

児童青年期精神障害および高齢者関連疾患における 先進的個別化予防ケアシステムの構築に関する研究

平成 20 年度～平成 24 年度

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

研 究 成 果 報 告 書

平成 25 年 5 月

学校法人名	梅 檀 学 園
大 学 名	東 北 福 祉 大 学
研究組織名	感性福祉研究所 健康科学研究センター
研究代表者	渡 辺 信 英

「研究成果報告書」によせて

東北福祉大学感性福祉研究所
健康科学研究センター
センター長 渡辺 信英

本報告書は、文部科学省における平成 20 年度私立大学戦略的研究基盤形成支援事業において選定された研究プロジェクト「児童青年期精神障害および高齢者関連疾患における先進的個別化予防システムの構築に関する研究」の成果報告書である。少子高齢化社会である我が国では、発達期においては発達障害に関する教育上の問題、思春期・青年期における不登校や引きこもりをはじめ、その他多くの問題行動がこの時期に頻発しており、高齢期についても世界に例をみない速さで進展した高齢社会において医療や福祉のニーズが著しく増大している。このような社会的背景のもと、問題解決の一助として、医学的観点からの研究をベースとして、保健、福祉の領域との連携を目指すことを目的に、上記のプロジェクトを立ち上げた。5 年間で多大な成果をあげるには広大過ぎるテーマであったが、避けて通ることが出来ない課題を中心に据えて、その研究基盤を形成することは必要不可欠であると考えた。

思春期・青年期では高機能自閉症と統合失調症、高齢期では動脈硬化症、骨粗鬆症、認知症などを対象として予防的観点に重点を置いた病態解明を目指し、特に精神疾患の病態解明に資する機能的磁気共鳴画像法 (fMRI) をさらに進化させて用い、それらの成果を基礎に据えた予防ケアシステムの構築を図ることを目指した。そのため、思春期・青年期における精神疾患を対象とするグループ、高齢者関連疾患を対象とするグループ、fMRI をより高度に進化させるためのグループの 3 つの研究グループに分けて取り組んできた。

研究期間が終了した現在、各グループ間の達成度において差があり、残された課題も多く、予定通り進行したとは言えない。残念なことは、平成 23 年 3 月 11 日に東日本大震災が発生したことである。被災地域に位置する東北福祉大学感性福祉研究所においては機器の破損やデータ喪失があったうえ、一時期、当該地域における生活上の困難の回復に時間を要したことや、研究関連病院である東北福祉大学せんだんホスピタルが震災被災者の救済に専念せざるを得なかった事情なども研究遂行に影響したことは否めない。

しかしながら、対象疾患における予防的観点からの病態解明に資するいくつかの新知見を見いだしたこと、特に fMRI の性能向上においては次世代型とでも呼ぶべき進化を成し遂げたことは特筆すべきことである。以上の点から、研究基盤の形成については成果を得たものとする。

今後は、本プロジェクトで形成された研究基盤を活用して各研究者が研究を進展させていくのはもちろんのこと、精神障害や高齢者関連疾患の有無にかかわらず個々人の脳機能の特異性を次世代型 fMRI を用いて明らかにすることで、人それぞれの生活の向上に寄与できるような研究領域を確立する可能性も開けてくるものと期待している。

目次

「研究成果報告書」によせて

I. 事業経過の概要及び収支	1
II. 研究成果の概要	8
III. 研究成果の詳細	32

I. 事業経過の概要及び収支

I. 事業経過の概要及び収支

1. はじめに

本研究プロジェクトは、高機能自閉症や統合失調症のような児童青年期精神障害、および動脈硬化症、認知症、骨粗鬆症などの高齢者関連疾患を対象としてその病態を解明し、それらの疾患に対しての先進的予防ケアシステムを構築することを目的として、平成20年度より開始された。さらに病態解明に当たっては、心理・生理および分子生物学的研究と共に、それらの神経基盤を明らかにするため、脳の非侵襲的機能測定において今日汎用されている機能的磁気共鳴画像法（fMRI）を、時・空間分解能を飛躍的に発展させて詳細な病態解明に資することが可能な、次世代型とでも言うべきシステムに進化させることを目的としたものであった。

そのための研究組織として、実践的アウトプットを担うプロジェクトと方法論的研究チームが共通ユニットとして一体となって研究を進めることとし、主たる3つの各研究グループ（1-3）と横断的な各専門4チーム（A-D）が共同して作業を行い、有機的に統合して研究を行うことを目指した。すなわち児童青年期精神障害（高機能自閉症・統合失調症等）研究グループ、高齢者関連疾患（生活習慣病・認知症・骨粗鬆症等）研究グループ、磁気共鳴法における新たな研究手法を用いた先端的脳機能イメージング研究グループのそれぞれは、（A）生命科学チーム（細胞レベルでの病因・病態の解明）、（B）先端的脳機能イメージングチーム、（C）人間社会学チーム（心理・ケアサポート）、（D）情報科学（ソフトシステム開発）チームと横断的に統合して研究を推進した。

しかしながら、平成23年3月の震災により本学の研究施設・設備も多大な被害を蒙り、研究の進捗に少なからず影響があった。具体的には、まずMRI設備においてマグネットの移動とMRI検査室のシールドの損傷が見られた。修復のために、MRIマグネットの磁場の停止、MRI検査室の壁および天井内部のシールド材であるケイ素鋼板の損傷部位の特定と修復、修復後のシールド性能の計測とMRIの性能評価、を順次行った。このため、MRIを再稼働できたのは平成23年5月末であった。また、細胞等を使用した各種研究は、機器破損により長期にわたり停止せざるを得なかった。このような背景も踏まえ、ここでは当初の目的の観点から各研究グループにおける活動の状況と当該研究期間に得られた主な成果について総括する。

2. 事業の経過と目標達成状況

(1) 研究プロジェクト

G1：児童青年期精神障害研究グループ（代表・佐藤善久、松江克彦、浅野弘毅、西尾雅明、渥美恵美、行場次朗、藤井俊勝）では、主として統合失調症の早期発見、早期介入のための素因的指標の検討を、統合失調症患者と同様の発症脆弱性を有するとされる統合失調型パーソナリティ保持者、さらには統合失調症患者を用いて心理生理的側面から研究した。その結果幾つかの敏感な指標を見いだした。統合失調症の病態解明に関してのプレパルス・インヒビション（PPI）研究において、能動的自己（動作）の影響を新たに検討したことは更なる病態解明に資するものである。震災により、東北福祉大学せんだんホスピタルは被災地の病院としての役割が大きく期待されたことから、計画されていた研究面での連携は一時断念せざるを得ない状況になった。しかしながら、病院側スタッフの協力により、現在では研究に参加可能な精神疾患患者を主治医からの紹介のもとリクルートできる体制が整っている。この体制のもと実施した統合失調症患者を対象とした研究では、能動的自己の認識に障害がある可能性が示されつつある。高機能自閉症については、これまで主として行動学的観察研究が行

われた。この疾患に特徴的なコミュニケーション障害については、その神経基盤についての基礎的研究が fMRI を用いて行われた。統合失調症における素因的指標の脳内機序に関する fMRI を用いた研究では、前頭前野に特徴的な活動パターンを見出しつつある。ACT（包括型地域生活支援プログラム）研究は臨床的側面を中心に行われており、素因的指標などの活用とそれらによる慢性化予防は今後の課題である。

G2：高齢者関連疾患研究グループ（代表・船渡忠男、加藤伸司、鈴木堅二、齋木しゅう子、大内誠、齋藤邦明、菅原明）は、動脈硬化症については関連血管内皮細胞の遺伝子発現に注目してジェノタイプバイオマーカーを追求し、その手がかりを得た。また加齢との関連が深い活性酸素・酸化ストレスについては、グルタチオンS転移酵素（Glutathione S-transferase: GST）遺伝子との関連についての研究から、GSTT1の多型に問題があることが示唆された。またストレス状態のマウスのモデリングでの研究から、ストレスに関するバイオマーカー候補を見いだした。また骨粗鬆症などの高齢者の転倒要因についての解析がなされ、予防についても実施された。しかしながら、高齢者関連疾患として予防ケアシステムの目標とした認知症、動脈硬化症、骨粗鬆症のうち、動脈硬化症の病態解明はようやく手がかりを得つつある状態にあり、特に社会的な問題である認知症についてのアプローチは全て今後の課題である。

G3：先端的脳機能イメージング研究グループ（代表・坪川宏、小川誠二、亀井裕孟、成烈完、岡野和宣、増原宏、杉山輝樹、江口直美）は、研究計画に挙げた、1) 数十ミリ秒までの速い時間現象の検出、2) MR 画像上のシグナル/ノイズ比の飛躍的改善、3) 低磁場（0.1 mT）のMR測定法の開発、4) MR 画像の解釈への分子・細胞レベルの基盤提供、5) MR Force Microscopy を in vivo 条件で測定可能にする、などに対し、刺激に相関した 50-100 ms の信号検出、voxel 内の微小な変化の検出方法の開発による信号のコントラスト強調、超低磁場での電流による MRI 信号の高感度検出など、未だ子細な課題はあるものの、次世代型と呼べる先端的脳機能イメージングへの深化に成功した。

(2) 研究会等の実施状況

1) キックオフ・ミーティング

日時：平成21年1月23日 10:00より

場所：東北福祉大学感性福祉研究所 2階 大会議室

出席者（敬称略）：渡辺^(信)（健康科学研究センター長）、大竹、田中、中林（企画部）

G1 松江、佐藤^(善)、西尾、行場（東北大）、渥美、藤井（現：東北福祉大）

G2 船渡、鈴木^(堅)、齋藤（京都大）、菅原（東北大）

G3 小川、亀井、成、岡野（現：国立交通大（中華民国））、杉山（現：國家實驗研究院（中華民国））、江口（現：（株）ソムノクエスト）、坪川

次第：

各グループのメンバーがこれまで取組んできた研究の報告や、これからの方向性などについて発表が行われた。

1. 児童青年期精神障害研究グループ

「ACTと早期介入」 西尾雅明（東北福祉大学）

「児童青年期精神障害の病態解明と予防ケアシステムに関する研究」 松江克彦（東北福祉大学）

2. 高齢者関連疾患研究グループ

「高齢者のストレスとその軽減に関する研究：バイオマーカーは発掘できるか？」 齋藤邦明（京都大学）

「ホルモン核受容体の活性化を介した抗動脈硬化療法の確立」 菅原明（東北大学）

「高齢者関連疾患の病態解明・予防ケアに関する研究」 鈴木堅二（東北福祉大学）

「老化予防ケアへの挑戦的戦略」 船渡忠男（東北福祉大学）

3. 先端的脳機能イメージング研究グループ

「先端的脳機能イメージングプロジェクト」 小川誠二（東北福祉大学）

「超低磁場神経電流分布 MRI」 亀井裕孟（東北福祉大学）

「レーザーアプリケーションー生体機能計測・解析手法の開発に向けて」 杉山輝樹（奈良先端大学院大学）

「培養細胞アレイを用いた細胞応答システムの構築」 岡野和宣（東北福祉大学）

「脳 MRI 画像の解釈に分子・細胞生理学的基盤を提供する」 坪川宏（東北福祉大学）

2) 定期研究報告会

①第 1 回健康科学研究センター定期研究報告会

日時：平成 23 年 6 月 1 日 17:00 より

場所：東北福祉大学 感性福祉研究所 2 階 大会議室

出席者（敬称略）：今泉（事務局）

G1 松江、河地、柴田

G2 齋木

G3 小川、亀井、成、岡野（現：国立交通大（中華民国）、坪川

配布資料：

1. 「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業」に係る中間評価（平成 22 年度実施分）に対する事業改善計画調書
2. 年報 12 号用の平成 20 年度戦略事業経過報告の原稿

次第：

1. あいさつ

坪川（G3）より本戦略的研究基盤形成支援事業の中間報告に対する評価と、それに対する事業改善計画書の提出の経緯、さらに改善計画書への評価通知の内容について、概略の説明があった。また、改善計画書に記載の改善方針を踏まえて、本研究報告会が緊急に開催された旨の説明があった。

2. 平成 22 年度研究進捗状況について

平成 20 年度戦略事業経過報告原稿に基づき、各グループの研究者より平成 22 年度の研究進捗状況について説明があった。

3. 平成 23 年度研究計画および予算執行計画について

平成 22 年度の経費執行実績および 23 年度の執行計画（いずれも総額のみ）について、事務局資料のスクリーン提示があった。外部評価委員の招聘のための旅費・謝金を 23 年度予算に計上していないグループは、予算執行計画調書を訂正して再提出することとなった。ま

た、事務局より、本年度も計画調書通りの予算執行を行うよう努めて欲しい旨のお願いがあった。

4. 外部評価委員会について

平成 23 年 5 月 23 日開催のグループライダー会議において承認された外部評価委員(3名)の発表があった。事業改善計画書への評価通知に同委員会の開催時期を平成 23 年秋以前に行うよう提言があったことを受け、委員会開催時期の繰り上げに向けて各評価委員との日程調整を図ることになった。

5. 研究成果報告

成(G3)より、研究成果の報告と今後の展望についての講演があった。

②第 2 回健康科学研究センター定期研究報告会

日時：平成 24 年 7 月 7 日 13:00 より

場所：東北福祉大学 感性福祉研究所 2 階 大会議室

出席者(敬称略)：渡辺^(信)(健康科学研究センター長)、中林(企画部)

G1 松江、佐藤^(善)、藤井、河地、柴田

G2 船渡、竹田(現：天理医療大)、鈴木^(豊)、齋木、佐藤^(啓)、菅原(東北大)

G3 小川、亀井、成、岡野(現：国立交通大(中華民国))、坪川

配布資料：

「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業」における研究期間終了後の取り扱いについて

次第：

1. あいさつ

渡辺健康科学研究センター長より、本戦略的研究基盤形成支援事業の経緯の概略と評価について説明があった。

2. 平成 23 年度研究進捗状況について

各グループの研究者より、平成 23 年度の研究進捗状況、24 年度に向けての展望等について説明があった。

3. 平成 24 年度研究・予算執行計画及び研究成果報告書の作成について

平成 24 年度(最終年度)の研究計画のあり方について説明があった。また、文部科学省に提出する研究成果報告書概要及び研究成果報告書の作成へ向けてのスケジュールについて、配布資料を基に説明があった。

③第 3 回健康科学研究センター定期研究報告会

日時：平成 25 年 3 月 16 日 13:00 より

場所：東北福祉大学 感性福祉研究所 2 階 大会議室

出席者(敬称略)：渡辺^(信)(健康科学研究センター長)

G1 松江、藤井、河地、柴田

G2 船渡、竹田(現：天理医療大)、齋木、佐藤^(啓)、菅原(東北大)、齋藤(京成大)

G3 小川、亀井、成、岡野(現：国立交通大(中華民国))

配布資料：

1. 「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業」に係る事後評価（平成 24 年度実施分）に伴う研究成果報告書について
2. 年報 14 号用の事業経過報告の原稿

次第：

1. あいさつ
渡辺健康科学研究センター長より、本戦略的研究基盤形成支援事業の経緯の概略と評価について説明があった。
2. 研究成果発表
各グループの研究者より、5 年間の研究成果及び今後に向けての展望等について、下記の表題の発表があった。
「統合失調症・統合失調型パーソナリティの素因性指標に関する検討」(G1)
「他者の顔の魅力判断に関わる神経基盤の検討 -fMRI による脳機能研究-」(G1)
「喫煙と酸化ストレスに関する研究報告」(G2)
「ニコチンの血管内皮における遺伝子発現に及ぼす影響の検討」(G2)
「トリプトファン・インデックスを用いた疾患並びに未病対策」(G2)
「高齢者における平衡機能と運動機能の関連性から見た予防的ケアシステムの構築」(G2)
「基盤技術形成 -MRI をベースにした脳の機能・構造測定法」(G3)
「新しい磁気共鳴測定法の開発により、新しい脳情報取得法を探る」(G3)
3. 研究成果報告書の作成について
文部科学省に提出する研究成果報告書の作成へ向けてのスケジュールについて、配布資料を基に説明があった。

3) 外部評価委員会

以下の要領で、東北福祉大学以外の機関に所属する有識者5名の外部評価委員による書面審査と実地審査が行われた。

①書面審査

事前に送付する評価資料に基づき、本事業で取組んでいる研究の意義・方法・成果について以下の3つの視点から評価を頂いた（参考資料として、文部科学省提出の中間報告書とその評価票、事業改善計画調書、年報11・12号を添付した）。

- i. 研究の独自性（オリジナリティ）
- ii. 方法の妥当性
- iii. 成果の卓越性と予想される波及効果

②実地審査

日時：平成23年10月29日（土）午後13：00－17：00

場所：東北福祉大学感性福祉研究所 2階 大会議室

次第：

13：00 開会挨拶・・・感性福祉研究所所長（萩野学長）

趣旨説明・・・感性福祉研究所健康科学研究センター長（渡辺学長補佐）

<研究概要及び進捗状況の報告>

- 13:15 第1グループ・・・佐藤 善久（グループリーダー）他、質疑応答
14:00 第2グループ・・・船渡 忠男（グループリーダー）他、質疑応答
14:45 第3グループ・・・坪川 宏（グループリーダー）他、質疑応答
15:30 休憩
15:45 総合討論・・・外部評価委員各位、グループリーダー、他
16:30 閉会のことば・・・感性福祉研究所副所長（阿部四郎）
16:40 評価票の回収、事務連絡等
17:00 終了

