いたイメージングを行い、距離方向の高分解能化を行う。

Capon法を適用する場合、受信信号の周波数成分間の相関を表す相関行列の推定が重要である。超音波イメージングでは異なる目標からのエコー間の相関が高いが、Capon法は異なる目標からのエコー間の相関が十分低い場合でのみ動作する。エコー間の相関を下げる方法として、一様周波数平均、適応型周波数平均を行う方法が大気レーダー分野で提案されている。異なる目標からのエコー間が無相関である場合、相関行列はToeplitz行列となる。適応型周波数平均とは、周波数平均後の相関行列をToeplitz行列に近づける、という手法である。他に、周波数平均後の相関行列がToeplitz行列になるよう平均することも可能である。



(a)

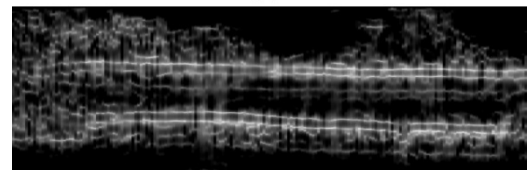


Fig. 1 Ultrasound images of a swine femoral artery (a) acquired by the conventional B-mode imaging method and (b) by the proposed method. The size of region of interest is 8 mm by 25 mm.

3. 結論

提案する適応型信号処理を用いた超音波イメージング法は医用超音波画像の距離分解能を大きく改善可能である。本技術を適用することにより頸動脈の高分解能超音波画像が得られ、生活習慣病の診断技術が大きく向上する可能性がある。

謝辞

本研究は、文部科学省イノベーションシステム整備事業、先端融合領域イノベーション創出拠点形成プログラム「高次生体イメージング先端テクノハブ」と、文部科学省科学研究費補助金24592513および25870345より支援を受けたものである。

参考文献

- 1) H. Taki, K. Taki, T. Sakamoto, M. Yamakawa, T. Shiina, M. Kudo and T. Sato, "High Range Resolution Ultrasonographic Vascular Imaging Using Frequency Domain Interferometry with the Capon Method," IEEE Trans. Med. Imaging. 31, 417-429, 2012.
- 2) H. Taki, T. Sakamoto, M. Yamakawa, T. Shiina, and T. Sato, "High Resolution Ultrasound Imaging Using Frequency Domain Interferometry — Suppression of Interference Using Adaptive Frequency Averaging —," IEEE Trans. Electron. Inf. Syst. 132, 1552-1557, 2012.
- 3) J. Capon, High resolution frequency- wavenumber spectrum analysis, Proc. IEEE, 58, 8, 1408-1418, 1969.

視覚障害者のための絵本読み聞かせ音声支援システムの開発

佐藤 優彦¹, 浅井 愛², 前田 義信³

¹新潟大学工学部福祉人間工学科, ²ヤマトシステム開発, ³新潟大学大学院自然科学研究科

1. はじめに

絵本は子の情緒発達において欠かすことのできない保育内容のひとつであり、絵本を囲み共に時間を過ごすことは親子のコミュニケーションを促進するうえで重要である¹⁾。しかし、視覚に障害をもつ親が子に絵本の読み聞かせを行うことは晴眼の親よりも困難であり、支援の必要がある。点字絵本はそのひとつであるが、機械的に製作することが難しく、普及させることが容易ではない。我々²⁾は、タブレット端末を用いた絵本読み聞かせ音声支援システムを開発した。

2. 絵本読み聞かせ音声支援システムの概要

Fig. 1に開発した絵本読み聞かせ音声支援システムの初期画面を示す。本研究では「いっすんぼうし³⁾」と「かさじぞう⁴⁾」を作成した。

Fig. 2に起動中の画面を示す。左右の黒枠は実際には表示されないが、この部分でページ送り、音声の一時停止・再生などの操作を行う。左側の黒枠部分では、右フリックで前ページへ戻り、シングルタップで現在のページの本文を音声で読み上げる。ロングプレスを行うと初期状態（絵本選択画面）へ戻る。右側の黒枠部分では、左フリックで次頁へ進み、シングルタップで本文の音声の一時停止／再生を行う。右側ではロングプレスはセットされない。



Fig. 1 Screenshot of the storytelling assistive system of picture book (initial state)



Fig. 2 Screenshot of the storytelling assistive system of picture book (black squares represent the control)

3. まとめ

開発したシステムを視覚障害者に使用してもらい、実際にお孫さんに読み聞かせを行ってもらった。今後の課題は体系的にユーザビリティ評価を行うことである。

謝辞

システムの評価に協力下さいましたT.I.さんに感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 川井 薫栄, 高橋美知子, 古橋エツ子:「絵本の読み聞かせと親子のコミュニケーション」, 花園大学社会福祉学部研究紀要, Vol.16, pp.83-96, 2008
- 2) 浅井愛, 谷賢太郎, 伊藤尚, 前田義信:「視覚障がいをもつ親に向けた絵本読み聞かせ支援アプリケーション開発の試み」, HCG シンポジウム 2013, pp.395-399, 2013
- 3) こわせ・たまみ, 高見八重子, 「いっすんぼうし」, すずき出版, 2006
- 4) せたていじ, 赤羽末吉, 「かさじぞう」, 福音館書店, 1966

Kinect を用いたリアルタイム手話通訳手法の開発

真田 慎¹, 岡田 志麻¹

近畿大学¹

1. はじめに

先天的に失調した聾者(ろうしゃ)や後天的に失聴した中途失聴者などの聴覚・言語障害者の中でも、健常者と同等の生活をするための援助を受けるのに必要な身体障害手帳を所持する人数は2011年現在で324,000人となっている。これと比較して、手話通訳士の登録者数は2013年現在で3,084人と少ないことが指摘されている。このため聾者と健聴者は円滑なコミュニケーションを取りづらくなり、聾者の積極的な社会参加を困難にしている。この問題を解決する手段として、どこでも簡便に使用できる手話通訳が求められている。

以上のことから、本研究ではKinectを用いたリアルタイムな手話通訳手法の開発を目的とする。また、本研究では、通訳のリアルタイム性を重視している。このため、本研究では手話に関連する前腕動作のエリア分けを事前に行うことで、高速性を実現することとした。

2. 方法

手話のリアルタイム通訳を行うには、複数種類の手指と腕の動作を識別する必要がある。そこで、本研究では深度カメラが搭載されているKinect for Windowsを用いて深度画像と人物の骨格情報を取得し、手指と腕の動作を認識する¹⁾²⁾。指の動作は、手の深度画像から輪郭を抽出し、その先端点を指先として検出を行う(Fig.1)。腕の動作は、基本的な手話単語約50語³⁾⁴⁾を分類して得られた各動作時の手首関節の位置を水線と青線の左右、水線と青線・緑線の左右、水線と緑線・赤線の左右の6パターンエリアに分類し、手話者の動作時の手首関節の位置と照合することで識別を行う(Fig.2)。動作のエリア分けに際しては、センサと被験者との位置関係を検出する必要がある。このため、Kinectセンサに対して被験者の任意な位置で着席させ、その場所で成人男性4人にKinectの前で手話の動作をさせた。

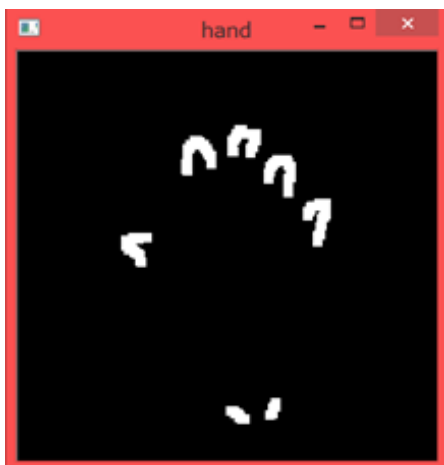


Fig.1 The detection for the outline of fingertips

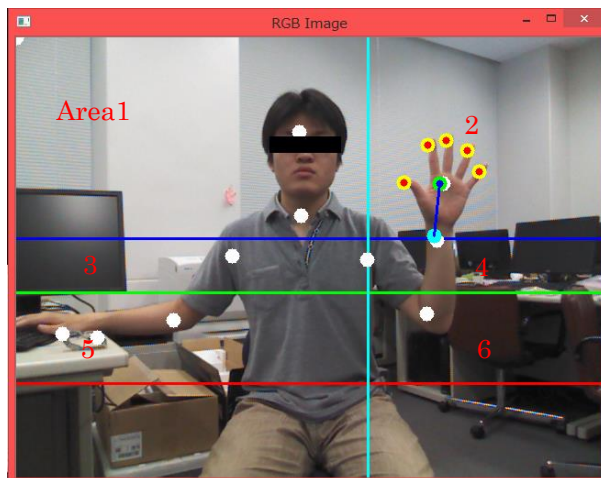


Fig. 2 Area classification for forearm movements

3. 結果および考察

指の動作認識はゆっくり動作させると認識可能であるが、1秒間に3回以上手を振る動作をすると正確に認識できない場合があった。また、手の輪郭の先端点を指先として認識するため、手を握った状態の時に指の付け根の関節を指先と誤認識する場合があり、手のひらと指との距離認識をするなどの改善が必要であることが確認された。また、腕の動作位置は動作による個人差が大きく、エリア分けに際して多少のずれが生じるという問題点があったため、個人差による誤差を含めた位置決定が必要であった。このため、エリア分けの閾値にピクセル値ではなく基準からの倍率で決定した。実際に4名の被験者に手話をさせた結果、着席位置の指示がなくともいずれも6パターンエリア内に収まった。以上のことから、設定したエリア分け方法は、前腕動作の大別には有効であることが確認できた。

参考文献

- 1) 杉浦 司, 岩崎 修介 著「Kinect for Windows SDK プログラミングガイド」、工学社、2012
- 2) 中村 薫, 斎藤 俊太, 宮城 英人 著「KINECT for Windows SDK プログラミング c++編」、秀和システム、2012
- 3) NPO 法人ハートリンクあゆみ(手話研究会) 編著「伝わる手話 使える手話」、池田書店、2002
- 4) 谷 千春 監修「すぐに使える手話基本単語辞典」、日本文芸社、2005

Development of simple back assistive device

Kousuke Muro¹, Toshihiro Wakabayashi¹, Atsuyosi Miura¹, Akito Nagasaka², Keiji Imado¹

¹Oita university, ²Asahi-Rubber Chemical Co., Ltd.