③評価の取りまとめと結果の報告

評価票に記載の内容を、本事業の代表者へ外部評価の結果として報告した。また評価に対する事業改善計画調書を作成し、外部評価委員あてに送付した。

4) グループリーダー研究連絡会議

下記の要領で実施された。

- 平成23年 6月 8日 (15:30-16:30)・・・出席者（敬称略）： 松江、佐藤（善）、船渡、坪川
平成23年 12月 7日 (15:20-15:40)・・・出席者（敬称略）： 松江、佐藤（善）、船渡、坪川
平成24年 1月 11日 (15:30-17:00)・・・出席者（敬称略）： 松江、佐藤（善）、船渡、坪川
平成24年 2月 15日 (15:30-16:00)・・・出席者（敬称略）： 松江、佐藤（善）、船渡、坪川
平成24年 3月 7日 (15:30-16:00)・・・出席者（敬称略）： 松江、佐藤（善）、船渡、坪川
平成24年 4月 2日 (15:30-16:00)・・・出席者（敬称略）： 松江、佐藤（善）、船渡、坪川
平成24年 5月 9日 (15:30-17:00)・・・出席者（敬称略）： 松江、佐藤（善）、船渡、坪川
平成24年 6月 6日 (15:30-16:00)・・・出席者（敬称略）： 松江、佐藤（善）、船渡、坪川
平成24年 7月 4日 (15:30-16:00)・・・出席者（敬称略）： 松江、佐藤（善）、船渡、坪川
平成24年 9月 5日 (15:30-16:00)・・・出席者（敬称略）： 松江、佐藤（善）、船渡、坪川
平成24年 10月 3日 (15:30-17:00)・・・出席者（敬称略）： 松江、佐藤（善）、船渡、坪川
平成24年 11月 7日 (15:30-16:00)・・・出席者（敬称略）： 松江、佐藤（善）、船渡、坪川
平成24年 12月 5日 (15:30-16:00)・・・出席者（敬称略）： 松江、佐藤（善）、船渡、坪川
平成25年 1月 9日 (15:30-16:00)・・・出席者（敬称略）： 松江、佐藤（善）、船渡、坪川
平成25年 2月 13日 (15:30-17:00)・・・出席者（敬称略）： 松江、佐藤（善）、船渡、坪川
平成25年 3月 6日 (15:30-16:30)・・・出席者（敬称略）： 松江、佐藤（善）、船渡、坪川

5) グループ別研究会等

脳機能セミナー

日時： 平成23年12月13日（火）14:00-15:30

場所： 東北福祉大学 感性福祉研究所 2階会議室

講師： Neil Roberts 教授

(Director, Clinical Research Imaging Centre, Division of Medical and Radiological Sciences, University of Edinburgh, United Kingdom)

演題： Dynamic MRI: Nothing happens until something moves.

出席者(敬称略)： 小川誠二、成烈完、坪川宏、河地庸介、柴田理瑛、藤井俊勝(現：東北福祉大)、川崎伊織(東北大・医)、伊藤文人(東北大・医)

概要： MRI データから生体組織局所の容積を正確に算出する方法の開発や、それを活用した脳組織の容積変動の解析など、物理学のバックグラウンドを持つ研究者ならではの成果が発表された。精神疾患や一般的脳機能との関連について、若手からも質疑が活発に行われ、戦略プロジェクトの将来的な方向性を検討してゆく上で建設的な議論が行われた。

6) 研究成果の一般公開

1. 藤井俊勝. 高次脳機能障害について－前頭葉障害を中心に－. 気仙沼市保健・医療・福祉系職員スキルアップ研修会, 気仙沼, 2012年5月19日.
2. 藤井俊勝. 記憶と嘘. 玉川大学脳科学リテラシー部門第10回研究会, 東京, 2011年10月8日.
3. 西尾雅明. ACTの異議と先駆的取り組み事例からみた今後のあり方. 平成22年度東北衛生行政研究会, 山形, 2010年7月22日.
4. 西尾雅明. ACTの実践と課題－国府台・仙台での取り組みから－. 第8回山陰精神科診療内科研究会, 米子, 2010年4月17日.
5. 松江克彦・河地庸介. 統合失調症の病態解明への実験心理学的アプローチ. 日本基礎心理学会2009年度第2回フォーラム, 仙台, 2010年3月13日.
6. 西尾雅明. ACTの実践を通して. 宮城県精神科治療シンポジウム－精神科治療における心理社会的支援の発展を目指して－, 仙台, 2010年2月3日.
7. 西尾雅明. 地域生活を支える－S-ACTの試み－(下). 河北新報(朝刊), 21, 2010年7月4日.
8. 西尾雅明. 地域生活を支える－S-ACTの試み－(上). 河北新報(朝刊), 21, 2010年7月3日.
9. 西尾雅明. あたり前の暮らしをあげたい－精神障害者退院への課題－. クローズアップみやぎ, NHK総合テレビ, 仙台, 2009年10月2日.

3. 収支

[単位：千円]

		平成20年度	平成21年度	平成22年度	平成23年度	平成24年度	合計
総事業費	施設・装置費	72,650	274,050	0	0	0	346,700
	設備費	21,235	11,315	0	0	0	32,550
	研究費	10,890	13,927	18,863	21,740	19,384	84,804
	合計	104,775	299,292	18,863	21,740	19,384	464,054
私学助成補助		55,748	148,347	8,409	9,999	8,981	231,484

II. 研 究 成 果 の 概 要

II. 研究成果の概要

平成 20 年度～平成 24 年度「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業」 研究成果報告書概要

1 学校法人名 梅檀学園 2 大学名 東北福祉大学

3 研究組織名 東北福祉大学感性福祉研究所 健康科学研究センター

4 プロジェクト所在地 宮城県仙台市青葉区国見ヶ丘 6-149-1

5 研究プロジェクト名 児童青年期精神障害および高齢者関連疾患における先進的
 個別化予防ケアシステムの構築に関する研究

6 研究観点 研究拠点を形成する研究

7 研究代表者

研究代表者名	所属部局名	職名
渡辺 信英	東北福祉大学	教授

8 プロジェクト参加研究者数 22 名

9 該当審査区分 理工・情報 生物・医歯 人文・社会

10 研究プロジェクトに参加する主な研究者

研究者名	所属・職名	プロジェクトでの研究課題	プロジェクトでの役割
佐藤善久	東北福祉大学・教授	児童青年期精神障害の病態解明と予防ケアシステムに関する研究	児童期精神障害の病態解明と予防ケアシステムの確立
松江克彦	東北福祉大学・教授	児童青年期精神障害の病態解明と予防ケアシステムに関する研究	児童青年期精神障害の病態解明と予防ケアシステムの確立
浅野弘毅	東北福祉大学・教授	児童青年期精神障害の病態解明と予防ケアシステムに関する研究	児童青年期精神障害の病態解明と予防ケアシステムの確立
西尾雅明	東北福祉大学・教授	児童青年期精神障害の病態解明と予防ケアシステムに関する研究	青年期精神障害の病態解明と予防ケアシステムの確立
渥美恵美	東北福祉大学・教授	児童青年期精神障害の病態解明と予防ケアシステムに関する研究	青年期精神障害の病態解明と予防ケアシステムの確立
藤井俊勝	東北福祉大学・教授	児童青年期精神障害の病態解明と予防ケアシステムに関する研究	児童青年期精神障害の病態解明
舩渡忠男	東北福祉大学・教授	高齢者関連疾患の病態解明・予防ケアに関する研究	生活習慣病の解明手法の開発
加藤伸司	東北福祉大学・教授	高齢者関連疾患の病態解明・予防ケアに関する研究	認知症の解明手法の開発
鈴木堅二	東北福祉大学・教授	高齢者関連疾患の病態解明・予防ケアに関する研究	骨粗鬆症の解明手法の開発
齋木しゅう子	東北福祉大学・教授	高齢者関連疾患の病態解明・予防ケアに関する研究	骨粗鬆症の解明手法の開発
大内 誠	東北福祉大学・准教授	高齢者関連疾患の病態解明・予防ケアに関する研究	システム開発
坪川 宏	東北福祉大学・教授	生体機能計測・解析手法開発に関する研究	生体機能計測・解析手法の開発と生体応用

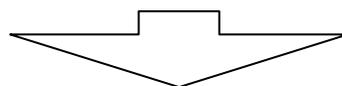
小川誠二	東北福祉大学・ 特任教授	MRI における時・空間分解能の改善	高精度 MRI の実現と生体応用
亀井裕孟	東北福祉大学・ 特任研究員	低磁場による MRI 測定法の開発	低侵襲 MRI の実現と生体応用
成 烈完	東北福祉大学・ 特任准教授	MRI における時・空間分解能の改善	高精度 MRI の実現と生体応用
(共同研究機関等)			
行場次朗	東北大学・教授	児童青年期精神障害の病態解明と予防 ケアシステムに関する研究	児童青年期精神障害の病態解明
齋藤邦明	京都大学・教授	高齢者関連疾患の病態解明・予防ケアに 関する研究	生活習慣病の解明手法の開発
菅原 明	東北大学・教授	高齢者関連疾患の病態解明・予防ケアに 関する研究	生活習慣病の解明手法の開発
増原 宏	National Chiao Tung University・ Chair Professor	生体応用を目指したレーザー技術の開 発	生体機能計測・解析手法の開発
杉山輝樹	Instrument Technology Research Center・ Associate Researcher	生体応用を目指したレーザー技術の開 発	生体機能計測・解析手法の開発
岡野和宣	National Chiao Tung University・ Postdoctoral Researcher	細胞機能計測技術の開発	細胞機能計測技術の生体応用
江口直美	ソムノクエスト 株式会社・代表 取締役(社長)	ヒトの行動生理学的評価系の確立	生体機能計測・解析手法の開発と 生体応用

<研究者の変更状況(研究代表者を含む)>

旧

プロジェクトでの研究 課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割

(変更の時期:平成 年 月 日)



新

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職 名	研究者氏名	プロジェクトでの役 割

11 研究の概要

(1) 研究プロジェクトの目的・意義及び計画の概要

本研究は、人間の感性・心理・思考や行動における神経基盤を理解し、児童青年期精神障害および高齢者関連疾患を対象として健康の向上と病気の慢性化予防に取り組み、福祉に貢献する先進的な予防ケアシステムを構築する事業である。本学における福祉を中心とした研究の蓄積を基礎に据え、新たに整備された医療環境を統合させた研究拠点として、個体の機能・生理を総合的に解明するための先進的な測定法を開発し、福祉医療領域での重要な課題である高機能自閉症や統合失調症等と、認知症・生活習慣病・骨粗鬆症等の疾患の成因・病態の解明を行い、心身の健康維持を図る予防法および疾患の慢性化予防法を開発することを目的とした。

本研究の意義は、上記疾患の早期診断法ならびに機器試薬等の開発も含め、健康維持システムおよび予防ケアシステムを確立することにある。すなわち、今日における社会的要請である少子高齢化時代に特化した発達期と高齢期における健康維持、各疾患の病態解明の成果に基づくオーダーメイド予防・早期介入ならびに慢性化防止を可能とするものである。

このため、本学を拠点としてこれら疾患毎の研究グループを編成し、まず疾患の成因・病態の解明を目指した。ヒトの遺伝子解析を含む分子細胞レベルでの生命科学研究を行うと同時に、心理・行動的側面の脳内神経基盤を明らかにするため、従来の非侵襲的脳機能測定の時・空間分解能を超える次世代の機能的磁気共鳴画像法を開発して、上記疾患の詳細な病態解明に資することを目指した。

(2) 研究組織

1. 研究者等の役割分担・責任体制

本プロジェクトは、(1) 児童青年期精神障害の病態解明と予防ケアシステムに関する研究、(2) 高齢者関連疾患の病態解明・予防ケアに関する研究プロジェクト、(3) 磁気共鳴法における新たな研究手法を用いた先端的脳機能イメージングの3つの研究テーマに取り組んだ。また、各研究テーマについて次の研究グループを組織し、本プロジェクトを遂行した。

(1) 児童青年期精神障害研究グループ(代表・佐藤善久、松江克彦、浅野弘毅、西尾雅明、渥美恵美、行場次朗、藤井俊勝)は、統合失調症、高機能自閉症の病態を明らかにし、これらの慢性化を予防すると共に患者の社会適応を促進するケアシステムの確立を目指した。本学所属4名の研究協力者を加えて合計11名で研究を遂行した。

(2) 高齢者関連疾患研究グループ(代表・舩渡忠男、加藤伸司、鈴木堅二、齋木しゅう子、大内誠、齋藤邦明、菅原明)は、加齢に伴う疾患として知られる動脈硬化症、認知症、骨粗鬆症などのメカニズムを分子細胞レベルで解明し、病態に基づく予防法としてのオーダーメイドプログラムシステムの確立を目指した。特に、寝たきりの危険を回避するため、健康で自立した生活を送る上での身体機能・精神機能の維持と慢性化予防に着眼した研究を推進した。本学所属3名、学外2名の研究協力者を加えて合計12名で研究を遂行した。

(3) 先端的脳機能イメージング研究グループ(代表・坪川宏、小川誠二、亀井裕孟、成烈完、岡野和宣、増原宏、杉山輝樹、江口直美)は、上記の2つのグループの研究遂行に寄与するため、既存の計測技術の限界を超えた新しいイメージング・システムを開発することを目指した。学外1名の研究協力者を加えて合計9名で研究を遂行した。

予算執行は、年度初めに策定した年次計画に従い、各グループ代表者の監督下でグループ毎に行われた。研究成果については、各研究者がグループ代表者との協議の上、学会・論文等への発表を行った。研究代表者は、プロジェクト全体に責任を持ち、感性福祉研究所の会議において各グループ代表者から予算執行状況・研究進捗状況等の報告を受けて適切な助言を与えると共に、各グループ間の連携を促進することでプロジェクト全体の推進を図る役割を担った。

2. 研究者・PD等の動向

研究者は、共同研究機関に所属する者も含めて適切に研究を遂行し、共著の学会・論文発表等も年に1-2回の割合で行われた。PDは、21年度に1名、22年度に1名を採用した。う

ち1名は、平成23年度より本学の特任講師として採用された。

3. 各グループ間の連携

研究課題の中のサブテーマに関しては、協力して実験を行うなど、必要に応じて連携が行われた。中間評価および外部評価における指摘に基づき、各グループの成果を基軸に機器試薬等の開発、高齢者の健康維持システムおよび予防・ケアシステムの構築を目指す過程での緊密な連携を図った。

4. 研究支援体制

感性福祉研究所の事務局スタッフを中心に施設・設備・購入物品等の維持・管理が行われ、事務作業等による研究者の時間的・精神的負担は軽減された。また、研究遂行上の問題は速やかに解決されるよう、全学的な支援が継続的に行われた。

(3) 研究施設・設備等

1. 研究施設の面積・使用者数

感性福祉研究所の一部改造（増床し1階部にシールド室を含めた実験室及び附属室等、2階部に研究室及び附属室を設置）が平成20年度に計画通り終了した。その結果、使用総面積は4,026.95㎡となり、約150名の研究者が利用している。本事業に参加する研究従事者は32名であり、うち8名が研究協力者・PD等に該当する若手の研究者であった。それぞれ所属するグループの研究実施計画に従って所定の研究室・実験室等で研究を実施した。

2. 主な研究装置・設備の利用時間数

平成20年度に研究設備として「視覚刺激提示システム（特型）」、「分子細胞解析定量装置システム」、「運動機能解析装置システム」が設置された。21年度には、研究設備として「可搬型眼球運動解析システム（特型）」、「細胞培養装置システム」が、研究装置として「f-MRI対応磁気共鳴撮影装置」が感性福祉研究所内に設置された。平成24年9月現在の延べ利用時間は以下の通りである。

- 1) 視覚刺激提示システム（特型）・・・・・・・・・・約1200時間
- 2) 分子細胞解析定量装置システム・・・・・・・・・・約2370時間
- 3) 運動機能解析装置システム・・・・・・・・・・約1200時間
- 4) 可搬型眼球運動解析システム（特型）・・・・・・約810時間

(注:ソフトウェアの改修に平成22年7月迄要した)

- 5) 細胞培養装置システム・・・・・・・・・・約1730時間
- 6) f-MRI対応磁気共鳴撮影装置・・・・・・・・・・約3795時間

(4) 研究成果の概要 ※下記、13及び14に対応する成果には下線及び*を付すこと。

本研究プロジェクトの目的は、高機能自閉症や統合失調症のような児童青年期精神障害、および動脈硬化症、認知症、骨粗鬆症などの高齢者関連疾患を対象としてその病態を解明し、それらの疾患に対しての先進的予防ケアシステムを構築することであった。さらに病態解明に当たっては、心理・生理および分子生物学的研究と共に、それらの神経基盤を明らかにするため、脳の非侵襲的機能測定において今日汎用されている機能的磁気共鳴画像法（fMRI）を、時・空間分解能を飛躍的に発展させて詳細な病態解明に資することが可能な、次世代型とでも言うべきシステムに進化させることを目的としたものであった。

しかしながら、平成23年3月の震災により本学の研究施設・設備も多大な被害を蒙り、研究の進捗に少なからず影響があった。具体的には、まずMRI設備においてマグネットの移動とMRI検査室のシールドの損傷が見られた。修復のために、MRIマグネットの磁場の停止、MRI検査室の壁および天井内部のシールド材であるケイ素鋼板の損傷部位の特定と修復、修復後のシールド性能の計測とMRIの性能評価、を順次行った。このため、MRIを再稼働できたのは平成23年5月末であった。また、細胞等を使用した各種研究は、機器破損より長期にわたり停止せざるを得なかった。幸い、先端的脳機能イメージング研究グループにおいては、従来から親交のあった台湾国立陽明大學生醫光電研究所の高甫仁教授（Prof. Fu-Jen Kao）の好意により、共同研究ベースで進めることで滞りなく研究を続けることができた。

このような背景も踏まえ、ここではまず当初の目的の観点から各研究グループにおける達成度について総括する。

児童青年期精神障害研究グループでは、主として統合失調症の早期発見、早期介入のための素因的指標の検討を、統合失調症患者と同様の発症脆弱性を有するとされる統合失調型パーソナリティ保持者を用いて心理生理的側面から研究した。その結果幾つかの敏感な指標を見いだした。統合失調症の病態解明についてのプレパルス・インヒビション (PPI) 研究において、能動的自己を導入したことは更なる病態解明に資するものである。震災により、本学せんだんホスピタルは被災地の病院としての役割が大きく期待されたことから、計画されていた研究面での連携は一時断念せざるを得ない状況になった。しかしながら、病院側スタッフの協力により、現在では研究に参加可能な精神疾患患者を主治医からの紹介のもとリクルートできる体制が整った。従って、統合失調症患者を用いた確認はようやく始まったところである。高機能自閉症については、これまで主として行動学的観察研究が行われた。この疾患に特徴的なコミュニケーション障害については、その神経基盤についての基礎的研究がfMRIを用いて行われつつある。統合失調症における素因的指標の脳内機序に関するfMRIを用いた研究は、未だ明確な結果を得るに至っていない。ACT (包括型地域生活支援プログラム) 研究は臨床的側面を中心に行われており、素因的指標などの活用とそれらによる慢性化予防は今後の課題である。

高齢者関連疾患研究グループは、動脈硬化症については関連血管内皮細胞の遺伝子発現に注目してジェノタイプバイオマーカーを追求し、その手がかりを得た。また加齢との関連が深い活性酸素・酸化ストレスについては、グルタチオン S 転移酵素 (Glutathione S-transferase: GST) 遺伝子との関連についての研究から、GSTT1 の多型に問題があることが示唆された。またストレス状態のマウスのモデリングでの研究から、ストレスに関するバイオマーカー候補を見いだした。また骨粗鬆症などの高齢者の転倒要因についての解析がなされ、予防についても実施された。しかしながら、高齢者関連疾患として予防ケアシステムの目標とした認知症、動脈硬化症、骨粗鬆症のうち、動脈硬化症の病態解明はようやく手がかりを得つつある状態にあり、特に社会的な問題である認知症についてのアプローチは全て今後の課題である。

先端的脳機能イメージング研究グループは、研究計画に挙げた、1) 数十ミリ秒までの短い時間現象の検出、2) MR 画像上のシグナル/ノイズ比の飛躍的改善、3) 低磁場 (0.1 mT) の MR 測定法の開発、4) MR 画像の解釈への分子・細胞レベルの基盤提供、5) MR Force Microscopy を in vivo 条件で測定可能にする、などに対し、刺激に相関した 50-100 ms の信号検出、voxel 内の微小な変化の検出方法の開発による信号のコントラスト強調、超低磁場での電流による MRI 信号の高感度検出など、未だ子細な課題はあるものの、次世代型と呼べる先端的脳機能イメージングへの深化に成功した。

以下、各研究グループにおける成果の概要を、公表された業績と関連付けて述べる。

1. 児童青年期精神障害研究グループ

(1) 素因性指標 (trait marker) に関する研究

学生約 300 人から、統合失調症や自閉性障害への素因的傾向を有するとされる統合失調型パーソナリティと自閉症スペクトラムを質問紙法により抽出し、統合失調型パーソナリティ保持者で研究を行い、以下のような結果を得た。

1) 追跡眼球運動異常は、慢性統合失調者に頻繁にみられる一方健常者や統合失調型パーソナリティ保持者では見られなかったことから同症の慢性化指標と想定^{*9}され、早期発見・介入の見地からより敏感な指標開発の必要性が示唆された。追跡眼球運動と短期記憶課題を組み合わせた実験パラダイムで行った研究では、統合失調型パーソナリティ保持者で記憶成績が低下する傾向が示され、新たな指標となることが示唆された。

2) 統合失調型パーソナリティ保持者では、下視野における運動誘発盲 (運動する背景の中で、明瞭にみえる視覚対象が不随意的にときおり消失する現象) が生じにくい^{*45} という結果が得られ、脳機能との関連に示唆を与えた。

3) 統合失調症の素因性指標の1つとしてプレパルス抑制（驚愕反射を誘発する音刺激の直前に微弱な音刺激を提示すると驚愕反射が抑制される現象）がある。この抑制は、健常者では微弱な先行刺激の代わりに被験者自らがキー押しするパラダイムでも起こるが、統合失調型パーソナリティ保持者では生じないという傾向が見出されつつあり^{*45}、統合失調症の早期発見・介入のための敏感な指標として期待が持てる。研究成果は国際専門誌に投稿中である。

上記の研究で得られた指標を用いた計測研究を行える環境を構築し、統合失調症患者を対象とした研究を開始した。自閉症スペクトラム高群と低群を対象に視覚的短期記憶課題を実施した結果、両群間の視覚的短期記憶容量の特性に差異がみられた。^{*1}

(2) 統合失調症および高機能自閉症に関連する認知機能に関する fMRI 研究

プロジェクト3との連携の下、統合失調症・自閉症の指標となりうる眼球運動・短期記憶・社会的認知に着目し、関連する脳内基盤の特定を行い、以下のような結果を得た。

1) 統合失調症患者に顕著にみられる追跡眼球運動におけるエクस्प्रेसサッケードの脳内基盤を特定すべく fMRI 実験を行い、眼球運動を制御する前頭眼野等の皮質領域の計測は容易であるものの、動物実験で示唆されている上丘等の皮質下活動を特定するには高速撮像を始めとする測定法や実験パラダイムの改善が必要であることがわかった。

2) 統合失調型パーソナリティ保持者を対象として、統合失調症において報告されている短期記憶障害および腹側前頭前野の活動減衰が得られるかを検討した結果、保持者では非保持者と比べて課題成績は同等であるものの反応時間の遅延が見られ、また腹側前頭前野における強い活動減衰が見られた。本知見は早期発見・介入のための fMRI を用いた指標として期待できる。

3) 高機能自閉症者にみられる対人コミュニケーションの困難さに関する研究の基礎となる脳活動データの取得を目的として、fMRI を用いた研究を実施した。まず、ヒトが他人の顔を好きと感じるときと嫌いと感じるときに活動する脳領域に関する研究では、好きと感じる場合には腹内側前頭前野が、嫌いと感じる場合には島が活動することを見出した。^{*40、*43}また、対人コミュニケーションにとって重要と考えられるエピソード記憶の想起に関する脳領域の研究を施行し、内側側頭葉の活動を同定した。^{*44}その後、他人の顔の魅力度判断に関わる神経基盤の研究の一環として化粧による魅力度の変化についての研究では、化粧による魅力度の上昇に腹内側前頭前野の活動が関わることを明らかにした。さらにエピソード記憶の文脈情報想起に関する脳領域の研究を施行し、時間間隔の違いによって異なる内側側頭葉領域が活動することを明らかにした。^{*38、*41}現在、さらに他人の顔の魅力度に影響を与えると想定される視線の影響について研究を進めている。

(3) 児童・青年期精神障害の予防的ケアシステムに関する研究

ACT (Assertive Community Treatment) チームは、統合失調症を中心とした精神障害の早期発見と早期介入可能性についての枠組みを提供した。^{*8}また予防や早期発見・早期介入のための教育活動が行われている。さらに、行政関連部会に出席する形でケアシステム作りに着手してきた。現在、これまでの実践の特徴とポイントについて考察を行っている。高機能自閉症を含む発達障害では、本学の特別教育支援研究センターを中心に、行動特性についての客観的計測研究が行われている。また、計測研究に加えて、発達障害児の行動特性と生活の中での問題の予防策を検討している。上記を踏まえて、現在予防システムを構築するためのアンケート調査を実施している。

(4) 測定機器の開発

従来研究所で行われていた眼球運動の計測・解析を、どこでも行える可搬型眼球運動計測装置を考案して、その精度において研究所での計測と殆ど一致することを確認した。現在、研究所外にある本学せんだんホスピタルにおいて、統合失調症患者を対象とした実験研究にて活用されている。

2. 高齢者関連疾患研究グループ

(1) 喫煙障害の分子機序の解明

喫煙と心疾患や肺がん発症には強い相関があるが、喫煙者の全てが発症するわけではなく、宿主側の要因としての遺伝的素因が関与することが考えられる。そこで、たばこ中の物質に対する解毒作用としてグルタチオンS転移酵素 (Glutathione S-transferase: GST) 遺伝子の多型と酸化ストレスの関連について研究を行った結果、GST遺伝子の中でもGSTT1の多型において、酸化代謝物 (Reactive Oxygen Metabolites-derived compounds: d-ROM) の値の低下がわずかに見られた。^{*11、*15}

(2) ストレス解析

ストレス状態のマウスのモデリングを構築し、二次元電気泳動を用いて、タンパク発現解析を行った。まず、ストレス状態において、発現が上昇するタンパクに関して質量分析を行った。ストレス状態とうつとの関連性を知るために手掛かりとなるインドールアミン酸素添加酵素 (Indoleamine 2, 3-dioxygenase: IDO) に着目して検討を行った結果、インターフェロンを用いた肝炎患者において、IDO の代謝とうつの発症に関連性が認められた。^{*19}

(3) 高血圧・動脈硬化性病変の新規治療法の開発

高齢者は加齢に伴い高血圧・動脈硬化性病変を発症する。その新規治療法の開発を目指した研究を行ない、以下の成果を得た。1) 血管内皮機能の改善に、プロスタサイクリンアゴニスト (ベラプロスト) やペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 γ (PPAR γ) アゴニスト (ピオグリタゾン) が有効である事を明らかにした。2) 昇圧因子である副腎のアルドステロン分泌が PPAR γ アゴニストにより抑制されることや、副腎のコルチゾール産生刺激因子である下垂体の副腎皮質刺激ホルモン (Adrenocorticotrophic hormone: ACTH) 分泌がレチノイドにより制御される事を明らかにした。^{*10、*14、*18}

(4) 運動解析

高齢者に関連する疾患患者への、原因・病態に基づく予防システムの確立のために研究を進めてきた。骨粗鬆症は年齢とともに有病者が増加する疾患であり、さらに転倒による骨折を介し要介護状態となる原因にもなっている。今後も高齢者人口の増加は見込まれ、要介護・要支援者数のさらなる増加は確実であり、骨粗鬆症の予防と骨折の予防が、高齢者が健康で自立した生活を送る上で重要な課題となる。

今回の研究成果は、転倒要因にあげられる平衡機能と運動機能の関連性の解明、骨粗鬆症の予防・対策のための運動プログラム作成である。高齢者の運動機能・転倒要因となる平衡機能を安全に簡易に評価する機能テストは多く存在するが、本研究を進める中で、平衡機能検査の手法として立位時の重心動揺の周波数分析^{*55}による新たな生体指標の有用性を確立した (特願 2011-041293)。また、高齢者の前方重心移動の特性として若年者と比較して動作時の母趾圧力が低下し、リーチ距離も低下することを報告^{*53}した。

高齢者における骨粗鬆症や、転倒の原因となる平衡機能低下の危険因子を軽減させるには、運動療法による介入が有用である。本研究では、一連の計測結果を基に予防ケアシステムとしてビデオゲームを用いた運動プログラムの開発を行い、現在は地域の高齢者(要支援状態を含む)を対象に実施している。ゲームは、リーチ動作時の母趾圧を高める運動(本研究で安定した動作遂行に必要な要素であることを確認)や、片脚立位保持による下肢筋力増強を含む内容で構成され、Microsoft 社製の X-box Kinect を用いて作成した。Kinect は、運動実施者、すなわち被検者の動きがビデオ画面に表示されたキャラクターと同期する仕様になっている。作成した運動プログラムでは、被験者がゲームを行うために全身を使い、支持基底面内で重心を全方向に移動させる運動を行う。参加者の反応は良好で、継続的な運動に繋がっている。

3. 先端的脳機能イメージング研究グループ

機能的 MRI (fMRI) は脳機能を研究してゆく上で有効な手法であるが、現在広く使われている MRI の空間分解能は約 3 mm³、時間分解能は秒単位であることから、主に脳の機能部位を同定するために用いられてきた。今後、脳の情報処理メカニズムをシステムレベルで解明し、認知症に代表される高齢者関連脳疾患や各種精神疾患の予防・ケア研究に寄与するためには、

1 mm³以下の細かい機能的サブ構造を知ること、数十から数百ミリ秒の時間情報が必要である。これらを実現するために、既存の MRI 測定方法で刺激パラダイムを考案する方向、測定方法を考案する方向の二本立てで開発を進めた。また、被験者への侵襲をより少なくするために、安全性の高い低磁場での MR 測定技術の開発を行ってきた。さらに、脳の細胞レベルで何が起きているのかを MR 信号から読み取るために、脳内で毛細血管周囲を取り囲んでいるグリア細胞（アストロサイト）、ニューロン、血管上皮細胞の 3 者による相互作用のメカニズムを明らかにするための研究を行った。

(1) 従来型 MRI 測定における新規刺激パラダイムの開発

二つの同じ視覚刺激を短い時間間隔で呈示すると、二回目の刺激による信号に抑制が見られるが、刺激提示間隔が長くなると回復する。これは、二つの信号が同じ神経組織に入力されるためと考えられる。この現象を用い、組み合わせ刺激に応答する fMRI 信号を解析することで、数十ミリ秒～数百ミリ秒の時間情報を得ることができ、特定の機能部野の内部構造を推定することも可能となる。

顔の処理において中心的な役割をする脳の部位として、Occipital Face Area (OFA) と Fusiform Face Area (FFA) が知られている。これらの部野は、片視野の刺激呈示によって脳の両半球が活動を示す。もし左視野からの信号と右視野の信号が OFA または FFA の同一神経組織に入力されれば、同じ刺激を左から右視野へと短い時間間隔で呈示することにより信号の抑制が見られる可能性がある。そこで、時間間隔を 66 ms、132 ms、264 ms、528 ms として OFA と FFA での fMRI 信号を調べた。その結果、信号の抑制は 66 ms から 264 ms まで見られ、OFA と FFA では抑制様式に違いがみられ、これらの部野で信号を処理するのに要する時間が少なくとも約 200 ms であることが分かった。^{*26}また、OFA と FFA では内部構造が部分的に異なることも示唆された。^{*27}二つの異なる刺激を片視野だけに 132 ms で呈示した実験によって、顔の異同に関係する特徴抽出は 132 ms までにできることも確認した。^{*30}さらに、左右視野別々の刺激呈示によって、FFA レベルでの脳半球間の信号伝達が同側信号の約 25%であると推定された。

(2) MRI 測定方法の開発

通常の MRI 実験では 1-3 秒の繰り返し測定時間 (TR) を使用するが、50-100 ms の TR を使って測定を行った。これにより、刺激に相関した 50-100 ms の信号を検出することができた。^{*86、*90}fMRI (BOLD) 信号は応答時間が数秒なので、ここで検出した信号は神経電流または神経活動に伴うプロトンなどの変化によるものと推測される。しかし、MRI の信号マップがかなり分散されているので、Multivariate analysis で解析を行い、二つの異なるカテゴリ間の違いをこのような速い MRI 信号で区別できるかを調べた。その結果、建物などの Object を処理することで知られている Occipito-Temporal Complex (LOC) と Parahippocampal Place Area (PPA) で、二つのカテゴリの識別ができた。^{*86、*90}また、Partial volume effect を利用して、voxel 内の微小構造変化または機能変化を検出するための MRI 測定方法を考案して、物理系でその可能性を検証した。信号のコントラストが強調されることを確認した。さらに、脳活動に伴う信号伝達経路である白質での信号検出を試みたところ、脳梁での局所的な信号変化を検出できた。通常、fMRI で使用している EPI シーケンスによって全脳を測定するには少なくとも 1-2 秒かかるが、今回の開発により、全脳の測定が約 50 ms でできるようになった。