1. Introduction

There are many workplaces where manual workers suffer from low back pain. According to the newspaper, about 20% of Japanese people have experienced some sort of back pain¹⁾. Back belts are commonly used to prevent low back pain. But the back belt has little effect on reducing the effort of the erector spinae. By using some elastic elements, a simple on-body back assistive device is developed by Stevenson et al.^{2,3)}. The device works effectively on reducing the effort of the lumbar and thoracic erector spinae in bending forward posture with the aid of elastic elements. But the tension of the elastic element also exerts a resistance force against the flexion of the lower extremity. As most manual material handling tasks accompany walking behaviour, this problem has to be resolved. By solving this problem we can work effectively with this kind of on-body device to prevent low back pain. We have been attempting for years to find a solution to this problem⁴⁾. This paper introduces a simple and realistic idea by which the assistive device can be used in an almost resistance-free walking environment.

2. Method

Figure 1 shows a photo of the back assistive device developed. The main parts that facilitate walking are composed of two plastic plates. They are connected to the frame by a pin near the center of the frame. A belt is connected to the other end of the plate so as to rotate in the same direction while walking. The rocking motion of the two plates while walking enables almost resistance-free walking. In a forward bending motion, the two plates are forced to rotate in the opposite direction. However, they cannot rotate in the opposite direction due to the shapes of the plate. Thus, the elastic



Fig.1 Photo of back assistive device with easy-walk mechanism

elements, rubber tubes, are stretched in the forward bending motion. The tension of the elastic element is transformed to an assistive moment by the frame and the efforts of back musculature are reduced. To evaluate the ease of walking, the tension of the lower belt was evaluated by means of a strain gauge. The subject was a young male of height 1.75m, 68kg in weight and 22 years old.

3. Results

Figure 2 shows the change of the belt tension with time in walking condition. The figure on the left shows the device without an easy-walk mechanism and right one is of the device with the easy-walk mechanism. It is clearly evident that the easy-walk mechanism proposed is quite effective on the reduction of belt tension in walking condition. The peaks of belt tension of the easy-walk mechanism were reduced to about only 23% of that of the non-easy-walk mechanism. This mechanism does not affect the back support ability of the device.

References

- 1) 辻外記子, 腰痛 推定 2800 万人 40-60 代の 4 割悩む, 朝日新聞, DIGITAL, 2013
- 2) Mohammad Abdoil-E, Joan M. Stevenson, The effect of on-body lift assistive device on the lumbar 3D dynamic moments and EMG during asymmetric freestyle lifting, *Clinical Biomechanics*, 2008, pp.372-380.
- 3) Brett H. Whitefield, Patrick A. Costigan et al., Effect of an on-body ergonomic aid on oxygen consumption during a repetitive lifting task, *International Journal of Industrial Ergonomics*, 44, 2014, pp.39-44.
- 4) 今戸啓二, 簡易型腰部負担軽減具の開発, *臨床バイオメカニクス*, Vol.33, 2012, pp.127-132.

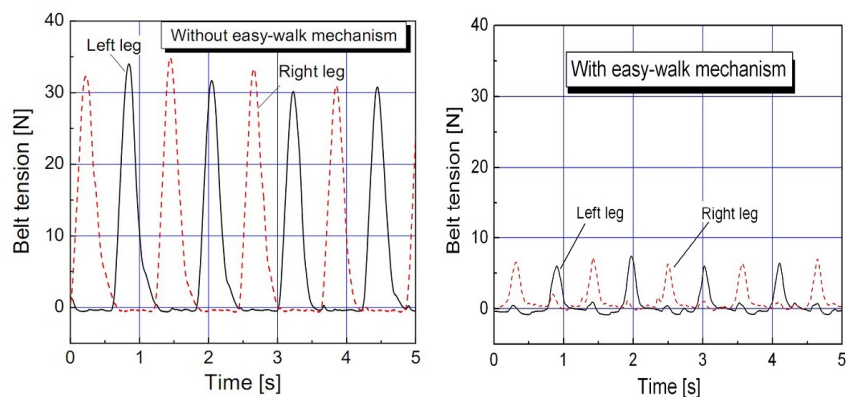


Fig. 2 Change of belt tension with time for the case of the non-easy walk-mechanism (left) and of the easy-walk mechanism (right)

Performance Evaluation of Parallel Link Type Human Ankle Rehabilitation Assistive Device

Teru Yonezawa¹, Kenta Nomura¹, Takayuki Onodera¹, Ding Ming²,

Hiroshi Takemura¹, Hiroshi mizoguchi¹

¹Tokyou University of Science, ²Nagoya University

Abstract

This paper presents performance evaluation of parallel link type human ankle rehabilitation assistive device (PHARAD) that can measure accurately the foot motions in six degrees of freedom (six-DOF) and reproduce the ankle joint motions. To measure and reproduce the complex foot motions, we adopted parallel link mechanism using six pneumatic cylinders with a displacement sensor and each cylinder is controlled by PID controller. In this research, we define the motions of a foot plate which is attached to a foot sole as the foot motions. A posture of the foot plate, i.e., the three-dimensional (3D) position (x, y, z) and rotation angle (θ, φ, ψ), is numerically calculated by solving the forward kinematics of PHARAD. We conducted two kinds of experiments to evaluate performance of PHARAD. The first experiment: verification experiments of measuring accuracy were implemented by comparing measured the foot plate motions of PHARAD with those of the motion capture system (MCS). This experimental results show that the maximum root mean square error (RMSE) of the 3D position and rotation angle measured by PHARAD are 2.6 mm and 1.5°, respectively. These results show that the measuring performance of PHARAD is accurate and valid. The second experiment: the verification experiments of reproducibility were implemented by comparing reproduced motions with input motions. This experimental results show that the RMSE of the 3D position and rotation angle are 5.6 mm and 6.1°, respectively. These results show that PHARAD has high reproducibility of the ankle motions and it can reproduce exercise therapy of physical therapists. Furthermore, we evaluated influence on muscles and blood flow of the lower leg using electromyographs (EMG) and tissue oxygen monitors. This experimental results show the effectiveness of PHARAD as a rehabilitation device.

俯瞰映像用カメラ及びクロマキー技術を導入した上肢・下肢リハビリ支援システム PLEMO-OLC の研究開発

○古荘純次¹, 田端晟定¹, 新井宇宙¹, 芝田実¹,

1 福井工業大学

1. はじめに

本報告では、俯瞰映像用カメラ(OverLookingCamera:OLC)、及びクロマキー(Chroma Key)を導入した上肢・下肢リハビリ支援システムPLEMO-OLCの研究開発について述べる。古荘研究室では、安価でかつ高い安全性を有するリハビリ訓練支援システムPLEMOシリーズの研究開発を行ってきた[1]-[5]。

2. 俯瞰映像を利用した上肢リハシステム

俯瞰映像用カメラを導入した上肢リハビリ支援システムを図1に示す。このシステムのメリットは、患者自身の腕が垂直ディスプレイに表示されることにある。従来のシステムでは訓練画面と把持部の位置情報のみが垂直ディスプレイに表示されるだけである。しかし、本システムにおいては患者自身の上肢が表示されるため、従来のシステムとは異なり、自身の身体認知機能等が生かされる。そこで、従来のリハ効果を上回る、リハビリ効果が期待される。

俯瞰映像用カメラを導入し、上肢リハビリ支援システムを使用している様子を図2に示す。



Fig. 1 PLEMO-OLC(Upper Limb)



Fig. 2 Reaching and Tracking Training



Fig. 3 PLEMO-OLC(Lower Limb)

3. 俯瞰映像を利用した下肢リハシステム

歩行のリハビリにおいては、前方を見ながらリハビリ訓練を行う必要がある。例えば、下方にある水平ディスプレイを見ながらリハビリ訓練を行ったのでは姿勢が悪くなる。そこで、図3に示すように俯瞰カメラにより上方から撮影し、垂直ディスプレイに映し、その画像を見ながら歩行訓練を行うシステムを研究開発中である。このシステムでは、垂直ディスプレイには自身の下肢の映像や、遊脚の足部が着地すべき位置などが表示される。この画像を見ながら訓練者は脚を動かす。

4. クロマキー技術の導入について

2章、3章で述べたシステムの問題点は以下の通りである。

- (1)液晶ディスプレイ保護のため、高価で重い強化ガラスと樹脂フィルムを積層したガラスを用いる必要がある。
- (2)ガラスが破損した場合や、落下した際の安全面の確保が必要。
- (3)ディスプレイと強化ガラスの厚さの為、リハビリ訓練面の高さが高くなる。

そこで、本研究では上肢・下肢リハビリ支援システムに、液晶ディスプレイや強化ガラス等に変わり、クロマキー技術の導入を行った。俯瞰映像用カメラで撮った上肢及び下肢の画像とリハビリ訓練用画像の重ね合わせをクロマキーの技法を用いて行い、垂直ディスプレイに表示する。この上肢・下肢リハビリ訓練では、システムが軽量かつ安価となり、安全面の確保もできる。また、このシステムにおいては、歩行リハビリ訓練において良い歩行姿勢を保ちながら歩行訓練ができる。

参考文献

- 1) 古荘純次, 田端晟定, 新井宇宙, 芝田実: 俯瞰映像用カメラ及びクロマキー技術を導入した上肢・下肢リハビリ支援システム PLEMO-OLC の研究開発, 第 32 回 ロボット学会学術講演会論文集, 2014
- 2) 古荘純次, 森川隆浩: (解説)ER 流体・MR 流体を用いたリハビリ支援システム, 日本フルードパワーシステム学会誌, 日本フルードパワーシステム学会, Vol.42 巻 No.1 号, pp.12-15) (2011)
- 3) 古荘純次: (巻頭言)上肢リハビリテーション支援ロボットとその本格的実用化, 総合リハビリテーション, 医学書院, Vol.38 巻 No.12 号 (2010)
- 4) 古荘純次, 菊池武士: (解説)上・下肢リハビリテーション, 福祉機器へのロボット技術の適用, 総合リハビリテーション, Vol.35, No.5, pp.439-445 (2007.).
- 5) 古荘純次, “リハビリテーション支援システムとその本格的実用化(EMUL, セラフィ, PLEMO シリーズの研究開発から PLEMO-Y の上市に向けて)”平成 24 年度専門講習会 [医工・産学官連携による近未来リハビリテーション支援ロボットの開発動向, 主催電子情報通信学会本部、同東海支部,2013]

圧電セラミックセンサを用いたベッド上での行動検知システム

佐藤 琢磨¹, 糠谷 祥子², 山本 詩子³, 田中 博⁴, 廣安 知之³

¹ 同志社大学大学院 生命医科学研究科, ² 東京医科歯科大学 医歯学総合研究科,

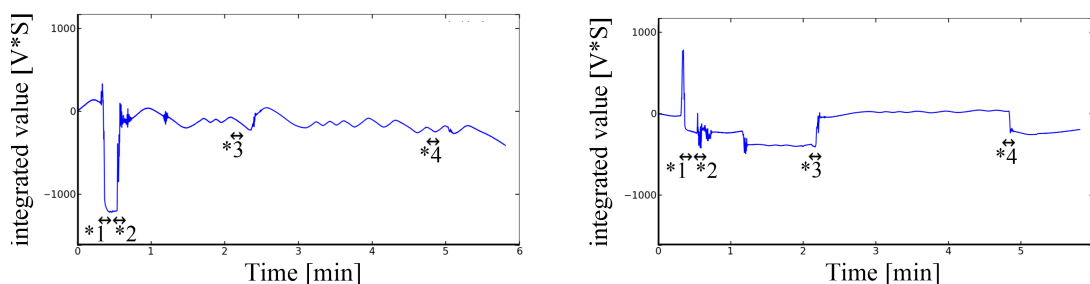
³ 同志社大学 生命医科学部, ⁴ 東京医科歯科大学 難治疾患研究所

1. はじめに

医療機関において、ベッドにおける患者の寝返りや就床、離床は負傷につながる危険があるため、ベッド上での患者の動作をモニタリングする必要がある。ベッド上での負傷の例として、動作の大きい寝返りはベッド転落につながり、骨折や脳内に重篤な障害をもたらす可能性がある。また認知症患者や精神疾患患者において、離床は転倒や徘徊に伴う凍死につながる可能性がある¹⁾。これらにより、本来の治療に要する日数以上に入院期間が長くなることや、在宅への復帰が困難になり医療訴訟に発展する事例も報告されている¹⁾。そのため、臨床の現場において、これらの防止は重要な課題であり定期的な見廻りが行われている。しかし、見廻りや看護計画だけではベッド転落や徘徊事故を完全に防ぐことはできず、より効果的な対策を講じなければならない²⁾。この対策として臨床の現場では、就床、離床、寝返りなどを検知する様々なシステムが利用されている。しかしながら、現状のシステムはセンサを患者に取り付けるため、センサが途中で外れ計測が中断してしまうといった課題がある。そこで、本研究ではベッドの左右の2本脚に圧電セラミックセンサをそれぞれ1つ配置した安価な起床検知装置を提案しセンサの波形から就床、離床、寝返りの方向の識別を行った。

2. 圧電セラミックセンサを用いたベッドにおける行動検知装置と決定木を用いた識別

本実験における行動検知装置では、ベッド上部左右の脚に圧電セラミックセンサがそれぞれ取り付けられている。センサ数は2つと少なく比較的安価に装置を構成することができる。また実験ではサンプリング周波数を1KHzとした。データ処理として、それぞれのセンサから得られた波形を加算、減算を用いて重ね合わせ2種類の波形を作成し、このそれぞれの波形に累積積分処理を行った。Fig. 1にデータ処理後の波形を示す。Fig. 1(a)は2つのセンサから得られた波形を加算し積分処理を行った波形、Fig. 1(b)は波形を減算し積分処理を行った波形である。*1は離床、*2は就床、*3は右方向への寝返り、*4では左方向への寝返りを示している。ここで、就床とは被験者がベッドに入る動作、離床とはベッドから抜け出す動作、右方向への寝返りとはベッド上で被験者が被験者から見て右方向に移動する動作、左方向への寝返りとは被験者から見て左方向に移動する動作と定義した。Fig. 1に示したように、離床では加算波形において減少、就床では加算波形において増加、右方向の寝返りでは減算波形において増加、左方向への寝返りでは減算波形において減少した。



(a) Additional superposition

(b) Subtractive superposition

Fig. 1: Example of different superpositions when each motions was occurred

次に就床、離床、右方向への寝返り、左方向への寝返りの識別を行うため累積積分波形の動作前後の増減量の特微量とし、決定木を作成した。決定木の生成にはC4.5アルゴリズムを用いた。被験者11名、就床29回、離床27回、右方向への寝返り85回、左方向への寝返り79回のデータにおいて識別率を求めた。この結果、識別率は就床92.9%、就床100%、右方向への寝返り86.0%、右方向への寝返り82.5%となった。

参考文献

- 1) 内藤守:「精神科看護における観察・評価・判断精神病院における患者の自殺に関連した裁判例を通して」, 新潟青陵大学紀要, Vol.6, No.5, pp.171-181, 2006
- 2) 山下茂子, 井坂茂夫, 田中美代子, 藤田敬子, 松田浩子, 山本利子, 市村小百合, 中村早苗, 秋元恵子:「転倒転落防止に対する看護師の意識調査」, 日本農村医学会雑誌, Vol.55, No.5, pp.472-479, 2007

グラヤトキシンの急性毒性と培養筋肉収縮抑制効果に関する研究

アルムフティ バヤーン¹、寺井 忠正²、宇戸 禎仁³

大阪工業大学 大学院 工学研究科 生体医工学専攻 大阪市旭区大宮 5-16-1

1. はじめに

近年、再生医療の進展によって骨格筋の培養技術が飛躍的に進歩し、次世代アクチュエータの開発や筋疾患の治療などへの、培養筋管細胞の医工学応用が注目されている。培養筋肉は外部から電気信号を印加することによって収縮をコントロールするのが一般的であるが、GTXの添加によっても収縮がコントロールできることがこれまでに明らかとなっている。GTXはハナヒリノキ、レンゲツツジ、アセビなどの数種類のツツジ科の植物から抽出され、神経細胞の Na^+ チャネルの膜透過性亢進作用を持つ神経毒として知られている。これまでにGTX類のマウスに対する急性毒性[1]とGTX類の立体構造及び官能基の種類に相関があることが分かっている。本研究では培養筋肉細胞を用いて、GTX類の膜電位や収縮運動に与える影響を測定し急性毒性との相関を調べることを目的としている。