(3) 超低磁場 MRI の技術開発

安全性が高いだけでなく、神経電流分布の可視化などが期待される技術として超低磁場 (数十～数百 μT) MRI がある。NMR の信号検出感度は原理的には磁束密度の 2 乗に比例するので、超低磁場 MRI の観測には高度な検出技術が要求される。まず、回転座標系 NMR 信号、すなわち過渡的章動運動及び回転エコー信号の縦磁化検出を試み、サーチコイルを用いて高感度で検出することに成功した。さらに、電流による NMR 信号の変化を高感度で検出することに成功した。

次にこの信号検出技術を、地磁気 (約 50 μT) を観測磁場とする超低磁場 NMR へ展開させた。

分極磁場発生と信号検出には、同一のコイルをスイッチング回路を通して切り替えて使用した。生体組織に近い導電率と縦緩和時間をもつ試料について信号を観測することができた。

(4) 脳内異種細胞によるネットワークを人工的に構成した in vitro 実験系の開発

MRI 信号の分子・細胞レベルでの解釈を可能にするためには、脳内で毛細血管周囲を取り囲んでいるグリア細胞（アストロサイト）、ニューロン、血管上皮細胞の3者による相互作用のメカニズムを明らかにする必要があるが、従来の in vitro 標本を用いての実験には限界があり、十分な検証ができないことが分った。そこで我々は、ニューロンやアストロサイトなど異種細胞による脳内ネットワークを人工的に構成した新規の実験標本（細胞アレイ化プラットフォーム）の作成に取り掛かった。

実現には、1) 異種細胞を任意空間に配置する技術、2) 細胞間の相互作用を制御する技術、3) 細胞の被侵襲解析技術、の開発が必要であった。下に個別成果について述べる。

1) 異種細胞配置： 各細胞を1細胞毎に接着できる微小領域を有し、その周りに細胞接着を阻害するポリマーを配した構造の細胞アレイ化プラットフォームを開発した。種々材料を検討した結果、細胞接着阻害には高分子パーフルオロアルキルポリマーの単分子膜からなる低自由エネルギー表面（熱力学的解析結果を投稿中）と、分子内に安定なイオン対を有する細胞膜を模倣したホスホリルコリン系のポリマーが有効であった。このような細胞接着阻害ポリマーを基板上に塗布し、フェムト秒レーザーを用いた液中レーザーパターニングで細胞接着領域を作成したプラットフォームを用いることで、個別細胞を再現よくアレイ化することができた。また、細胞のマニピュレーション技術として、別途培養基板上で接着培養した神経関連細胞を、フェムト秒パルスレーザーの培地中への集光照射が引き起こす局所的な空間爆発現象で神経関連細胞を接着基盤から安全に引き剥がし、プラットフォーム上の所定の細胞接着領域に搬送配置することに成功した。^{*28} 本技術開発により、異種細胞の逐次配列に道を開くことができた。

2) 細胞間相互作用の制御： 上記の液中レーザーパターニング技術を利用することで、任意の細胞間ネットワーク形成を培養中の任意の時刻に行うことが可能になった。細胞アレイ化プラットフォームでは、接着した細胞の周囲は細胞接着阻害ポリマー表面で覆われているために、突起を伸ばしたり移動したりはできない。細胞間の細胞接着阻害表面にフェムト秒レーザーを照射して新たなチャンネルを作成すると、チャンネルに沿って神経様細胞が突起を伸ばし、他の細胞とネットワークを形成することを確認した。また、アストロサイトのような遊走細胞ではチャンネルに沿って細胞が移動して他の細胞と相互作用する現象が見られた。^{*28}

3) 細胞からの非侵襲情報取得： 細胞回路からの情報を被侵襲で得るために、細胞内メタボリックと細胞形状変化に着目した。神経系細胞においても細胞内呼吸に関連するニコチンアデニンジヌクレオチド (NADH) を2光子励起蛍光寿命イメージング法 (Fluorescence Lifetime Imaging: FLIM)で追跡する方法と、フラビンアデニンヌクレオチド (FAD) を自家蛍光イメージングで追跡するのが有効である可能性を見出した。アストロサイトを題材に、N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) を過剰量添加すると、①NADH が酵素群から遊離することにより蛍光寿命が短くなり、②FAD が酸化型から還元型に急激に変化することに伴うと思われる一時的なFAD 由来自家蛍光の消失、③細胞間ネットワークを形成している突起の厚み低下が観測された。また、アストロサイトへのメディエーターの一つと予想されるプロスタグランジン D₂ を添加したところ、ミトコンドリアの電子伝達系酵素群からNADH が乖離し、細胞呼吸が急激に低下していると推測できるデータが得られた。しかしプロスタグランジン D₂ の代謝産物であるプロスタグランジン J₂ では細胞呼吸の急激な低下は見られなかった。FAD やNADH は細胞内呼吸を反映する物質で、本研究により神経系細胞の細胞内因性自家蛍光イメージングやFLIMが細胞内呼吸を標識なしで非侵襲的に追跡できることがわかった。

4) その他得られた知見（細胞間パトリックスタンパク質のパターニング）： 液中レーザーパターニングをタンパク質溶液中で行うと、レーザー照射部に溶液中のタンパク質が吸着する現象を発見した。これは、細胞のときと同様にタンパク質吸着を阻害する上記ポリマー表面がフェムト秒レーザーによりアブレーションを受けるために起きる。同様に一度吸着した

タンパク質を緩衝液中で除去することにも成功した。すなわち、細胞の接着に関連する細胞間マトリックスタンパク質を始め、種々タンパク質をプラットフォーム上の特定領域に吸着させたり、他のタンパク質で置き換えたりすることが可能となった。これにより細胞の接着のみならず、分化誘導、機能発現を時・空間的に制御できる可能性が出てきた。一連の結果をマイクロファブリケーションのトップジャーナルにあたる Lab on a Chip に投稿中である。

<優れた成果があがった点>

児童青年期精神障害研究グループ

- (1) 予防的見地から統合失調型パーソナリティ保持者に特異的な指標候補が複数見いだされた。
- (2) 実験的研究で、被験者の能動的「自己」の関与を組み込む手法で結果を得た。
- (3) 従来の認知行動指標に加えて、fMRI で測定できる脳活動も予防に関連する指標になりうるということが明らかになった。

高齢者関連疾患研究グループ

- (1) 喫煙の分子機序については、GSTT1 との関連性わずかに認められたことより、多型を知ることによって酸化ストレスの軽減について介入するプロセスの一步を踏み出すことができた。また、酸化ストレスマーカーとして知られているものは多岐にわたるが、今回使用した d-ROM 値については、測定も簡便であり、身近なクリニックや老人施設での測定が可能であると考えられる。
- (2) ストレス解析については、ストレス状態のモデリングを構築できたことにより、さまざまな解析が可能となった。また、インターフェロンとうつとの関連性について、IDO 代謝が関わっていることが示唆された。つまり、ストレス状態が高くなり、うつ傾向になる高齢者において、IDO 代謝をバイオマーカーとし、うつの初期段階で対策をとることができる可能性が示唆された。
- (3) 高血圧・動脈硬化性病変の新規治療法の開発については、プロスタサイクリンアゴニスト、PPAR γ アゴニストやレチノイドが、高齢者の高血圧・動脈硬化性病変に対する新規治療薬たり得る可能性が培養細胞レベルで示された。今後は、動物実験を行なう事により、これら薬剤の個体レベルでの効果を明らかにするとともに、副作用の有無の検討を行なう予定である。将来的にはこれら薬剤の、高齢者の高血圧・動脈硬化性病変に対する臨床応用を目指す。
- (4) 運動解析については、反応時間などの機械的な身体評価のみではなく、転倒するイベントがあった際に、高齢者自身が用いる避転倒手法の選択や、決定、実行などの心理的側面も含めた総合的な評価手法として、先行随伴性姿勢調節 (Anticipatory Postural Adjustments: APA) に対する抑制反応を運動学的に検討し、多角的な視野から高齢者の運動機能維持を行う可能性を見出した。また、高齢者の転倒予防の観点から動的な姿勢制御機構の評価は重要な要素であり、姿勢制御機構の理解のためには、筋力・可動域・感覚などの評価の他、それらが動作にどのように関与しているか検討して、運動療法プログラムを開発した。

先端的脳機能イメージング研究グループ

- (1) 時間分解能が数秒の遅い信号からの推定により、数十ミリ秒までの神経活動を計測することに成功した。
- (2) 50-100 ms の神経活動由来の信号検出に成功した。
- (3) 個々の機能野を構成する機能的なサブ構造 (数十-数百 μm) の存在を低い空間分解能の信号で検証することに成功した。
- (4) 全脳の測定時間を大幅に短縮 (約 50 ms) することに成功した。
- (5) 50-650 μT の回転磁場において、サーチコイル方式で過渡的章動運動及び回転エコー信号の

縦磁化検出を可能にするとともに、電流による NMR 信号変化の高感度検出に成功した。

(6) 胞接着阻害表面にフェムト秒レーザーを照射すると、光化学反応を伴うアブレーションにより細胞接着ポリマーを変性除去されることを、世界に先駆けて明らかにした。この現象を利用することで種々表面加工を緩衝液中や培養液中で行えるようになり、培養途中で新たな細胞接着領域や細胞間インタラクション確保用のチャンネルを作成できるようになった。

(7) 上記技術により、プラットフォーム上に吸着した細胞間マトリクスタンパク質をフェムト秒レーザーパターンニングできるようになった。

<問題点>

児童青年期精神障害研究グループ

当初予定されていた遺伝子研究について、昨今の遺伝子研究の動向を概観すると、いくつかのリスク遺伝子は報告されているものの、統合失調症の遺伝要因のごく一部しか説明しないともされている。このような実情を踏まえて、本プロジェクトにおいて遺伝子研究を組み合わせ合わせた病態解明に関する研究を行うには時期尚早と判断し、電気生理学的手法や fMRI などの手法を駆使した生物学的研究を重点的に行った。今後、遺伝子研究と生物学的研究の各々の限界を踏まえた上で、理想的な融合について検討していきたい。

高齢者関連疾患研究グループ

喫煙の分子機序については、一つの遺伝子多型では有意な差として出てこないことが多く、複数の遺伝子多型を解析する必要があると考えられる。また、酸化ストレスにおいては、測定タイミングによって、測定値が異なる。そのため、最後に喫煙した時間なども調査すべきである。

ストレス解析については、現段階で使用可能なストレスモデル、今回検討したインターフェロン投与患者の両方で、ストレスのかなり高い状態である。そのため、実際の高齢者におけるストレスの度合いで、はっきりとした差が出てくるのかは、これから検討を行う必要がある。

運動解析については、これまで基礎データの収集を行っていたため、同時に作成していた運動プログラムを実施して運動機能が向上するかどうか、確認する必要がある。

先端的脳機能イメージング研究グループ

神経活動由来の速い信号は信号強度が弱いことと不規則なものもあるので、測定精度と検出確度を上げるための工夫が必要である。また、速い MRI 測定方法を脳機能計測へ応用するためには、アーティファクトを減らすための測定方法の改善とポストプロセッシング方法の開発が必要である。

神経電流分布の可視化には、高い空間分解能が必要である。このためにはより高い S/N の信号検出が必要である。

細胞をプラットフォーム上に配置し細胞間のチャンネルを形成することに成功したが、機能を持った神経様回路を模倣したものをプラットフォーム上に構築するには、実際のニューロン・アストロサイト・血管細胞等の多数の細胞の配置に関するアーキテクチャーを明らかにする必要がある。また、構築した回路からの情報取得の具体的成果は未熟な状態である。

<評価体制>

研究の進捗状況については、各グループの代表者(3名)と主たる研究者による戦略会議(毎月1回開催)で確認を行い、方針の決定や必要に応じて研究費配分の変更などを含む計画の修正を行った。費用対効果の分析は、実験研究の方法が確立されているものについては、統計学的に問題ないとされるデータサンプル数を得るのに必要不可欠な消耗品費、設備・備品のランニングコスト等の総見積もりを算出し、実験を行う研究者の従来の業績からその見積

もり額内で結果が出せるかどうかを判断して実施を決定した。一方、方法が確立していないものについては、研究計画に則って実験期間を細かく設定し、期間内の成果について作業コストダウンを図って次回以降の計画に反映させた。しかしながら、実験の重要度によってはたとえ費用対効果が小さいと見込まれても実施するべきものがあるため、最終的な判断は原則として各研究グループの代表者に一任した。

各グループの研究成果やプロジェクト全体の目標達成度は、健康科学研究センター定期研究報告会（年1回開催）において発表・討論が行われた。また、5名の外部評価委員（敬称略：斎藤秀光（東北大学医学部教授）、福田正人（群馬大学大学院医学系研究科准教授）、菅村和夫（地方独立行政法人宮城県立病院機構理事長）、伊良皆啓治（九州大学大学院システム情報科学研究院教授）、伊藤博明（独立行政法人国立病院機構宮城病院臨床研究部長））により書面（「研究進捗状況報告書」）審査と外部評価会議（平成23年10月29日開催）によるヒアリング審査を受け、指摘事項について「事業改善計画調書」を提出した。

<研究期間終了後の展望>

児童青年期精神障害研究グループ

統合失調型パーソナリティ保持者を対象とした実験的研究を通して、予防的見地に立った指標を新たに見出すことに成功した。今後は見出された指標の妥当性の確認が必要となる。そのためには、実際に患者を対象とした検証および被験者の長期的経過をたどるなどの検証が第一と考えられ、現在東北福祉大学せんだんホスピタルとの連携の下、患者を対象とした検証を始めたところである。将来的に、上記指標が診断の補助手段として有効利用されることを目指す。

また、認知・行動指標の検索・計測を主とする本グループと最先端脳機能イメージング技術の構築を目指すグループは、統合失調型パーソナリティ保持者を対象として既に共同で研究を展開している。今後は、従来の認知課題中の脳活動計測のみならず、課題負荷が最小限であるため精神障害患者へも広く適用可能とされる安静時脳活動計測（resting-state activity）を行う予定である。この計測法は従来の計測法（特定条件間の脳活動の差分をみる方法）と異なり、脳領域間の活動の相関をとることにより、脳内ネットワークを特定できるところに利点がある。また、特定の認知課題と組み合わせることにより、課題遂行時のネットワークの特定も可能である。安静時脳活動の解析からわかる脳内ネットワークの減衰は自閉症、過剰活性は統合失調症と関連するという報告もあり、認知・行動指標に加えて、脳機能イメージング指標の検索に期待が持てる。統合失調型パーソナリティ保持者・自閉症スペクトラムに加えて患者を対象とした研究への展開が期待される。

高齢者関連疾患研究グループ

これまでに検討してきたデータをまとめながら、追加のデータが必要となれば、本プロジェクトで購入した機器を使用したい。

先端的脳機能イメージング研究グループ

機能的に高い時空・間分解能を有する方法により、発病前の局所的機能変化検知方法を確立して、臨床応用を進める。MRI測定時間を短縮する研究をさらに進め、神経細胞の活動が検出可能なレベル（全脳の測定で約300μ秒）を目指す。

信号検出器として、高いS/Nでの信号検出が期待される超伝導量子干渉計を導入し、超低磁場MRIの生体機能計測への展開を進める。

<研究成果の副次的効果>

児童青年期精神障害研究グループ

可搬型眼球運動計測装置の考案により、健常者から精神疾患患者まで被験者の状態に合わ

せて研究所外での様々な場面・状況での計測の簡易化が可能になったこと。現在は病院での計測に活用されており、また今後は ACT チームとの連携の中でも活用していき、複数の素因性指標から個々人の認知・行動レベルの多面的理解に役立てていきたい。

高齢者関連疾患研究グループ

生化学・分子生物学的研究で得られた遺伝子多型やタンパク発現のデータをもとに、運動プログラム参加者のそれらを測定し、プログラムがどのような効能をもたらすか、検討を続けていく予定である。

高齢者の運動機能・転倒要因となる平衡機能を安全に簡易に評価する検査手法として、立位時の重心動揺の周波数分析による新たな生体指標の有用性を確立した(特願 2011-041293)。

先端的脳機能イメージング研究グループ

ニューロン・グリアネットワークの人工的構成に関する研究において確立しつつある細胞配置技術は、まだ研究所ベースの段階で、工業的実用化の段階ではない。むしろ、多くの研究者に技術を広げることが第一と考えている。従って特許化は行わない。

12 キーワード(当該研究内容をよく表していると思われるものを8項目以内で記載してください。)

- (1) 予防ケアシステム (2) 統合失調症 (3) 高機能自閉症
(4) 認知症 (5) 生活習慣病 (6) 老化
(7) 先端的脳機能イメージング (8) MRI

13 研究発表の状況(研究論文等公表状況。印刷中も含む。)

上記、11(4)に記載した研究成果に対応するものには*を付す。

<雑誌論文(査読あり)>

児童青年期精神障害研究グループ

1. *Takahashi, J. & Gyoba, J. (2012). Self-rated autistic-like traits and capacity of visual working memory. Psychological Reports, 110(3), 879-890.
2. 柴田理瑛・河地庸介・松江克彦(2012). 運動誘発盲研究からみた視覚的気付きと注意に関する一考察. 感性福祉研究所年報, 13, 243-250.
3. 松江克彦(2012). 統合失調症における基本障害の理解を目指して—フィルター障害仮説の検証を通して—. 感性福祉研究所年報, 13, 217-242.
4. Kawachi, Y., Kawabe, T. & Gyoba, J. (2011). Stream/bounce event perception reveals a temporal limit of motion correspondence based on surface feature over space and time. i-Perception, 2(5), 428-439.
5. Kawachi, Y., Kawabata, H., Kitamura, S. M., Shibata, M., Imaizumi, O. & Gyoba, J. (2011). Topographic distribution of brain activities corresponding to psychological structures underlying affective meanings: An fMRI study. Japanese Psychological Research, 53(4), 361-371.
6. 渥美恵美・大淵憲一・勅使河原麻衣(2011). 社会的交流技能自己評価尺度の妥当性の検証. 感性福祉研究所年報, 12, 163-174.
7. 河地庸介・柴田理瑛・今泉修・行場次朗・松江克彦(2010). 情報源弁別に影響する視覚刺激とその時間特性—運動誘発盲(Motion-induced blindness)を用いて—. 臨床神経生理学, 39(4), 192-198.
8. *西尾雅明(2010). わが国における訪問型早期介入プログラムの可能性. 東北福祉大学感性福祉研究所年報, 11, 127-143.
9. *松江克彦・河地庸介(2010). 統合失調症の病態解明への実験心理学的アプローチ. 基礎心理学研究, 29, 53-57.