2. 方法

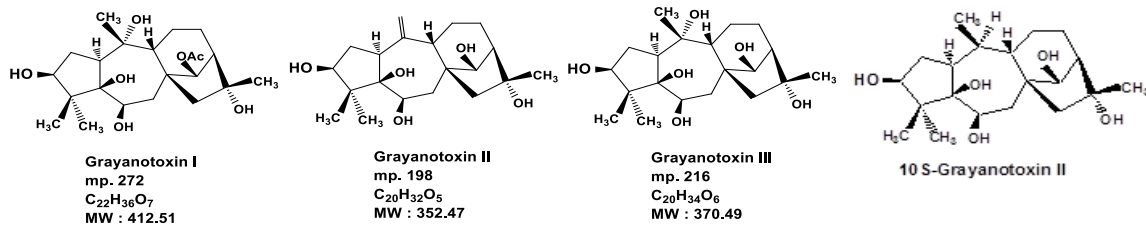


図1: グラヤトキシン種類の構造

今回の実験対象として培養筋肉細胞(マウス骨格筋由来筋芽細胞)を用いた 図1に今回使用したGTX類の構造を示した。グラヤトキシン類(GTX I、GTX II、GTX III、 α -dihydro-GTXII(10S-grayanotoxin II))の投与による収縮運動と膜電位への影響を測定した。細胞の収縮量は位相差顕微鏡像を高速カメラで撮影した映像から定量評価した。収縮前の画像から収縮を行っている画像を輝度について引き、得られた輝度分布の標準偏差を細胞の筋収縮量とした。

3. 結果

図2、図3から、GTX類を培養筋肉に投与すると直ちに筋収縮が抑制されることがわかった。図2に弱い種類のGTX (0.01% GTX II) 投与後しばらくすると筋肉細胞が再び収縮を再開し、図3に強い種類のGTX 0.0001% α -dihydro-GTXII投与後もしばらくすると筋肉細胞が再び収縮を再開した。このことから急性毒性と培養筋肉の収縮運動には強い相関が認められた。

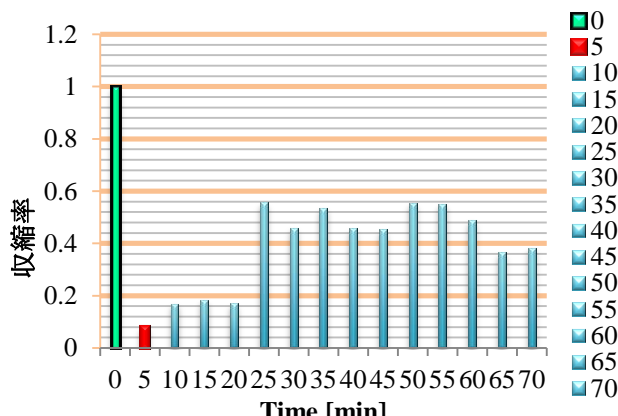


図2: 0.01% GTX II 投与後の収縮量の変化

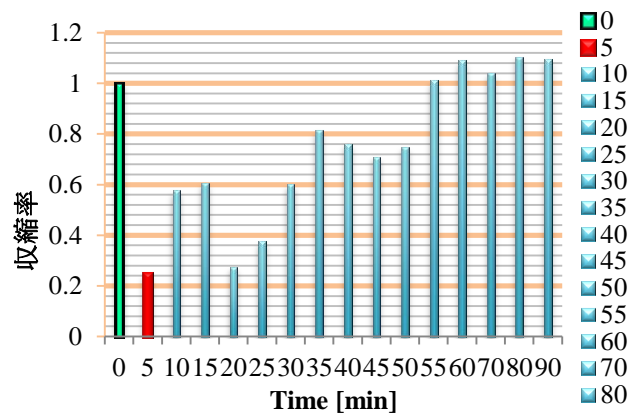


図3: 0.0001% α -dihydro-GTXII 投与後の収縮量の変化

参考文献

- 1) Y. Hotta et al. Archives of Toxicology, 44, 259-267 (1980)
- 2) 佐伯由香、黒澤美枝子、細谷彦彦、高橋研一 編「トータル人体解剖生理学」p91-93 丸善株式会社(2005)

バブルラフトメニスカスを利用した細胞パターンニング

田中 信行¹, 原口 裕次², 清水 達也², 大和 雅之², 岡野 光夫², 三宅 淳¹

¹大阪大学基礎工学研究科, ²東京女子医科大学先端生命医科学研究所

1. はじめに

肝臓は、代謝、合成、分解などの多様な機能を有し、欠損を受けた際の再生能力が極めて高い。ところが、肝臓から単離した肝実質細胞は、生体外で培養すると速やかに機能が失われてしまい、創薬における臓器モデルや再生医療用移植片としての利用が困難であることが知られていた。実際の肝臓微小構造に近づけるために、肝実質細胞と内皮細胞や線維芽細胞などの非実質細胞とをパターン化共培養することによって、単にランダムに共培養するよりもはるかに機能発現が高まり、長期にわたって維持されることが明らかになった¹⁾。従来の細胞パターンニングは、型枠に細胞をはめ込むものやパターン化された細胞接着因子を利用するもの²⁾であり、細胞に対する実験系の影響や煩雑さといった課題があった。本研究では、バブルラフトメニスカスを利用したシンプルな細胞パターンニング法を提案する。

2. 方法

直径35 mmの細胞培養皿にウシ胎児血清が添加されたDulbecco's modified Eagle's mediumを注入した。マイクロピペットチップの先端を培地中に挿入し、ピペッティングによって培地をバブリングした。バブルが培養皿表面全体を覆った後、ウシ頸動脈正常血管内皮細胞を 5×10^5 個播種した。37°C、5%CO₂、湿潤状態で2時間培養した後、Dulbecco's phosphate buffered salineで3回洗浄した。洗浄した細胞培養皿に0.4% w/vクリスタルバイオレット-メタノール溶液を入れ、室温で2時間染色した。染色液を取り除き、細胞培養皿を水道水で洗浄した後、細胞培養皿表面を観察した。

3. 結果と考察

バブリングによってほぼ同じ大きさの泡が発生すること、自発的に集積し規則正しく整列すること、泡と泡の間に培地が集まりメニスカスが形成されていることを確認した。これはバブルラフトと呼ばれ、結晶構造のモデルとして知られている³⁾。染色後の細胞培養皿表面にはバブルラフトのパターンが形成されていることを確認した。バブルラフトのメニスカスに細胞がトラップされ、その位置で細胞培養皿底面に沈降したために、パターンが形成されたものと推察できる。

4. まとめ

本研究では、バブルラフトメニスカスの利用によって、 10^5 オーダーの細胞に対して同時マニピュレーションが可能であり、培養皿全面に対して2時間以内に細胞パターンニングできることを示した。

謝辞

本研究は科研費23106009, 70344174の助成を受けたものである。

参考文献

- 1) C. H. Cho, J. Park, A. W. Tilles, et al.: "Layered patterning of hepatocytes in co-culture systems using microfabricated stencils," *Biotechniques*, Vol. 48, No. 1, pp. 47-52, 2010.
- 2) N. Tanaka, H. Ota, K. Fukumori, et al.: "Stamp-Stiffness Calibrated Micro Contact Printing," *Proceedings of the 2013 IEEE International Conference on Robotics and Automation (ICRA2013)*, pp. 2567-2572, 2013.
- 3) L. Bragg and J. F. Nye: "A Dynamical Model of a Crystal Structure," *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences*, Vol. 190, No. 1023, pp. 474-481, 1947.

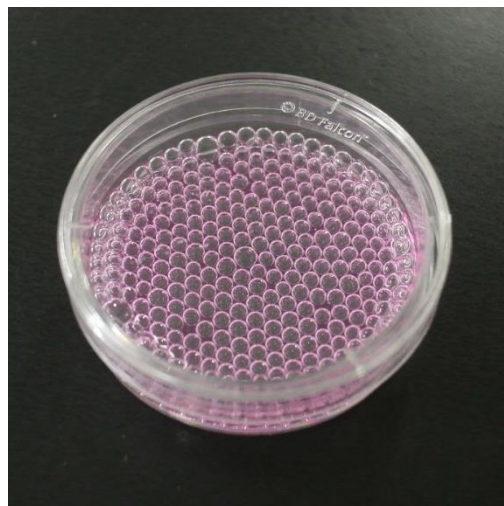


Fig. 1. A bubble raft covering over the surface of cell-culture medium on 35-mm-diameter cell culture dish.

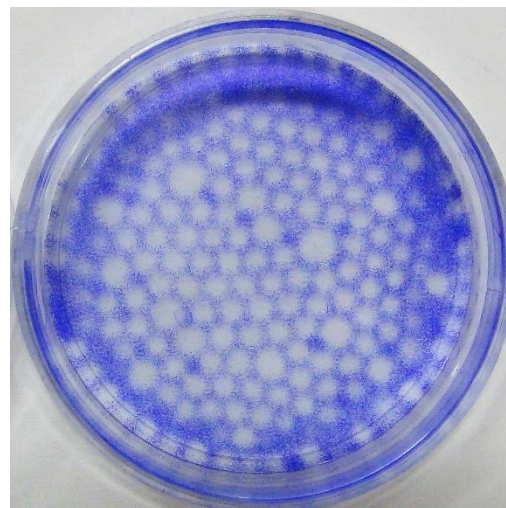


Fig. 2 Adhered cells stained with crystal violet showed a reticular pattern after cells were seeded on the bubble raft.