高齢者関連疾患研究グループ

10. *Sugawara, A., Uruno, A., Matsuda, K., Saito-Ito, T., Funato, T., Saito-Hakoda, A., Kudo, M. & Ito, S. (2012). Effects of PPAR γ agonists against vascular and renal dysfunction. *Curr Mol Pharmacol*, 5, 248-254.
11. *竹田真由・船渡忠男・吉田真美・日裏久英・佐守友博・岩谷良則 (2011). MASPER 法によるグルタチオン-S-転移酵素遺伝子 (GSTA1) の遺伝子変異の検出法. *JJCLA*, 36(1), 62-67.
12. Suzuki, M., Fujii, H., Fujigaki, H., Shinoda, S., Takahashi, K., Saito K., Wada, H., Kimoto, M., Kondo, N. & Seishima, M. (2010). Lipocalin-type prostaglandin D synthase and egg white cystatin react with IgE antibodies from children with egg allergy. *Allergol Int*, 59(2), 175-183.
13. Yoshikawa, T., Hara, T., Tsurumi, H., Goto, N., Hoshi, M., Kitagawa, J., Kanemura, N., Kasahara, S., Ito, H., Takemura, M., Saito, K., Seishima, M., Takami, T. & Moriwaki, H. (2010). Serum concentration of L-kynurenine predicts the clinical outcome of patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Eur J Haematol*, 84(4), 304-309.
14. *Sugawara, A., Kudo, M., Saito, A., Matsuda, K., Uruno, A. & Ito, S. (2010). Novel effects of beraprost sodium on vasculatures. *Int Angiol*, 29(2 Suppl), 28-32.
15. *竹田真由・船渡忠男 (2010). 喫煙障害の分子機序. *臨床化学*, 39, 112-116.
16. 船渡忠男・竹田真由 (2010). 医療保険制度の方向性に関する研究—少子高齢化対策—。東北福祉大学紀要, 34, 258-301.
17. 菅原明・宇留野晃・松田謙・工藤正孝・伊藤貞嘉 (2010). PPAR γ と生活習慣病. *ホルモンと臨床*, 58(2), 59-64.
18. *宇留野晃・松田謙・野口直哉・吉川雄朗・工藤正孝・佐藤文俊・伊藤貞嘉・岡本宏・菅原明 (2010). チアゾリジン誘導体は PPAR γ および Ca²⁺/カルモジュリン依存性キナーゼ (CaMK) を介して副腎皮質癌 H295R 細胞におけるアルドステロン分泌を抑制する. *ACTH related peptides*, 20, 36-37.
19. *Ohtaki, H., Ito, H., Ando, K., Ishikawa, T., Hoshi, M., Tanaka, R., Osawa, Y., Yokochi, T., Moriwaki, H., Saito, K. & Seishima, M. (2009). Interaction between LPS-induced NO production and IDO activity in mouse peritoneal cells in the presence of activated Valpha14 NKT cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 389(2), 229-234.
20. Hoshi, M., Ito, H., Fujigaki, H., Takemura, M., Takahashi, T., Tomita, E., Ohyama, M., Tanaka, R., Ohtaki, H., Saito, K. & Seishima, M. (2009). Changes in serum tryptophan catabolism as an indicator of disease activity in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Leuk Lymphoma*, 50(8), 1372-1374.
21. Hoshi, M., Saito, K., Murakami, Y., Taguchi, A., Fujigaki, H., Tanaka, R., Takemura, M., Ito, H., Hara, A. & Seishima, M. (2009). Marked increases in hippocampal neuron indoleamine 2, 3-dioxygenase via IFN-gamma-independent pathway following transient global ischemia in mouse. *Neurosci Res*, 63(3), 194-198.
22. Ito, H., Ando, K., Ishikawa, T., Saito, K., Takemura, M., Imawari, M., Moriwaki, H. & Seishima, M. (2009). Role of TNF-alpha produced by nonantigen-specific cells in a fulminant hepatitis mouse model. *J Immunol*, 182(1), 391-739.
23. Ohtaki, H., Ito, H., Ando, K., Ishikawa, T., Saito, K., Imawari, M., Yokochi, T., Moriwaki, H. & Seishima, M. (2009). Valpha14 NKT cells activated by alpha-galactosylceramide augment lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in mouse intra-hepatic lymphocytes. *Biochem Biophys Res Commun*, 378(3), 579-583.

先端的脳機能イメージング研究グループ

24. Sung, Y., Tsubokawa, H., Kim, Y-B. & Ogawa, S. (In press) Eye movements provide inhibitory inputs to the occipito-temporal region. *O. J. Medical Imaging*.
25. Okano, K., Hosokawa, Y., Tsubokawa, H., Masuhara, H. & Kao, F.-J. (In press). Photo-dynamic conversion of solid surface from protein-phobic to protein-philic by femtosecond laser through in situ microfabrication. *Proceedings of Micro Total Analysis Systems 2012: The 16th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences*.
26. *Sung, Y., Someya, Y., Yamamoto, E., Choi, S-H., Cho, J-H. & Ogawa, S. (2011). Involvement of low-level visual areas in hemispheric superiority for face processing. *Brain Research*, 1390, 118-125.
27. *Sung, Y., Kim, Y-B., Tsubokawa, H. & Ogawa, S. (2011). Eye movements and categorical properties in visual object processing. *Report of Kannsei Fukushi Research Institute*, 12, 189-196.
28. *Okano, K., Yu, D., Matsui, A., Maizawa, Y., Hosokawa, Y., Kira, A., Matsubara, M., Liau, I., Tsubokawa, H. & Masuhara, H. (2011). Induction of cell-cell connections by using in situ laser lithography on a perfluoroalkyl-coated cultivation platform. *ChemBioChem*, 12, 795-801.
29. 岡野和宣・松井愛・前澤安代・細川陽一郎・杉山輝樹・増原宏 (2011) . 高強度フェムト秒レーザーパルスを用いた細胞操作—培養液中での基板表面改質による細胞接着領域の作製—. *感性福祉研究所年報*, 12, 179-187.
30. *Sung, Y., Choi, S-H., Hong, S-J., Choi, U-K., Cho, J-Heeo. & Ogawa, S. (2010). An fMRI study of neuronal interactions in face-selective areas of the brain. *Brain Research*, 1366, 54-59.
31. 岡野和宣・前澤安代・松原美恵・細川陽一郎・増原宏 (2010). オンチップ細胞選別と細胞培養技術の開発. *感性福祉研究所年報*, 11, 157-163.
32. Sung, Y. & Ogawa, S. (2009). Characterization of functional multiplicity of an activation site by the interaction among neuro-circuits as probed by fMRI responses to different stimulus inputs. *Brain Imaging and Behavior*, 3, 1-9.
33. Okano, K., Maizawa, Y., Hosokawa, Y., Kira, A., Mastubara, M. & Masuhara, H. (2009). In-situ arrangement of living cells on a fabricated surface by femtosecond laser. *Proceedings of Micro Total Analysis Systems 2009: The 13th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences*, 1249-1251.
34. 岡野和宣・于大衛・廖奕翰・前澤安代・松井愛・細川陽一郎・松原美絵・吉良敦史・増原宏 (2009). フェムト秒レーザーを用いた細胞アレイ用基板上での個別細胞配置と細胞間接続. 第10回(社)計測自動制御学会システムインテグレーション部門講演会論文集, 1643-1646.
35. 岡野和宣・前澤安代・細川陽一郎・松原美絵・増原宏・吉良敦史 (2009). フェムト秒レーザーを用いた培養液中細胞間ジャンクションの形成. *The papers of Technical Meeting on Bio Micro Systems*, IEE Japan, 8, 45-49.
36. 吉良敦史・不破耕・岡野和宣・細川陽一郎・内藤晶・増原宏 (2009). 自己組織化単分子膜のパターニングで作製した基板を用いた三次元細胞培養の検討. *The papers of Technical Meeting on Bio Micro Systems*, IEE Japan, 8, 51-55.

<図書>

先端的脳機能イメージング研究グループ

37. 亀井裕孟 (2010). MRI 安全性の考え方 (分担項目 電磁場の生体影響). 日本磁気共鳴医学会, 秀潤社, p 279 (分担 14).

<学会発表>

児童青年期精神障害研究グループ

38. *Suzuki, M., Okuda, J., Ueno, A., Matsue, Y. & Fujii, T. Neural correlates of the retrieval of temporal order memory. SFN 2012, New Orleans, USA, October. (Accepted)
39. Kawachi, Y. & Matsue, Y. Temporal characteristics of perceived non-overlap of objects in audiovisual stream/bounce displays. European Conference on Visual Perception 2012, September, 2012.
40. *上野彩・伊藤文人・林亜希子・小関優太・森悦朗・松江克彦・藤井俊勝. 後の好き嫌いを予測できる神経活動. 第 34 回日本神経科学大会, 横浜, 2011 年 9 月.
41. *鈴木麻希・奥田次郎・上野彩・松江克彦・藤井俊勝. 出来事の時間順序情報の想起過程に関わる神経基盤. 第 34 回日本神経科学大会, 横浜, 2011 年 9 月.
42. 柴田理瑛・河地庸介・松江克彦. 眼球運動から分析する運動誘発盲の空間異方性. 北海道心理学会・東北心理学会第 11 回合同大会, 札幌, 2011 年 8 月.
43. *Ueno, A., Ito, A., Koseki, Y., Hayashi, A., Mori, E., Matsue, Y. & Fujii, T. Distinct brain activations predicting the choice of likes and dislikes. International Neuropsychological Society, 39th Annual Meeting, Boston, USA, February, 2011.
44. *Koseki, Y., Ito, A., Abe, N., Ueno, A., Hayashi, A., Mori, E., Sung, Y., Matsue, Y. & Fujii, T. Dissociating areas for novelty detection and for episodic encoding within the human medial temporal lobe. International Neuropsychological Society, 39th Annual Meeting, Boston, USA, February, 2011.
45. *河地庸介・柴田理瑛・行場次朗・松江克彦. 統合失調型パーソナリティと視覚意識の異方性. 東北心理学会第 64 回大会, 仙台, 2010 年 9 月.
46. Kawachi, Y., Matsue, Y., Shibata, M., Imaizumi, O. & Gyoba, J. Self-triggered prepulse inhibition. 29th International Congress of Clinical Neurophysiology, Kobe, Japan, November, 2010.
47. 河地庸介・柴田理瑛・今泉修・行場次朗・松江克彦. 消失事象を主観的なものであると混同させる刺激要因の検討. 日本基礎心理学会第 27 回大会, 東京, 2009 年 12 月.
48. 河地庸介・柴田理瑛・今泉修・行場次朗・松江克彦. 知覚的消失現象を用いた awareness に関する研究. 第 39 回日本臨床神経生理学学会学術大会, 福岡, 2009 年 11 月.
49. 河地庸介・柴田理瑛・今泉修・行場次朗・松江克彦. 知覚的消失現象におけるセルフアウェアネス. 東北心理学会第 63 回大会, 青森, 2009 年 6 月.

高齢者関連疾患研究グループ

50. Saito-Hakoda, A., Uruno, A., Shimizu, K., Kudo, M., Saito-Ito, T., Yoshikawa, T., Matsuda, K., Fujiwara, I., Kagechika, H., Iwasaki, Y., Ito, S. & Sugawara, A. Retinoid X receptor agonists differentially affect proliferation, apoptosis, and ACTH secretion/POMC gene expression in AtT20 corticotroph cells. The Endocrine Society 94th Annual Meeting, Houston, USA, June, 2012.
51. Matsuda, K., Uruno, A., Saito-Ito, T., Shimizu, K., Kudo, M., Satoh, F., Yoshikawa, T., Saito-Hakoda, A., Ito, S. & Sugawara, A. Telmisartan stimulates aldosterone synthase gene (CYP11B2) expression via the CaMK-mediated induction of NURR1. The Endocrine Society 94th Annual Meeting, Houston, USA, June, 2012.

52. Saito-Ito, T., Matsuda, K., Uruno, A., Shimizu, K., Nakamura, M., Takahashi, R., Yoshikawa, T., Kudo, M., Saito-Hakoda, A., Ito, S. & Sugawara, A. High-glucose stimulates aldosterone synthase gene (CYP11B2) expression in human adrenal H295R cells. The Endocrine Society 94th Annual Meeting, Houston, USA, June, 2012.
53. *黒木薫・佐藤啓壮・齋木しゅう子. 高齢者の前方リーチ動作時の母趾圧力の特徴. 第47回日本理学療法学会大会, 神戸, 2012年6月.
54. 竹田真由・齋藤邦明・船渡忠男. マイクロチップ電気泳動システムを用いたRNAの品質評価. 第18回日本遺伝子診療学会, 京都, 2011年6月.
55. *佐藤啓壮・黒木薫・五十嵐守・齋木しゅう子. 時間周波数解析による高齢者静止立位時の足圧中心スペクトルの特徴. 第46回日本理学療法学会大会, 宮崎, 2011年5月.
56. Satou, K., Saiki, S. & Nagatomi, R. Comparison of grand reaction force characteristics of Nordic walking instructors and elderly persons during Nordic walking and walking. European College of Sport Science 16th annual congress, Liverpool, UK, July, 2011.
57. Kudo, M., Sugawara, A., Saito, A., Satoh, F., Uruno, A. & Ito, S. Prostacyclin analogs rapidly stimulates endothelial nitric oxide synthase phosphorylation through cAMP/PKA pathway in vascular endothelial cells. 14th International Congress of Endocrinology, Kyoto, Japan, March, 2010.
58. Uruno, A., Matsuda, K., Noguchi, N., Yoshikawa, T., Kudo, M., Satoh, F., Rainey, W. E., Ito, S., Okamoto, H. & Sugawara, A. Negative regulation of CYP11B2 expression and aldosterone production in adrenocortical carcinoma H295R cells by PPAR γ . 14th International Congress of Endocrinology, Kyoto, Japan, March, 2010.
59. Uruno, A., Matsuda, K., Noguchi, N., Yoshikawa, T., Kudo, M., Satoh, F., Rainey, W. E., Okamoto, H., Ito, S. & Sugawara, A. PPAR γ down-regulates CYP11B2 expression and aldosterone production in adrenocortical carcinoma H295R cells by suppression of Ca²⁺-CaMK signals. International Symposium for Aldosterone and Related Substances in Hypertension, Sendai, Japan, March, 2010.
60. 竹田真由・船渡忠男. オンチップ電気泳動システムによるRNAサンプルの質的評価について. 第61回日本電気泳動学会総会, 札幌, 2010年9月.
61. 竹田真由・船渡忠男・齋藤邦明. 喫煙による酸化ストレスとグルタチオンS転移酵素遺伝子(GST)多型の関連性について. 第17回日本遺伝子診療学会, 津, 2010年8月.
62. 菅原明・宇留野晃・工藤正孝・箱田明子・伊藤貞嘉. レチノイドと血管系. 第13回循環器再生医療研究会「プレナリー」, 前橋, 2010年5月.
63. 鈴木堅二. 脳卒中リハビリテーションと機能予後. 第7回いわき脳卒中地域連携研究会, いわき市, 2010年4月.
64. 宇留野晃・松田謙・野口直哉・吉川雄朗・工藤正孝・佐藤文俊・伊藤貞嘉・岡本宏・菅原明. PPAR γ はCaMK-ATF-2のシグナル伝達を抑制し、アンジオテンシンII/カリウム応答性アルドステロン分泌を抑制する. 第13回日本心血管内分泌代謝学会学術総会, 大宮, 2009年10月.
65. 竹田真由・船渡忠男. オンチップ電気泳動によるRNAサンプルの質的評価について. 第60回日本電気泳動学会総会, 松本, 2009年9月.
66. 竹田真由・吉田真美・齋藤邦明・加藤誠司・日裏久英・佐守友博・船渡忠男. GSTA1の一塩基変異の検出方法(MASPER法:modified allele specific primer extension reaction)について. 第16回日本遺伝子診療学会, 札幌, 2009年7月.
67. 竹内正人・鈴木堅二. 回復期脳卒中の重症度別分類の妥当性と予後因子. 第46回日本リハビリテーション医学会学術集会, 静岡, 2009年6月.
68. Uruno, A., Matsuda, K., Noguchi, N., Yoshikawa, T., Kudo, M., Satoh, F., Rainey, W. E., Ito, S., Okamoto, H. & Sugawara, A. PPAR γ suppresses angiotensin II-