Development of Microfluidic Systems for Fabricating Cellular Multilayers

Koji Matsuura^{1,2*}, Ikuyo Sugimoto¹, Yuka Kuroda¹,
Koji Kadowaki³, Michiya Matsusaki³, and Mitsuru Akashi³

¹Research Core for Interdisciplinary Sciences, ²Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University, 3-1-1 Tsushima-Naka Kita-Ku, Okayama, Japan, 700-8530

³Graduate School of Engineering, Osaka University, 2-1, Yamadaoka, Suita, Osaka, Japan, 565-0871

1. Introduction

In tissue engineering, mimicking the cellular environment is important for restoring the functions of freshly isolated cells and regenerating tissue-engineered cell constructs. The deposition of layer-by-layer (LbL) films of the extracellular matrix (ECM) over cultured cells has been proved to be an important method for preparing cellular multilayers (1). Matsusaki et al. reported on cell coating with ECMs by using centrifugation to fabricate a cellular multilayer through a high-throughput method (2). The advantage of using the LbL centrifugation method is its simplicity of handling. However, the centrifugation process is laborious for LbL in that it requires centrifugation to be performed at least eight times (2). To solve these problems, we have developed an LbL coating method using a programmed microfluidic system.

2. Materials and Methods

The microfluidic system consisted of three micropumps, two solenoid valves, and a custom-made controller. Bovine fibronectin (BFN), gelatin (GEL), and washing buffer were added to the reservoirs. Solutions of 50 mM Tris-HCl, 0.05 mg/mL BFN, and 0.2 mg/mL GEL were added to the chambers connected to the micropump. We used the microfluidic system to coat the C2C12 cells with an LbL ECM in the microfluidic channel. The method involving centrifugation was carried out at $100 \times g$. Before coating, we stained the C2C12 cells with CellTracker Red. Coated C2C12 cells at different concentrations were cultured in a 35 mm dish or a 96-well microtiter plate in the presence of 5% CO₂ at 37 °C for 24 h.

3. Results and discussion

We compared the thicknesses of the cellular multilayer using the microfluidic ECM coating method and the conventional centrifugation method. The average fluorescence intensity was fitted using the Gaussian function, and the full width at half maximum (FWHM) was approximated to the thickness of the cellular multilayer. Correlations were observed between the thickness of the cellular multilayer and the seeded cell concentration in both groups: $R^2 = 0.51$ and 0.46 for the microfluidic system and the centrifugation method, respectively. For the regression coefficient of the intercept, which was indicative of the thickness of the cellular multilayer, a significant difference between the two groups was observed ($P < 0.05$) by ANCOVA analyses. We concluded that the 3D structures prepared using this microfluidic system were slightly higher than those fabricated by the centrifugation method.

4. Conclusions

When the ECM coating method was used to coat cells in the microfluidic channel, the heights of 3D cellular structures were larger than the height of the structure that was fabricated using the centrifugation coating method, and the labor that is required and the mechanical force that is applied to the cell can be reduced. In future, this microfluidic system could contribute to investigations of cross-talk between different cell layers via the secretion of chemical factors, and to the evaluation of differences in the responses of individual layers to mechanical stimuli.

Acknowledgements

This study was supported by a grant-in-aid for Scientific Research for Young Scientists (No. 22680036 to K.M. and 21700490 to M.M.) from MEXT of Japan, NEXT Program from JSPS (LR026) (M.M), PRESTO-JST (M.M.), and Special Coordination Funds for Promoting Sciences and Technology (K.M.).

References

- 1) M.Matsusaki, K.Kadowaki, Y.Nakahara, et al.: "Fabrication of Cellular Multilayers with Nanometer-Sized Extracellular Matrix Films," *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2007, 46, 4689-4692.
- 2) A.Nishiguchi, H.Yoshida, M.Matsusaki, et al.: "Rapid Construction of Three-Dimensional Multilayered Tissues with Endothelial Tube Networks by the Cell-Accumulation Technique," *Adv. Mater.*, 2011, 23, 3506-3510.

高感度 SHG 顕微鏡を用いた骨芽細胞産生コラーゲンの可視化

長谷栄治¹, 佐藤克也², 安井武史²

¹徳島大学 大学院先端技術科学教育部, ²徳島大学 大学院ソシオテクノサイエンス研究部

1. はじめに

骨は、体の中でも我々が動く時の要になる組織である。骨の変形・痛み・骨折は、QOL (Quality of life: 生活の質) を著しく低下させるため、高齢化社会が進行する我が国において、骨の再生エンジニアリングのニーズは極めて高い。骨は、骨芽細胞がコラーゲンを産生し、コラーゲンが高次構造(骨基質)を構築し、そこにミネラルが沈着することにより形成(再生)されていく。現在、iPS細胞や間葉系幹細胞を用いると骨芽細胞を作ることは可能であるが、その組織化過程には未解明な部分も少なくない。骨は機械的刺激に反応して常に作り替えられているが、骨芽細胞は周囲を固い組織に覆われている環境のため、組織化過程において生きた骨の中で細胞がどのような振る舞いをするのかは未だ解明されておらず、特にこの組織化過程ではコラーゲンが極めて重要な役割を果たしているが、これをその場観察することはこれまで不可能であった。

そこで本研究では、非染色・非接触・低侵襲で生体組織中のコラーゲンをその場観察可能な生体コラーゲンSHG (second-harmonic-generation; 第2高調波発生光) 顕微鏡¹⁾を用いて骨形成(再生)過程をコラーゲン動態の観点から明らかにする前段階として、骨芽細胞培養サンプルのイメージングを行い、コラーゲン構造の可視化を行った。

2. 高感度 SHG 顕微鏡

SHG顕微鏡では、コラーゲン分子固有の非線形光学特性を用いることにより、生きたありのままの状態のコラーゲン分子を可視化できる。従来のSHG 顕微鏡では、パルス幅100 fs 前後のモード同期Ti:Sapphire (Ti:S)レーザーが広く使われてきたが、コラーゲンの構造成熟度が低い生体サンプル(例えば、細胞産生コラーゲンやコラーゲングル)では、一般にSHG発生効率が低く、良好なコントラストのイメージを得ることは困難である。レーザー照射による生体ダメージを考慮すると、レーザー平均パワーを増大するのではなく、平均パワーを維持したまま、パルス幅を狭窄化することにより、ピーク電場を高くすることが望ましい。その結果、SHG 発生効率の低いサンプルでも、サンプルダメージを引き起こすことなく、SHG 光強度が増大させることが可能になる。最近では、パルス幅10 fs 以下のTi:S レーザーも市販されているが、このようなレーザー光源をそのままSHG 顕微鏡に用いると、対物レンズ等の光学素子の分散により、パルス幅が数百fs まで容易に拡がり、ピークパワーを逆に大きく低下させる。本研究では装置構成がコンパクトとなる負分散チャープミラーで分散補償を最適化することにより、対物レンズ焦点位置でパルス幅20 fs が得られ(図1)、SHG 顕微鏡の高感度化を達成した。

3. 骨芽細胞産生コラーゲンの可視化

高感度化したSHG顕微鏡を用いて、骨芽細胞播種培養組織のSHGイメージングを行った。図2に、骨芽細胞産生コラーゲンサンプル(培養2ヶ月)のSHG イメージを示す。今回のパルス幅狭窄による高感度化の結果、培養骨芽細胞産生コラーゲン分布を可視化することに成功した。骨芽細胞が産生したコラーゲンには、リン酸カルシウムで出来た骨を構成する成分であり、ハイドロキシアパタイトを主成分とするミネラルが塊となって沈着する(石灰化)することが報告されていることから²⁾、SHGイメージで見られる団子状の塊は石灰化部分であると考えられる。

参考文献

- 1) Shmuel Roth and Isaac Freund: "Second harmonic generation in collagen," The Journal of Chemical Physics, Vol.70, No.7, pp.1637-1643, 1979
- 2) Hajime Ohgushi, and Arnold I. Caplan: "Stem cell technology and bioceramics: From cell to gene engineering," Journal of Biomedical Materials Research, Vol.48, No.6, pp913-927, 1999

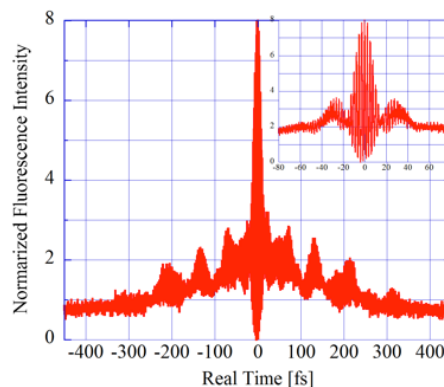


Fig.1 Interferometric autocorrelation traces at the focal plane. The inset shows traces after the laser output.

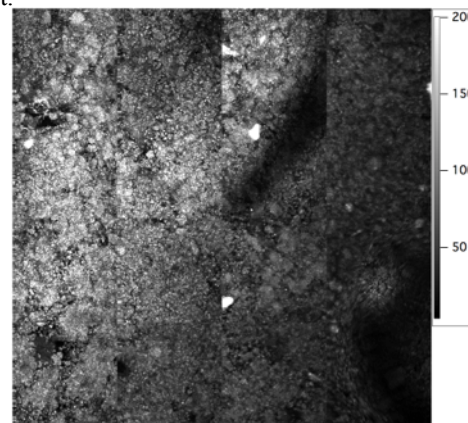


Fig. 2 SHG images of osteoblasts populated collagen. The image size is 840 μm *840 μm

ルシフェリン-ルシフェラーゼ反応による発光現象を利用した 生体材料の抗血栓性評価

石野 直明^{1,2}, 藤里 俊哉¹

¹大阪工業大学大学院工学研究科, ²藍野大学医療保健学部臨床工学科

1. はじめに

人工臓器や血液体外循環回路などの血液と接触する生体材料は常に血栓を形成する危険がある。形成された血栓は脳梗塞など重度の合併症を引き起こす危険因子となるため、このような生体材料には優れた抗血栓性が求められる。抗血栓性は、多くの場合動物実験によって評価されるが、血栓の形成過程を経時的に評価することは困難である。また、動物実験においては「3R (placement, Reduction, Refinement) の原則」が提唱され、動物実験に代わる評価方法の確立が望まれている。我々はこれまでに、血小板凝集時に濃染顆粒からアデノシン三リン酸 (ATP) が放出されることに着目し、血栓形成をルシフェリン-ルシフェラーゼ反応による発光現象として捉えることに成功している。そこで本研究では、この実験系が動物実験の代替法として、生体材料の抗血栓性評価に有用であるかを検証した。

2. 実験装置と方法

実験装置の概略をFig. 1に示す。試験管(A), あるいは生体材料を接続した循環回路(B)にヘパリン加血を充填した。硫酸プロタミンを注入することで血小板凝集が惹起され、濃染顆粒内のATPが放出される。このATPは、硫酸プロタミンと同時に注入したルシフェリン-ルシフェラーゼ発光試薬と反応し、ピーク波長がおおよそ560 nmの発光を生じる。直径10 mmのホールを通過した光子を試料から35 mmの位置に設置した光電子増倍管(浜松ホトニクス:H7360-01)で1秒毎に計測した。予備実験として、APT標準試薬を用いて本実験装置の検量線を作成した。次に、Fig. 1(A)の試験管内に条件の異なる血液を入れ、血小板凝集時の発光量を計測した。Fig. 1(B)の循環回路に種々の生体材料を接続し、同じく発光量を計測した。血液の状態および材料の差異による発光量の変化を比較することで本実験系の有用性を検証した。

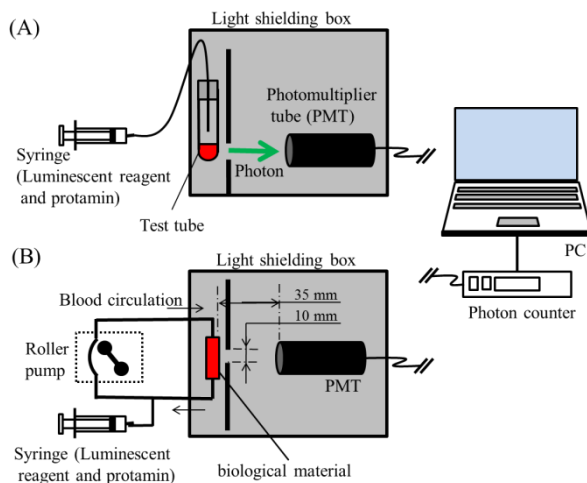


Fig. 1 Schematic diagram of experimental apparatus for detecting luminescence.

3. 実験結果

本実験装置で計測した発光量とATP濃度との関係は、ATP濃度が 2×10^{-12} から 2×10^{-7} Mの範囲で直線関係を示した。また、血小板濃度の異なる血漿を用いることで、血小板濃度に比例して発光量が増加し、血小板凝集を高感度に検出可能であることを確認した。Fig. 1(A)において、試験管内に血液を入れ、種々の条件下で凝固させたときの発光量を計測した結果、本装置を用いることで経時的かつ定量的に血栓形成を検出することができた。Fig. 1(B)の装置において、生体由来組織(ブタ頸動脈)内で生じる血栓の検出を試みた結果、組織を透過した微弱発光を捉え、血栓形成を検出することができた(Fig. 2)。

4. 考察

ルシフェリン-ルシフェラーゼ反応による発光現象を利用することで、生体材料内で生じた血栓を経時的かつ定量的に検出することができた。生体組織等の不透明な組織を透過した光を検出可能であることから、発光試薬や実験装置の条件を最適化することで、様々な生体材料の抗血栓性評価に応用可能であり、本実験系は、抗血栓性評価において動物実験の代替法として有用性の高い評価方法であると考えられる。

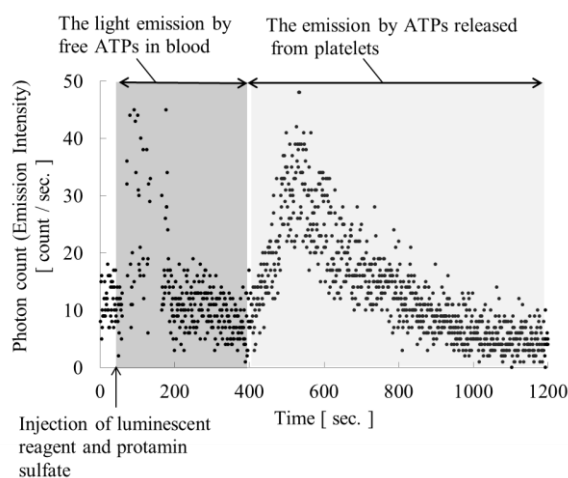


Fig. 2 Intensity of light transmitted through the tissue.

細胞接着タンパク質印刷のためのリフトオフ材料のパッド印刷

磯道 亮壯, 城島 弘, 二井 信行

芝浦工業大学工学部機械工学科

1. 緒言

細胞は増殖しかつ自由に移動するため, 同一の細胞の集団を細胞培養容器内で長期間モニターするのは困難である. この問題を解決するために, 細胞接着タンパク質のマイクロパターンを形成することがよく行われている. しかし, 既存の方法では, 既存の細胞培養容器, あるいは時計皿のような曲面をもつ容器上に手軽に形成することは容易ではない. そこで, 我々が注目しているのがパッド印刷と呼ばれる印刷技術である. これは, 凹版上のインキをパッドと呼ばれる柔軟な曲面に転写し, さらに被印刷物にパッドを押しつけてインキを印刷する方法であり, 3次元の既存の曲面に多様なパターンを形成できる特徴がある. しかし, 高価かつ貴重な細胞接着タンパク質をそのままインキとみなして直接パッド印刷するのは現実的でない. そこで, タンパク質は微量をコーティングしてリフトオフでパターンニングすることを想定し, そのリフトオフ材料としてゼラチンを無毒的にガラス基板上にパッド印刷することを試みた.

2. 実験

幅100 μm , 200 μm , 400 μm のライン&スペース(L&S)パターンのフォトマスクフィルムをレーザーフォトリソグラフィ(12800dpi, 海野技研)により作成した. シリコンウェハ上にフォトレジスト(SU-8 3035)を100 μm 厚でコートし, UV露光・現像し, 凸形状を得た. 凸形状をシリコンエラストマー(信越KE106)をコートし硬化, 離型したものをパッド印刷の凹版とした. ゼラチン水溶液の粘度は, 粘度計(A&D SV-100)にて測定した. 32°Cの30%ゼラチン水溶液を凹版に滴下し, パッド印刷機(安心堂 なんでもくん ANG-3)にて, 前記ゼラチン水溶液をシリコン製凹版からスライドガラス上に転写した. シリコン製凹版, ならびに, スライドガラス上に転写されたゼラチンの表面形状は, レーザー共焦点顕微鏡(オリンパス OLS4000)にて観察し, 同時に表面形状の測定も行った.

3. 結果・考察

Fig.1に, 400 μm L&S ならびに200 μm L&Sのシリコン製凹版から転写したゼラチンの顕微鏡像を示す. スライドガラス上にゼラチンによるパターンが大きな崩れなく転写されていることが確認できた. このゼラチンの厚さを測定したところ, 5 μm であり, 版の凹部深さ(実測値128 μm)と比較してかなり小さな値となった. さらに, 100 μm L&S の版からは, ゼラチンが基板に転写されなかった. これらの現象の原因は, 30%ゼラチンの粘度(3.0 Pa \cdot s @ 30.5°C)が高く, 凹版の奥部まで十分に充填されなかったためであると考えられる.

また, Fig.2にて, シリコン製凹版のL&S幅と, 当該凹版から転写されたゼラチンの幅を比較した. 200 μm L&S, 400 μm L&S版ともに, 転写されたゼラチンの幅について, シリコン凹版の凹部幅に対してほぼ一定の比率(20%程度)と推測される増加が見られた. これは, パッドが基板から離れた後のゼラチンのダレ, あるいはシリコン凹版がパッドに押しつけられた際の形状変化によるものであると考えられる. 以上の結果を受け, 目下, 必要なゼラチンパターンの解像度にしたがい, ゼラチンの粘度ならびに凹版の温度を最適化することで, 実現できる解像度の幅をより大きくできる可能性を検討している.