- and potassium-induced CYP11B2 expression and aldosterone production in adrenocortical carcinoma H295 cells. The 35th International Aldosterone Conference, Washington DC, USA, June, 2009.
69. Uruno, A., Noguchi, N., Nata, K., Yoshikawa, T., Takahashi, I., Shervani, N. J., Chikamatsu, Y., Kagechika, H., Harigae, H., Ito, S., Okamoto, H. & Sugawara, A. All-trans retinoic acid and a novel synthetic retinoid tamibarotene (Am80) differentially regulate CD38 expression in human leukemia HL-60 cells: possible involvement of protein kinase C- δ . The Endocrine Society 91st Annual Meeting, Washington DC, USA, June, 2009.
70. Kudo, M., Sugawara, A., Saito, A., Satoh, F., Uruno, A. & Ito, S. Prostacyclin analogs rapidly induce nitric oxide production through endothelial nitric oxide synthase phosphorylation in vascular endothelial cells. 10th International Symposium on Mechanisms of Vasodilatation, Matsushima, Japan, June, 2009.
71. 野口直哉・高橋巖・吉川雄朗・Shervani, N. J.・宇留野晃・海野倫明・岡本宏・菅原明. マウス脾 β 細胞におけるヘパラン硫酸の発現とインスリン分泌の維持. 第52回日本糖尿病学会年次学術集会, 大阪, 2009年5月.
72. 宇留野晃・菅原明・斉藤明子・工藤正孝・伊藤貞嘉. スタチン系製剤による in vitro 管腔形成増加作用の検討. 第11回循環器再生医療研究会, 東京, 2009年5月.
73. 菅原明・宇留野晃・斉藤明子・工藤正孝・岡本宏・伊藤貞嘉. 血管新生に関するスタチン系薬剤とレチノイドの新知見. 第82回日本内分泌学会学術総会「公募シンポジウム1 血管新生と心血管内分泌の新展開」, 前橋, 2009年4月.
74. 宇留野晃・松田謙・野口直哉・吉川雄朗・工藤正孝・佐藤文俊・伊藤貞嘉・岡本宏・菅原明. チアゾリジン誘導体はPPAR γ およびCa²⁺/カルモジュリン依存性キナーゼ(CaMK)を介して副腎皮質癌H295R細胞におけるアルドステロン分泌を抑制する. 第20回間脳・下垂体・副腎系研究会, 東京, 2009年3月.

先端的脳機能イメージング研究グループ

75. Ogawa, S. fMRI of Visual Perception. Joint Society meeting of JSCEV&KSCEV, Seoul, Korea, November, 2012.
76. Okano, K., Hosokawa, Y., Tsubokawa, H., Masuhara, H. & Kao, F-J. Photo-dynamic conversion of solid surface from protein-phobic to protein-philic by femtosecond laser through in situ microfabrication. The 16th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (μ TAS 2012), Naha, Japan, October-December, 2012.
77. Sung, Y.・Doh, S.・小川誠二. 食品放射線汚染が与える精神・心理的影響—脳活動による評価—. 日本放射線影響学会第55回大会, 仙台, 2012年7月.
78. Ogawa, S. Looking Back and also Forward on fMRI. Public Lecture in UCLA Summer Course of Neuro-imaging, California, USA, July, 2012.
79. Sung, Y., Choi, U-K. & Ogawa, S. Passive categorization process seen in the ventral visual pathway. The 8th FENS forum of neuroscience, Barcelona, Spain, July, 2012.
80. Ogawa, S. Past, present and Future of fMRI. UK-Japan Workshop in Multimodal Imaging of the Brain, London, UK, July, 2012.
81. Ogawa, S. Present and Future of fMRI. Symposium on Imaging Brain Function with Magnetic Resonance, Yale University, Connecticut, USA, January, 2012.
82. 亀井裕孟. 生物学的影響. 日本磁気共鳴医学会講演会, 東京, 2012年3月.
83. Sung, Y. Some characteristics in the ventral visual region on categorization and signal flow. NRI-KEIO joint symposium on Functional Neuroimaging and Cognitive neuroscience, Incheon, Korea, January, 2012.

84. Sung, Y., Choi, U.-S., Choi, S.-H., Kim, Y.-B., Cho, Z.-H. & Ogawa, S. Contralateral preference and categorical preference in visual object processing areas. The 41th Annual meeting of Society for neuroscience, Washington DC, USA, November, 2011.
85. Ogawa, S. What's next in fMRI/MRI. International Society of Nuclear Magnetic Resonance, Yokohama, Japan, November, 2011.
86. *Sung, Y. & Ogawa S. Fast response MRI signals in visual object processing areas. The 8th of IBRO World Congress of Neuroscience, Florence, Italy, July, 2011.
87. Sung, Y., Tsubokawa, H. & Ogawa, S. Characteristics of inter-hemispheric transfer of face information. The 17th Annual meeting of Human Brain Mapping, Quebec, Canada, June, 2011.
88. Ogawa, S. Challenges in fMRI. Mansfield Lecture, International Society of Magnetic Resonance in Medicine, Montreal, Canada, May, 2011.
89. Ogawa, S. What is new in fMRI. NRI-KEIO joint symposium on Functional Neuroimaging and Cognitive neuroscience 2011, Incheon, Korea, March, 2011.
90. *Sung, Y. Fast response MRI signals in visual object processing areas. NRI-KEIO joint symposium on Functional Neuroimaging and Cognitive neuroscience 2011, Incheon, Korea, March, 2011.
91. 亀井裕孟. 電磁場の生物学的影響. 日本磁気共鳴医学会講演会, 東京, 2011年3月.
92. Ogawa, S. From the beginning of fMRI: Ever Expanding Field. Pauling Medal Lecture at Stanford University Medical School, California, USA, February, 2011.
93. Okano, K., Matsui, A., Maezawa, Y., Hosokawa, Y., Yamamoto, H., Masuhara, H. & Tsubokawa, H. In-situ dynamic surface control of culture substrate using a laser-directed microfabrication. The 41th Annual meeting of Society for neuroscience, Washington DC, USA, November, 2011.
94. 坪川宏・岡野和宣. 細胞間ネットワーク構築の時空間的制御が可能なプラットフォームの開発. 電気通信研究所共同プロジェクト研究会「ナノ・バイオの融合による新規バイオデバイスに関する研究」第16回情報バイオエレクトロニクス研究会, 仙台, 2011年2月. (招待講演)
95. Okano, K. Induction of Cell-Cell Connections by Using in situ Laser Lithography and Monitoring of Cell Activities on a Solid Platform. The 3rd Workshop on Laser Bio/Nano Science, Hsinchu, Taiwan, March, 2011. (Invited)
96. Sung, Y., Yamamoto, E., Tsubokawa, H. & Ogawa, S. Eye movements provide inhibitory signals to the occipito-temporal region. The 40th Annual meeting of Society for neuroscience, San Diego, USA, November, 2010.
97. Yamamoto, E., Someya, Y., Sung, Y., Ogawa, S. & Watanabe, S. Temporal patterns of activation during biological motion perception: fMRI study. The 40th Annual meeting of Society for neuroscience, San Diego, USA, November, 2010.
98. Ogawa, S. In the Midst of Ever Expanding fMRI Field. Society Meeting of Japan Bio-Magnetism, Kawasima, Japan, July, 2010.
99. 亀井裕孟. MRの安全性. 日本磁気共鳴医学会第32回MR基礎講座, 京都, 2010年7月.
100. Sung, Y., Someya, Y., Yamamoto, E. & Ogawa, S. Hemispheric superiority and information processing stages for faces. The 16th Annual meeting of Human Brain Mapping, Barcelona, Spain, June, 2010.
101. Ogawa, S. Our Recent fMRI interests. 1st Neuroimaging Conference in China, Chong Quing, China, April, 2010.
102. Ogawa, S. Our Recent fMRI interests. Keio-Gachon NRI Joint Symposium, Tokyo, Japan, February, 2010.
103. Ogawa, S. Expectation of MRI for Elucidation of Brain Function in Coming Years.

- Symposium on “Future of Neuro-molecular Imaging” at National Institute of Radiation Science, Chiba, Japan, November, 2009.
104. Ogawa, S. Expectation in Unknowns of EHF MR. Expectation in Unknowns of EHF MR, Seoul, Korea, November, 2009.
 105. Sung Y. & Ogawa S. An aspect of categorization mechanism in the ventral visual pathway. The 39th Annual meeting of the Society for Neuroscience, Chicago, USA, October, 2009.
 106. 亀井裕孟. Rotary Echo 信号の縦磁化検出—超低磁場 MRI に向けて—, 第 37 回日本磁気共鳴医学会大会, 横浜, 2009 年 10 月.
 107. Okano, K., Maezawa, Y., Hosokawa, Y., Kira, A., Matsubara, M. & Masuhara, H. In-Situ Arrangement of Living Cells on a Fabricated Surface by Laser Micro Tsunami. The 13th Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (μ TAS 2009), Jeju, Korea, November, 2009.
 108. Okano, K., Yu, D. & Liao, I. Cell arrangement and connection of individual cells on a cell array platform by femtosecond laser. The 1st NCTU-NAIST Workshop on “Molecular/Nano Science, Hsinchu, Taiwan, November, 2009. (Invited)
 109. 岡野和宣・于大衛・廖奕翰・前澤安代・松井愛・細川陽一郎・松原美絵・吉良敦史・増原宏. フェムト秒レーザーを用いた細胞アレイ用基板上での個別細胞配置と細胞間接続. 第 10 回(社)計測自動制御学会 システムインテグレーション部門講演会 S I 000, 東京, 2009 年 12 月.
 110. 岡野和宣・前澤安代・細川陽一郎・松原美絵・増原宏・吉良敦史. フェムト秒レーザーを用いた培養液中細胞間ジャンクションの形成. 2009 年度電気学会センサ・マイクロマシン部門総合研究会, 八王子, 2009 年 7 月.
 111. 吉良敦史・不破耕・岡野和宣・細川陽一郎・内藤晶・増原宏. 自己組織化単分子膜のパターニングで作製した基板を用いた三次元細胞培養の検討. 2009 年度電気学会センサ・マイクロマシン部門総合研究会, 八王子, 2009 年 7 月.

<研究成果の公開状況> (上記以外)

シンポジウム・学会等の実施状況、インターネットでの公開状況等
※ホームページで公開している場合には、URL を記載してください。

<既に実施しているもの>

児童青年期精神障害研究グループ

112. 藤井俊勝. 高次脳機能障害についてー前頭葉障害を中心にー. 気仙沼市保健・医療・福祉系職員スキルアップ研修会, 気仙沼, 2012年5月19日.
113. 藤井俊勝. 記憶と嘘. 玉川大学脳科学リテラシー部門第10回研究会, 東京, 2011年10月8日.
114. 西尾雅明. ACTの異議と先駆的取り組み事例からみた今後のあり方. 平成22年度東北衛生行政研究会, 山形, 2010年7月22日.
115. 西尾雅明. ACTの実践と課題ー国府台・仙台での取り組みからー. 第8回山陰精神科診療内科研究会, 米子, 2010年4月17日.
116. 松江克彦・河地庸介. 統合失調症の病態解明への実験心理学的アプローチ. 日本基礎心理学会2009年度第2回フォーラム, 仙台, 2010年3月13日.
117. 西尾雅明. ACTの実践を通して. 宮城県精神科治療シンポジウムー精神科治療における心理社会的支援の発展を目指してー, 仙台, 2010年2月3日.

メディア出演等

118. 西尾雅明. 地域生活を支えるーS-ACTの試みー (下). 河北新報(朝刊), 21, 2010年7月4日.
119. 西尾雅明. 地域生活を支えるーS-ACTの試みー (上). 河北新報(朝刊), 21, 2010年7月3日.
120. 西尾雅明. あたり前の暮らしをあげたいー精神障害者退院への課題ー. クローズアップみやぎ, NHK 総合テレビ, 仙台, 2009年10月2日.

14 その他の研究成果等

「13 研究発表の状況」で記述した論文、学会発表等以外の研究成果、企業との連携実績があれば具体的に記入してください。また、上記、11 (4) に記載した研究成果に対応するものには下線及び*を付してください。

該当なし

15 「選定時」及び「中間評価時」に付された留意事項とそれへの対応

<「選定時」に付された留意事項>

fMRIによって計画に示されるような研究が可能か。広範囲の研究分野を含むので、運営・評価システムが必要である。

<「選定時」に付された留意事項への対応>

1. 研究の可能性について

本プロジェクトにおいては、MRI 装置の製造元であるシーメンス社との契約により測定シーケンスの新規開発を行っており、従来の限界を超えた時・空間分解能での脳機能測定が可能であった。このため、組織の酸素消費量変化から神経活動を見積もる従来の fMRI のみならず、神経細胞や神経線維の活動そのものに由来すると考えられる速い信号が得られた。従って、今後更に技術開発を進めることによって、本プロジェクトで対象としている疾患、すなわち動脈硬化等の生活習慣病を素因にもつ脳血管性の認知症といった脳の器質性障害はもとより、脳の機能性障害と考えられる精神疾患のメカニズムについても、解明の糸口が新たに見つかる可能性がある。また、これらの MRI 信号の実体と信号発生のメカニズムを細胞生理学的実験によって分子レベルから明らかにしてゆくことで、発症の背景にあるとされる遺伝子的素因についての情報が得られ、疾患の予防、早期発見・介入に寄与できると考えられる。

2. 運営・評価システムについて

本プロジェクトは、生物学的に分子・細胞レベルから個体レベル、さらに人間集団のレベルといった各水準において十分な経験と実績を持つ研究者で構成されているが、プロジェクトの目的を達成するためにはこれらの水準における知見を統合的に理解し、常に自らの領域にフィードバックして研究を遂行することが求められた。このため、定期的にミーティングを開催して各グループの進捗状況を把握すると共に、重要な情報を共有した。その結果、グループ間で各々のレベルを超えた理解が深まり、科学的側面においては客観的な評価に基づく建設的議論を互いに行うことが可能になった。また、予算執行や研究成果の取りまとめを含む運営については、各グループ代表者と感性福祉研究所事務局を中心に各グループの研究上の特性が生かせるよう配慮した。

外部有識者 5 名による研究評価委員会を設立した。各グループの研究成果やプロジェクト全体の目標達成度が、社会的インパクトも含めて中立的・客観的に評価されたと考えられる。

<「中間評価時」に付された留意事項>

1. 研究組織における研究者の参画方法について

150 名の研究者が本施設を利用しているとあるが、若手を含めた研究者がどのような参画の仕方をしているのか明確でない。

2. 第 2 グループの位置づけとグループ内における共同研究機関との連携について

① 第 2 のプロジェクトは共同研究機関に合わせた傾向があり、当大学のセンターとしての参画が期待できないのではないかとと思われる。

② 研究発表論文は、プロジェクト 2 に関して、拠点である当大学の研究者が入っていない（全て他の共同研究機関の研究者であり、しかも成果論文に本プロジェクトと関連が希薄なものが散見される）。

③ 他の共同研究機関にて研究に参加した PD および RA は発表成果の欄で、下線を付して欲しい。

④ 共同機関との連携ができていない。また、本共同研究は当該大学の研究／育成に役立っていないようにみえる。特に共同研究機関との連携や共同のミーティングに関する具体がもとめられる。同時にプロジェクト 2 への当大学の若手の参加についても回答を求める。

3. 定期的研究報告会の開催や研究評価委員会の具体化について

選定時に付された留意事項、評価委員会、定期的ミーティングが依然として具体化されて

いない。

4. 第1グループの論文業績について

プロジェクト1の成果を国際誌に発表できるように努力してほしい。

<「中間評価時」に付された留意事項への対応>

1. 研究組織における研究者の参画方法について

東北福祉大学感性福祉研究所には、本事業を行っている「健康科学研究センター」の他に「感性福祉研究センター」があり、中間報告書に記載した約150名という人数は、日常的に研究所を利用している人員、すなわち両研究センターに所属する研究従事者、研究に携わる臨時職員等の総数である。本報告書には、健康科学研究センターに所属する研究従事者は約30名であり、うち8名が研究協力者・PD等に該当する若手の研究者であること、それぞれ所属するグループの研究実施計画に従って所定の研究室・実験室等で研究を行っていること、PDのうち1名は本学の特任講師として平成23年度より採用されたことを付記した。