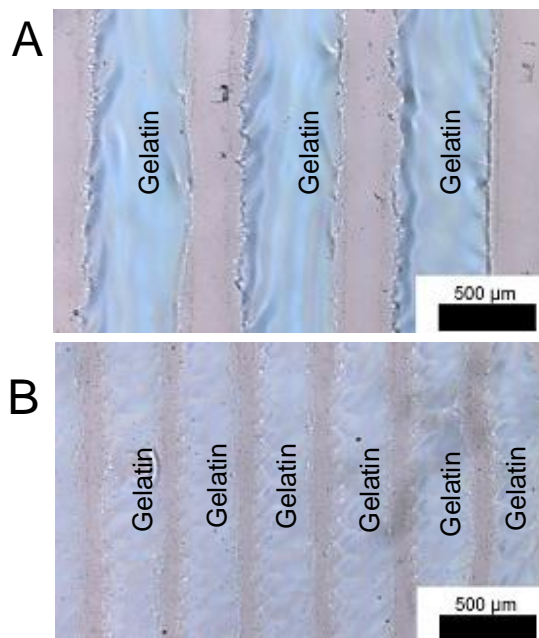


Fig1. Gelatin patterns transferred from A) 0.4 mm L&S silicone printing plate. B) 0.2mm L&S silicone printing plate

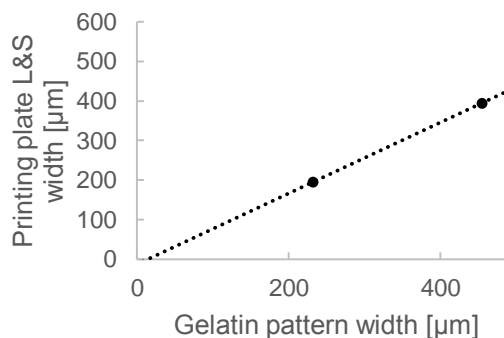


Fig2. Comparison of gelatin pattern width with L&S width of silicone printing plate.

マイクロ流体デバイス内の線虫の長期凍結保存

栗津 雄介, 秋永 悠人, 二井 信行

芝浦工業大学工学部機械工学科

1. 緒言

線虫は、多細胞のモデル生物として生体医工学分野の研究で広く用いられ、さらに各種化学物質に反応する嗅覚をもつため、バイオセンサとしての活用が期待されている。マイクロ流路を用いて線虫を拘束し、化学的な刺激を与えるマイクロ流体デバイスも多く発表されている¹⁾。しかし、線虫をバイオセンサとして実用化する際に問題になるのは、その使用期限が、線虫の寿命、あるいはその成長ステージに依存することにある。これは、好きなタイミングでセンサを使用できない、センサを大量生産・大量在庫するときの障害になることを意味する。そこで、線虫をデバイスとして幅広く普及させるために、テスト物質の濃度勾配を生成することのできるマイクロ流体チップ²⁾内に線虫を導入し、チップを線虫ごと-70°Cで凍結保存することを試みた。この実験を行う際に流路中の線虫の生死を、解凍後すぐに判定する必要があり、SYTOX Greenを用いた蛍光発色により確認する方法を検証した。

2. 実験

Fig.1に示すポリジメチルシロキサン(PDMS)製のマイクロ流体チップの流路凹形状(外形寸法 φ8mm × t1mm)は、文献²⁾に示す内容に従い、ソフトリソグラフィ法を用いて作製した。この凹形状をスライドガラスにプラズマ接合し、さらにその外側にPDMS製の円筒(OD12mm, ID10mm, H10mm)を、前記凹形状を囲むようにさらにプラズマ接合し、マイクロ流体チップとした。流路末端の線虫導入口に、線虫(*C. elegans*)を、グリセロール(凍結保護剤)を加えたM9 buffer(凍結保存液)に懸濁した液を10μl 滴下し、流路に線虫を導入した。さらに、前記PDMS円筒に前記凍結保存液を400μl加えた。線虫ならびに凍結保存液を導入したマイクロ流体チップをプログラムフリーザを用いて20°Cから-70°Cまで2K/minで降温し、30min保持した後にディープフリーザ(-78°C)に移し、150min保持した後、常温(25°C)にて5min静置し解凍した。前記導入口より、1μM SYTOX Green (Life Technologies)を含むM9 bufferを10μl滴下し、死滅した線虫に対して蛍光染色を行い、倒立蛍光顕微鏡(Leica DMIL LED/SFL100)で観察し、線虫の生死判定を行った。

3. 結果・考察

マイクロ流体チップ内に線虫を導入し、凍結・解凍後にSYTOX Greenを用いて生死判定を行った結果をFig.2に示す。生存率は、凍結保存液400μl、凍結方法はプログラムフリーザを用いて20°Cから-70°Cまで2K/minで凍結、そのまま-70°Cで30min保持し、その後ディープフリーザ(-78°C)で150min凍結・保持した後取り出し、常温(25°C)にて5min静置し解凍したチップの流路中(Fig.2A)において、Fig.2Bに示すように、個体数13のうち全個体が蛍光発色を示さなかった。なお、死滅した個体は、Fig.2Cに示すような蛍光を発することも確かめた。これより、前述の条件により流路内を含めチップ内で凍結・解凍を行った線虫については、死滅した個体は確認されなかった。一方で、一部の運動している線虫も蛍光染色されることがわかった。これは、個体としては生存しているが、細胞の一部が損傷している可能性が考えられる。その場合、SYTOX Green染色は、一部でも損傷している個体を発見可能な方法であるともいえ、より多くの個体を損傷無く凍結・解凍する手段の模索に適するといえる。また、SYTOX Greenを用いた死細胞検出法と、MTT-Formazan等、代謝のある細胞を染色する方法を併用する必要もあると考えられる。

参考文献

- 1) A. Ben-Yakar, N. Chronis, H Lu, Curr. Opin. Neurobiol, 19, 561–567, 2009.
- 2) T. Ogawa, N. Matsunaga, S. Inomata, M. Tanaka, N. Futai. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc. 2013:5521-4, 2013.

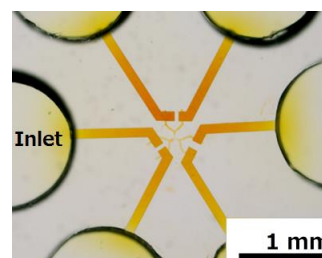


Fig. 1. Microfluidic chip for long-term gradient generation¹⁾.

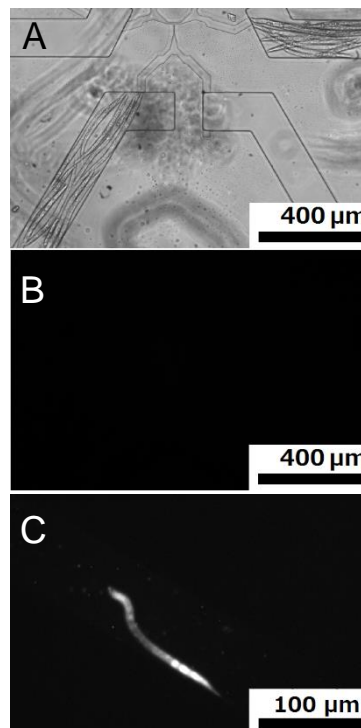


Fig. 2 A) Phase contrast image and B) fluorescence image of SYTOX-green-based nematode viability assay within cryopreserved microfluidic chip. C) fluorescence from a dead nematode.

オンチップマルチガスインキュベーションによる低酸素細胞培養のためのマイクロ流体チップ

高野 温¹, 田中 真人^{1,2}, 二井 信行³

¹東京電機大学先端科学技術研究科, ²東京電機大学理工学部, ³芝浦工業大学工学部

1. はじめに

血管新生や分化制御などの生体医工学にとって意義深い生命現象が低酸素状態で生じることが近年明らかになっている。しかし、細胞培養容器を低酸素状態にする方法として、マルチガスインキュベータ等に静置して低酸素状態を得る従来の方法では、細胞近傍のO₂濃度を制御しきれない可能性がある。その理由は、培地の厚みや細胞の代謝によって、細胞周囲に複雑な酸素濃度勾配が生じること、ディッシュ等の培養容器の多くは通気するため、培養装置から外に取り出す際にO₂濃度が上昇することにある。そこで、炭酸ガス(CO₂)インキュベータ外での細胞培養用に開発したオンチップCO₂インキュベーションするマイクロ流体チップ¹をもとに、マイクロ流体チップ上で酸素と炭酸ガス濃度を同時かつ安定して制御しながらマイクロ流体下に導入した細胞を低酸素培養する培養系を開発した。また、本チップで3日間培養した細胞のO₂濃度を酸素検出用の蛍光プローブで評価した。

2. 実験

図1にマイクロ流体チップの外観を示す。細胞培養は、ポリジメチルシロキサン(PDMS)製マイクロ流路内にある細胞培養ウェルにて行う。細胞の窒息を防ぐため、ポリ塩化ビニリデン(PVDC)製薄膜で、細胞培養ウェルでカバーした。同マイクロ流路をスライドガラスにプラズマ接合し、導入口/排出口を囲うようにPDMS製円筒を取付け、同円筒をさらに取り囲むようにアクリル樹脂製ジャケットリザーバを取付けた。点字デバイスの指板を、マイクロ流路が同ジャケットリザーバから露出した部位に取付けた。