2. 第2グループの位置づけとグループ内における共同研究機関との連携について

共同研究機関である京都大学や東北大学は、第2グループの研究課題を遂行するための研究設備と環境が既に整っているため、基礎的研究が先行していた。本学では、平成20年度より本事業による支援を得て研究機器・設備を整えはじめ、平成22年度をもって本格的に研究を行える環境となった。以降、共同研究によって培われたノウハウを活かし、本学が中心となって研究を展開した。

共同機関との連携に関して、第2グループ全体での研究会を年に2回の割合で、東北大学との研究打ち合わせを毎月1回の割合で行っていたが、本学開催の研究会の回数を増やした。

本学の若手教員・研究者を対象としたセミナーの開催に加え、若手研究者を筆頭著者とした国際学会・講演会発表や論文発表を通じて、研究成果の発信を推進した。

3. 定期的研究報告会の開催や研究評価委員会の具体化

3つの研究グループに所属する研究従事者が一同に会するミーティングを、平成21年1月23日に開催した。その後は進捗状況等の情報交換をする目的で、各グループのメンバー2名（リーダーを含む）で構成する連絡会議を、1ヶ月に1回開催した。全研究者が参加するミーティングを平成23年度5月に行った。

研究評価委員会については、事業全体の運営や研究成果を客観的に評価できる有識者として外部研究機関より5名を選出し、平成23年秋に開催した。

4. 第1グループの論文業績について

国際学会および国内学会にて発表した数件については国際誌への論文投稿の準備が整いつつあり、平成23年度に投稿した。さらに、若手研究者が活発に国際学会での発表や国際誌への投稿を行えるよう予算措置を行い、研究成果を世界に発信できるよう努めた。

III. 研究成果の詳細

児童青年期精神障害研究グループ

児童青年期精神障害の病態解明と 予防ケアシステムに関する研究

グループ代表者氏名： 佐藤 善久（東北福祉大学）

共同研究者： 松江 克彦（東北福祉大学）

西尾 雅明（東北福祉大学）

藤井 俊勝（東北福祉大学）

研究協力者： 今泉 修（東北福祉大学）

河地 庸介（東北福祉大学）

浅野 弘毅（東北福祉大学）

渥美 恵美（東北福祉大学）

行場 次朗（東北大学）

小野 治子（東北福祉大学）

柴田 理瑛（東北福祉大学）

児童青年期精神障害研究グループ

児童青年期精神障害の病態解明と予防ケアシステムに関する研究

佐藤善久 松江克彦 浅野弘毅 西尾雅明 渥美恵美 藤井俊勝
行場次朗 今泉修 小野治子 河地庸介 柴田理瑛

1. 研究の目的、意義及び計画の概要

今日の我が国では不登校や引きこもりが大きな問題となっており、その一部をなすと考えられている精神障害に高機能自閉症や統合失調症が挙げられるが、これら疾患の病態は未だ明らかでない。前者は発達障害に属し、後者は青年期に顕在化する内因性精神障害に属するが、これらは共に、コミュニケーションの欠如と社会適応困難を特徴としている。特に統合失調症は、再発と慢性的経過をとる事が多いため精神科入院患者の約 60%を占め、今日の社会復帰施策における精神保健福祉の最重要課題ともなっている。そこで、本プロジェクトでは、これらの疾患の病態を明らかにし、高機能自閉症者の社会適応を促進し、統合失調症の早期発見および慢性化を予防するケアシステムを確立することを目的とした。

2. 研究組織（実施体制）

児童青年期精神障害研究グループ（代表・佐藤善久、松江克彦、浅野弘毅、西尾雅明、渥美恵美、行場次朗、藤井俊勝）は、統合失調症、高機能自閉症の病態を明らかにし、これらの早期発見および慢性化を予防すると共に患者の社会適応を促進するケアシステムの確立を目指した。本学所属 4 名の研究協力者を加えて合計 11 名で研究を遂行した。

当グループにおける研究者・PD 等の動向としては、平成 21 年度に PD を 1 名採用し、平成 22 年度より本学の特任講師として採用された。

また研究課題の中のサブテーマに関しては、各グループで得られた成果を活かす形で、協力して実験を行うなど、必要に応じて連携が行われた。

3. 研究方法

統合失調症と高機能自閉症はいずれも、脳機能障害に起因することが強く示唆されていることから、以下の研究を行った。①統合失調症の臨床像は亜型分類の存在でもわかるように複雑であるので、素因性指標 (trait marker) とされる眼球運動異常 (smooth pursuit eye movements、anti-saccades)、短期記憶課題 (連続瞬間提示する文字—数字群に関する記憶課題) 異常の同定、さらに効果的な素因性指標の開発を行った。②予防・早期介入の可能性を検討するために、上述の指標が統合失調症との連続性が仮定される統合失調型パーソナリティ保持者でも得られるかを検討した。③自閉症者および自閉症傾向群が示す模倣行動の障害や共感性欠如の背景にあると推測されている神経基盤としてのミラーニューロンの機能不全を中心に病態解明のための心理・生理実験および fMRI を用いた検討を進めた。統合失調症および高機能自閉症者の臨床様態の把握と病態解明研究の結果を受けて、統合失調症の早期発見および慢性化予防のケアシステム、高機能自閉症については共感性涵養のためのプログラムを構築する。

4. 研究成果

児童青年期精神障害研究グループでは、主として統合失調症の早期発見、早期介入のための素因的指標の検討を、統合失調症患者と同様の発症脆弱性を有するとされる統合失調型パーソナリティ保持者を対象にして心理生理的側面から研究した。その結果、眼球運動異常や短期記憶課題異常に加えて、新たに幾つかの敏感な指標を見出した。特に、統合失調症の病態解明に関してのプレパルス抑制 (prepulse inhibition) 研究において、能動的自己を導入したことは更なる病態解明に資するものである。震災により、東北福祉大学せんだんホスピタルは被災地の病院としての役割が大きく期待されたことから、計画されていた研究面での連携は一時断念せざるを得ない状況になった。しかしながら、病院側スタッフの協力により、現在では研究に参加可能な精神疾患患者を主治医からの紹介のもとリクルートして研究展開できる基盤を構築できた。この研究基盤に依拠して現在までに実施した統合失調症患者を対象とした研究では、統合失調型パーソナリティと統合失調症の両方を反映できる素因性指標とそうでない指標があるという有意義な結果が得られ始めたところである。高機能自閉症については、主として行動学的観察研究が行われた。この疾患に特徴的なコミュニケーション障害については、その神経基盤についての基礎的研究が fMRI を用いて行われた。また、統合失調症・統合失調型パーソナリティにおける素因的指標の脳内機序に関する fMRI 研究では、前頭前野における特徴的な活動パターンを見出しつつある。ACT (包括型地域生活支援プログラム) 研究は臨床的側面を中心に行われており、素因的指標などの活用とそれらによる早期発見および慢性化予防は今後の課題である。

素因性指標 (trait marker) に関する研究

- 1) 慢性統合失調症患者では追跡眼球運動 (ゆっくりと運動する物体を追跡する滑らかな目の動き) の異常が頻繁にみられる。正弦波状に速度変化しながら水平に往復運動する物体を提示すると、健常者の眼球運動は滑らかな正弦波形として記録されるが、一方で統合失調症患者ではしばしば衝動性眼球運動 (サッケード) が発生し、階段状の波形となることが知られている。本研究では、統合失調型パーソナリティ低・高群および統合失調症患者群で追跡眼球運動時の眼電図を計測し

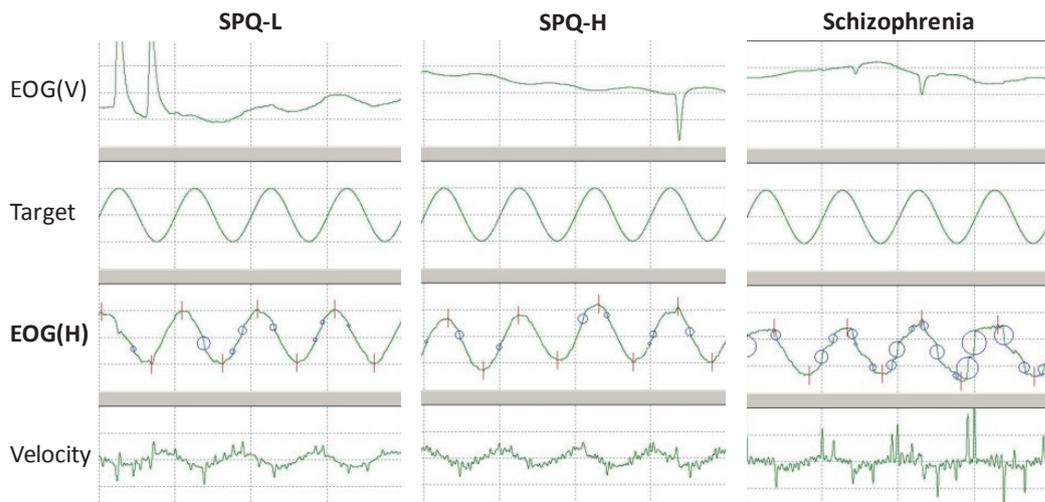


図1 追跡眼球運動計測データの一例 左列は統合失調型パーソナリティ低群、中央列は統合失調型パーソナリティ高群、右列は統合失調症患者の一例を示す。患者の水平 EOG (EOG (H)) は、視標 (Target) と同様の正弦波を描いておらず、衝動性眼球運動 (サッケード) が多数混入していた。図中の円はサッケードの混入および、その大きさを示している。

た。その結果、統合失調型パーソナリティの高低に依存した眼球運動異常は見られなかったものの、患者群では従来報告されている通り異常が検出された（図1）。このことから追跡眼球運動異常は慢性化の指標と想定された。^{*11} 統合失調症の早期発見及び予防的見地からは、より敏感な指標の開発が必要と考えられた。また、追跡眼球運動と短期記憶課題を組み合わせた実験パラダイムで行った研究では、統合失調型パーソナリティ保持者で記憶成績が低下する傾向が示され、新たな指標となることが示唆された。

- 2) 近年、衝動性眼球運動や追跡眼球運動とならんで、統合失調症の有力な素因性指標として注目を集めているのがプレパルス抑制である（Prepulse inhibition: PPI）。PPI とは、驚愕反射（瞬目など）を誘発する刺激（100 dB を越えるバースト音など）に対する反射が、当該刺激の直前に微

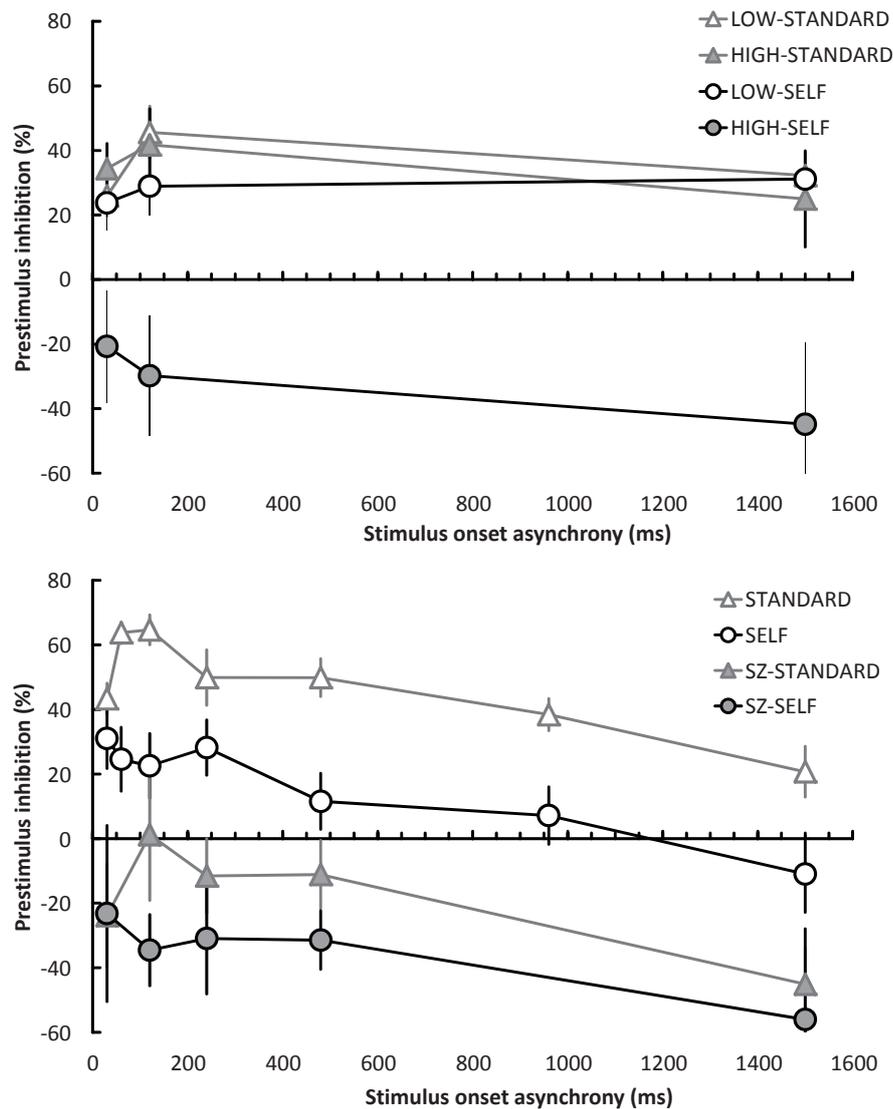


図 2 プレパルス抑制および自己動作による抑制実験の結果 上段のグラフが健常者と患者群（SZ）の結果であり、下段がパーソナリティ高群と低群の結果である。PSI（Prestimulus Inhibition）（%）が正の値をもつときは抑制効果があり、負の値をもつときに促進効果を示す。STANDARD はプレパルス抑制、SELF は自己動作による抑制を示す。

弱な刺激（プレパルス）を提示すると、抑制される現象である。そして、統合失調症患者では PPI が減衰するという報告が多数なされている。我々は PPI を応用して、自分で驚愕刺激を提示するという行為が驚愕反射を抑制するという新たな抑制現象の同定^{*11, *22}に取り組んだ。この取り組みによって、従来の PPI 研究で検討してきたコンピュータの自動刺激提示に対する受動的な反応に加えて、自己動作という能動的側面を含めた病態解明が可能になると考える。実験では、驚愕刺激（115 dB white noise burst）の提示の前にプレパルス（75 dB white noise burst）がある条件、あるいは実験参加者によるキー押しがある条件を設けた。また、プレパルスもしくはキー押しから驚愕刺激が提示されるまでの時間間隔が操作された（30、60、120、240、480、960 ms）。右眼輪筋に電極を装着して眼輪筋反射を測定した結果、両条件ともに単独で驚愕刺激が提示されるよりも反射が抑制された。ただし、プレパルスによる抑制傾向はプレパルス提示後 30-960 ms であるが、自己動作の場合には 30-480 ms で見られた（図 2 上）。この時間的差異の詳細な検討は今後必要であるが、安定した素因性指標である PPI を用いて自己動作という能動的側面の検討が可能になったという点で本研究がもつ意義は大きいと考える。研究成果は国際専門誌に投稿中である。

統合失調症患者では、先行研究で示されているようにプレパルス抑制が減衰していることに加えて、本研究で新たに導入した自己動作による抑制についても減衰している^{*12}ことが明らかとなった（図 2 上）。さらに、自己動作による抑制は統合失調型パーソナリティ高群において患者群と同様に減衰する^{*12}ことが見出されつつあり（図 2 下）、統合失調症の早期発見・介入のための敏感な指標として期待が持てる。