チップのジャケットリザーバに封入するジャケット液は、炭酸ガス発生源としてNaHCO₃、酸素吸収剤としてアルコールビン酸ナトリウム(Asc-Na)、pH調整剤としてNa₂CO₃を純水に溶解して調製した。チップ上を正常酸素状態(5% CO₂, 21% O₂)、低酸素状態(5% CO₂, 5% O₂)に制御するジャケット液中のNaHCO₃, Na₂CO₃, Asc-Naの各濃度は、それぞれ、0.8M, 75mM, 0M, 0.8M, 125mM, 1.0Mとした。本チップへの細胞導入は、マイクロ流路をフィブロネクチンでコートしたのち、ラット肺胞上皮2型細胞(SV40T2細胞)を培地リザーバ内の導入口から流路内に導入し、細胞培養ウェル内で培養した。細胞の観察は、播種3日後に行い、位相差像および培養開始時から培地に添加した1 μM Hypoxia probe (LOX-1)の蛍光像を撮影した。

3. 結果・考察

マイクロ流体チップで3日間培養したSV40T2細胞の位相差像と蛍光像を図2に示す。図2A,Bの位相差像より、細胞が生存している様子が確認できる。一方、蛍光は、低酸素のジャケット液条件(図2B)でのみ見られる。この結果より、チップ上のCO₂濃度とO₂濃度が同時に制御され、チップに播種した細胞をCO₂インキュベーションしながら低酸素下で培養できたと考えられる。今後は、異なるAsc-Na濃度のジャケット液を封入したチップで培養した細胞についても蛍光法にて酸素濃度を評価することで、蛍光像から取得したヒストグラムがチップ上の酸素濃度を示すかをより詳細に検討する。

参考文献

1) A.Takano, M.Takaka, N.Futai. *Microfluid Nanofluid*, 12, 6, 2012.

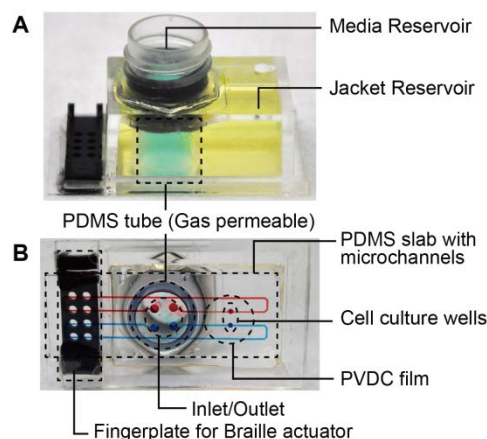


Fig.1 Microfluidic cell culture chip with on-chip atmosphere control. A) Side view. B) Bottom view

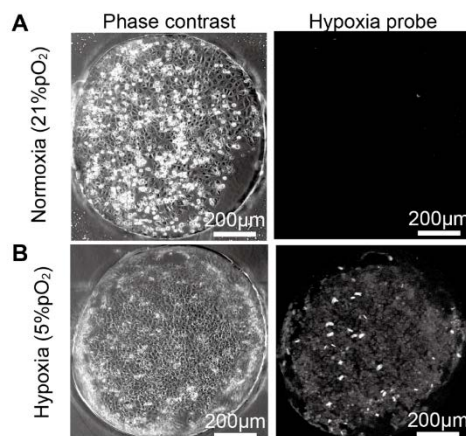


Fig.2 On-chip cell culture with different jacketing conditions at Day 3. A) Normal oxygen condition. B) Low oxygen condition (Hypoxia)

微小気泡凝集過程における細胞包含のための超音波照射法の検討

出町文¹, 村山優太¹, 保坂直斗¹, 望月剛¹, 梶田晃司¹, 絵野沢伸², 千葉敏雄²

¹東京農工大学 大学院生物システム応用科学府, ²国立成育医療研究センター

1. はじめに

がん治療には、外科療法・化学療法・放射線療法が主流であるが、近年ではこれらに加え第4のがん治療として、細胞免疫療法が注目を集めているが、血中に投与された細胞は全身に拡散してしまうため、標的がん内部への集積効率には限界がある。本研究室ではこれまで、体外からの超音波照射により体内に注入された薬物を、局所的に集約し薬効を高めるという超音波治療の実現を目指し、実験的検討を進めてきた。音響照射力を利用して人工血管中にて赤血球と微小気泡の流路内捕捉・凝集体の形成¹⁾、形成した凝集体を超音波照射により誘導制御できること²⁾、超音波照射凝集体を塞栓物質とした塞栓治療法への応用³⁾の可能性を示してきた。今回は凝集体形成の応用として、細胞を包含する凝集体形成方法を検討し、将来的に細胞送達を目指した実験結果について報告する。

2. 方法

本研究では、細胞を包含する微小気泡凝集体を形成し、今回は微小気泡と、細胞はラット由来のリンパ球を用いた。**Fig.1**に実験系を示す。水槽底面にトランスデューサを固定し、振動子表面から60 mm上部にポリエチレングリコールモノメタクリレート材質の、半球状のくぼみを有するプレートを設置した。くぼみは幅7 mm、最大深さ3 mmである。このくぼみ内に、均一に攪拌した微小気泡とリンパ球の混合液を100 μ l入れ、音波を照射し、凝集体形成過程をプレート上部よりマイクروسコープを用いて観察した。音波照射後、形成された凝集体をスライドガラスに載せサンプルを作製し、蛍光顕微鏡を用いて凝集体内のリンパ球の有無を観察した。

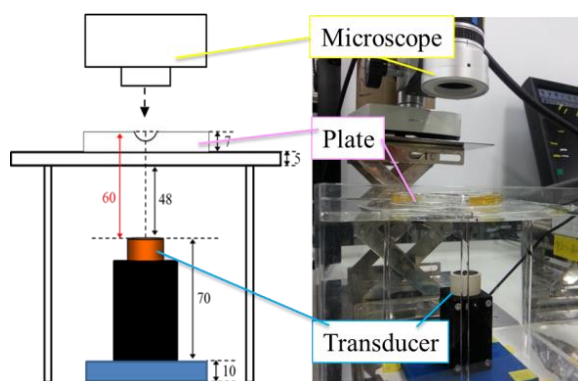


Fig.1 Experiment setup

3. 結果

Fig.2にリンパ球と微小気泡の混合液により形成された凝集体の顕微鏡画像を示す。微小気泡とリンパ球を見分けるために、あらかじめリンパ球を蛍光色素 CellTracker OrangeCMRA (invitrogen 社製) で染色した。この蛍光色素の励起波長は548 nm (緑)、蛍光波長は570 nm (赤) である。(i) 可視光, (ii) 可視光と励起光を当てて観察したところ、凝集体の中に蛍光の存在、すなわちリンパ球が含まれていることを確認できた。そして**Fig.3**に形成された凝集体のうちリンパ球を含む凝集体の数を数えて算出した細胞含有率のグラフを示す。全凝集体数278個のうち30個にリンパ球が含まれており (Positive), その細胞包含率は10.8 % となった。また、これらの形成された全凝集体の平均直径は約15 μ m となった。

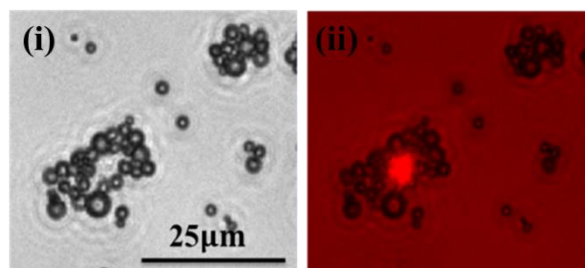


Fig.2 Aggregation with cell

4. まとめ

凹みを有するプレート内で凝集体を形成する実験系を構築し、微小気泡とリンパ球の混合液に音波を照射して凝集体を形成し、凝集体内にリンパ球が含まれている凝集体があることを確認した。

これらの結果より、微小気泡の凝集体形成過程においてリンパ球を包含可能であることを確認し、細胞送達の可能性が示唆された。

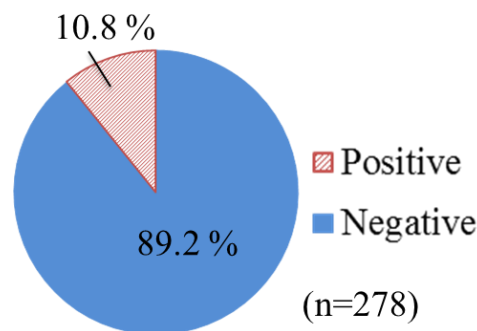


Fig.3 Cell content ratio of aggregations

参考文献

- 1) Masuda K, et al.: Jpn.J.Appl.Phys., Vol.50, 2011, 07HF11
- 2) Sigebara N, et al.: Jpn. J. Appl.Phys., 2013,
- 3) 出町ほか: 生体医工学, Vol.51, No.6, 2013, 374-383