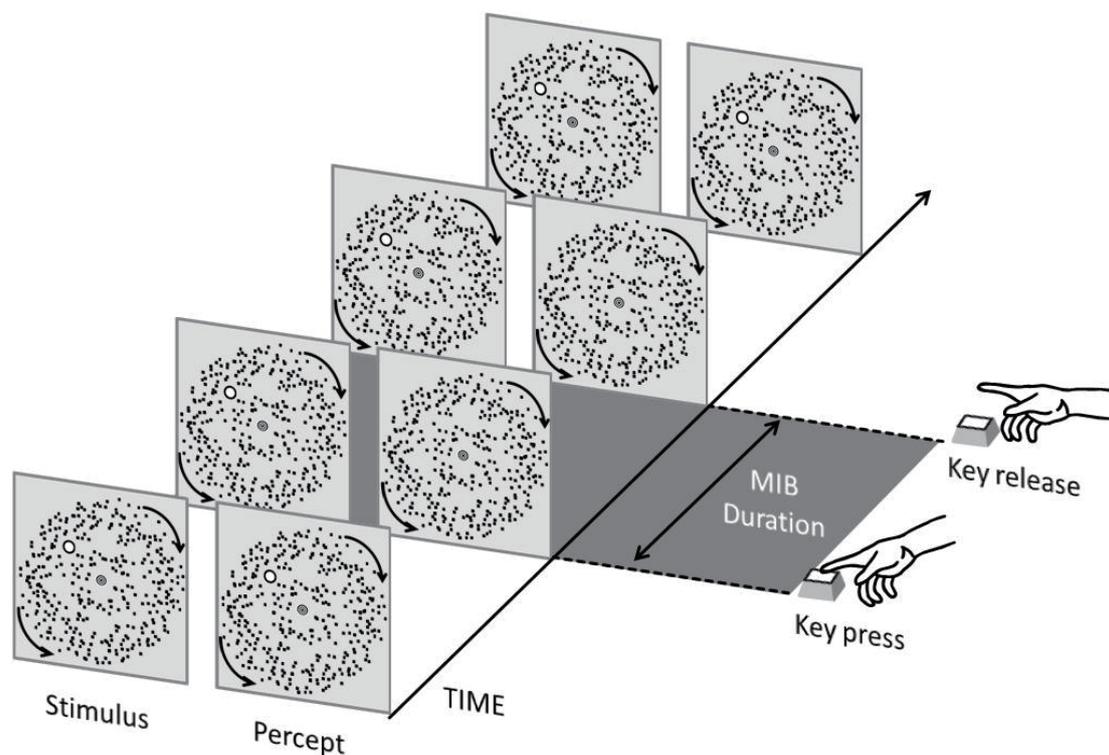


図 3 運動誘発盲刺激 左列が物理的に提示された刺激の例（刺激の左上白丸は視対象・標的を示す）であり、右列が刺激に対応して得られる知覚体験の例を示す。

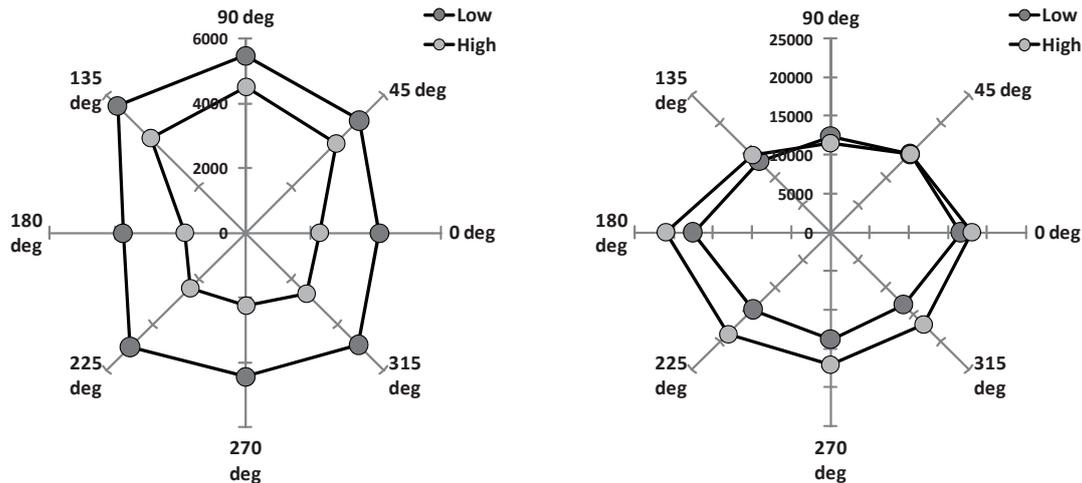


図4 統合失調型パーソナリティに影響を受ける運動誘発盲 左のレーダーチャートは30秒の刺激呈示時間の中でどの程度視対象が消失しているかを示す。高群において特に下視野に呈示された視対象の消失時間が短くなっていることがわかる。右のレーダーチャートは刺激呈示開始から始めて視対象が消失するまでにかかる時間を示す。高群は低群に比べると、下視野の視対象が消失するまでにより長い時間がかかっていることがわかる。単位はms。

- 3) 運動誘発盲 (Motion-Induced Blindness, MIB: 運動する背景の中で、明瞭にみえる視覚対象が不随意的にときおり意識から消失したように感じられる現象) を用いて (図 3)、視対象を様々な視野位置に呈示して、統合失調型パーソナリティの高低に依存した視覚意識の特徴を検討した。その結果、統合失調型パーソナリティ高群では、下視野における運動誘発盲が生じにくい^{*21}という結果 (図 4) が得られ、脳機能との関連に示唆を与えた。下視野の知覚は主として背側 (後頭一頭頂) 経路の影響を受け、運動情報や運動情報に関連した注意機能との関連が強いことが知られている。また、運動誘発盲観察時の微小眼球運動をアイカメラ (サンプリングレート 500 Hz) で計測したところ、視対象の消失及び再出現には特徴的な微小眼球運動の生起頻度の変動が見られることがわかった。微小眼球運動の変動は視対象への注意の割り当て、及び解放を反映することが想定^{*4, *18}された。
- 4) 自閉症の示す社会性障害は注意に関連した視線行動に現れることから、衝動性眼球運動 (サッケード) を用いて自閉症との連続性が仮定される自閉症スペクトラム指数高群と低群を対象に比較を行った。参加者の課題は、ターゲットが呈示されたら注視点からターゲットへ急速な眼球運動 (サッケード) をすることであった。本研究では、ターゲットの呈示直前に画面中央の注視点が消滅するために注視点への注意が強制的に解放される条件と、注視点呈示されたままターゲットが呈示されるために注視点への注意を自発的に解放しなければならない条件が設けられた (図 5)。自閉症では注意の解放に障害があり、条件間でサッケードが生じるまでの時間にあまり差異がないとされている。しかし、本研究の自閉症スペクトラム指数高群と低群の両群においては条件間でサッケード時間に有意な差異が得られた。本研究のように自閉傾向が高くとも十分に知能が発達していると考えられる成人を対象とした場合には、自閉症で示される注意の解放障害はみられず、本障害における自閉症と高群との連続性は仮定できなかった^{*1, *13}。この他、自閉症スペ

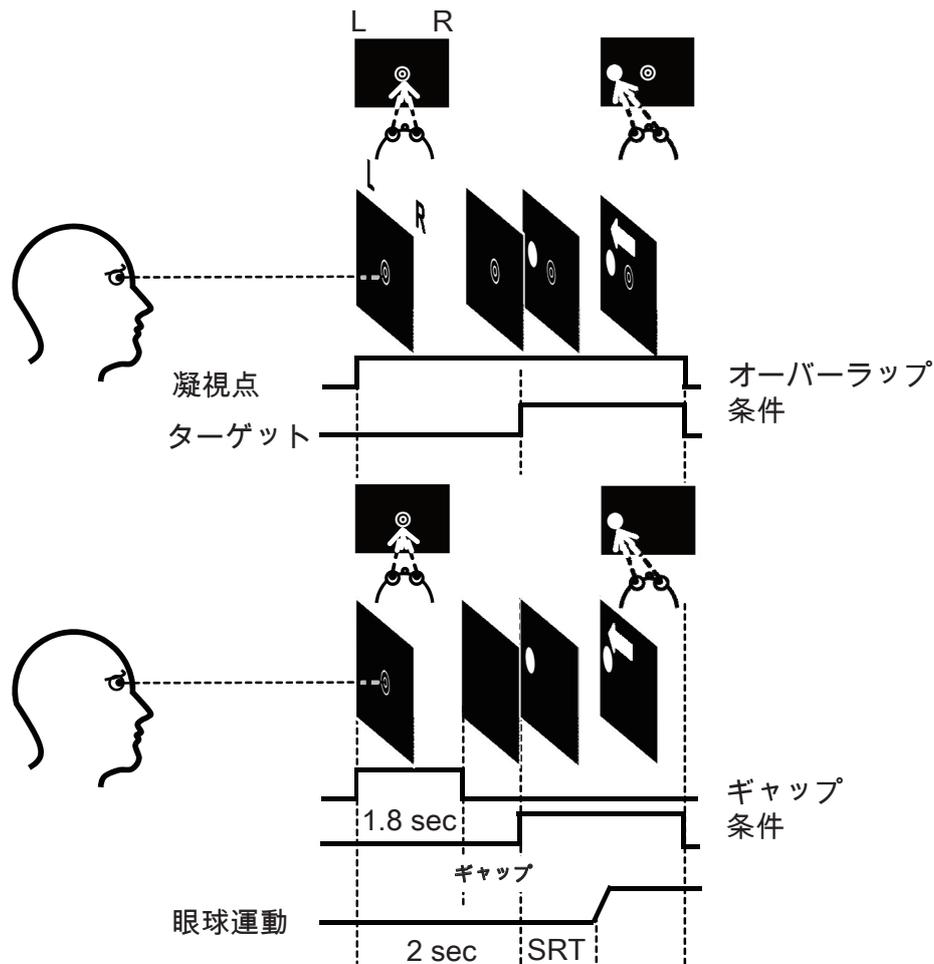


図5 サッケード実験における刺激の流れ 凝視点が画面の中央に呈示された後、凝視点をはさんで画面の左右いずれかにターゲットが呈示される。被験者の課題は凝視点を凝視し、ターゲット呈示後にターゲットの呈示位置まで眼球を動かすことであった。オーバーラップ条件では凝視点が呈示されたままターゲットが呈示され、ギャップ条件ではターゲット呈示の0.2秒前に凝視点が消失した。図中の白色矢印は眼球運動方向を示し、SRTはサッケードが生じるまでの時間 (Saccade Reaction Time) を示す。

クトラム指数高群と低群を対象に視覚的短期記憶課題を実施した結果、両群間の視覚的短期記憶容量の特性に一部差異が見出されている^{*3}。

統合失調症および高機能自閉症に関連する認知機能に関するfMRI研究

先端的脳機能イメージング研究グループとの連携の下、統合失調症・自閉症の指標となりうる眼球運動・短期記憶・社会的認知に着目し、関連する脳内基盤の特定を行い、以下のような結果を得た。

- 1) 統合失調症患者に顕著にみられる追跡眼球運動中のサッケードとして想定されているエクスプレッスサッケードの脳内基盤を特定すべくfMRI実験を行い、眼球運動を制御する前頭眼野等の皮質領域の計測は容易であるものの、動物実験で示唆されている上丘等の皮質下活動を特定するには高速撮像を始めとする測定法および実験パラダイムの改善が必要であることがわかった。

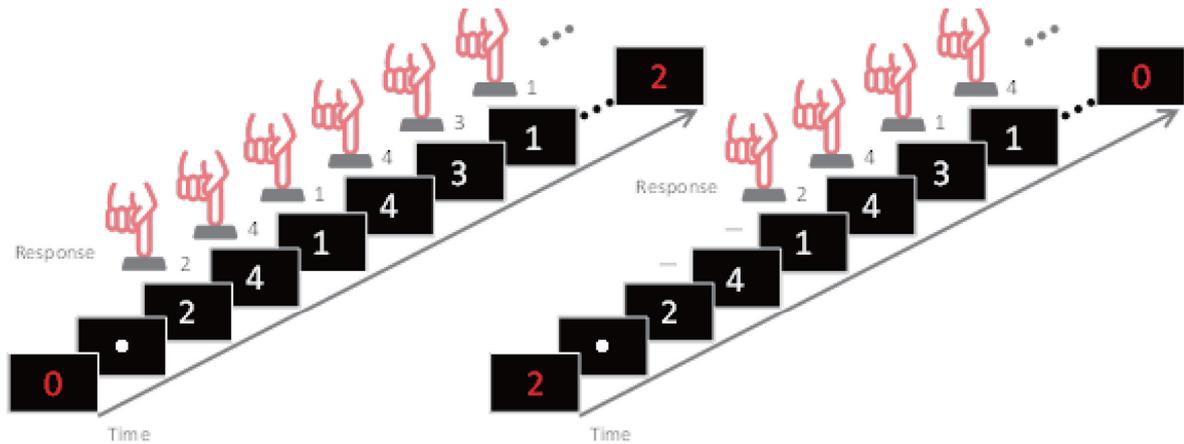


図6 n-back 課題 左列が 0 back 課題系列を示し、被験者は画面に呈示された数字に対応したボタンを押す。右列が 2 back 課題系列を示し、被験者は 2 つ前に呈示された数字に対応するボタンを押す。

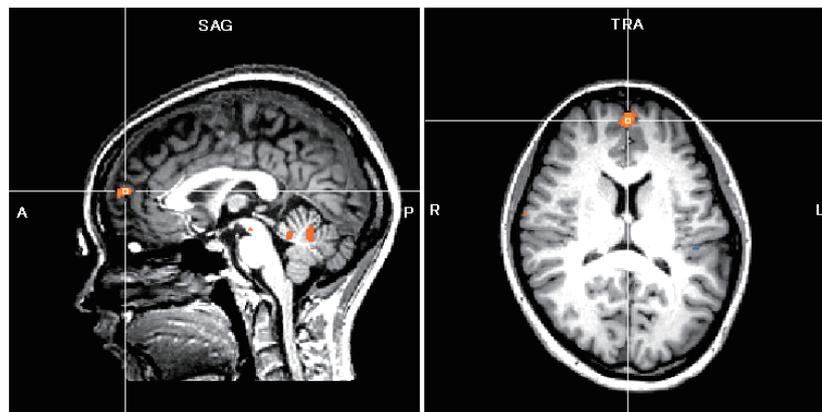


図7 n-back 課題遂行時に統合失調型パーソナリティ高群において低群よりも強く活動している脳部位

- 2) 統合失調型パーソナリティ保持者を対象として、統合失調症において報告されている短期記憶障害とその脳内基盤について n-back 課題 (図6) と fMRI を用いて検討した。その結果、統合失調型パーソナリティ高群では低群と比べて課題成績および反応時間という行動指標においては同等であるものの、前頭前野の脳活動は統合失調型パーソナリティ高群において有意に高まるという結果が得られつつある (図7)。本知見は認知機能障害が軽度な統合失調症患者を対象とした先行 fMRI 研究で報告された、前頭前野において健常者よりも患者群で有意に強い活動が得られる知見 (Calicott et al., 2000) とも整合性がある。今後早期発見・介入のための fMRI を用いた指標として期待できる。
- 3) 高機能自閉症者にみられる社会的コミュニケーションの困難さに関する研究の基礎となる脳活動データの取得を目的として、fMRI を用いた研究を実施した。まず、他者の顔に関する魅力度判断に関する研究として、ヒトが他人の顔を好きと感じるときと嫌いと感じるときに活動する脳領域に関する研究を施行した。その結果、好きと感じる場合には腹内側前頭前野が、嫌いと感じる場合

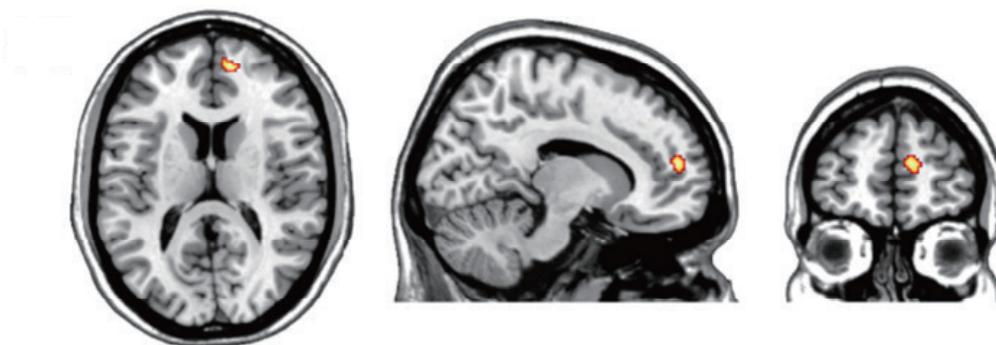


図8 好みの顔を見ている際の脳活動



図9 化粧により魅力度が向上した顔を見ている時の脳活動

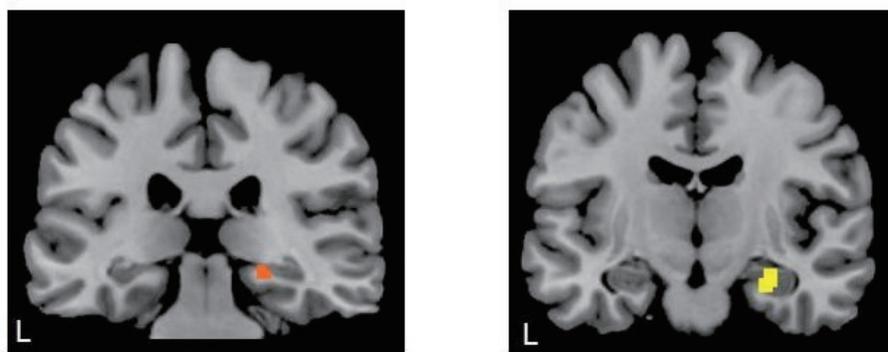


図10 エピソード記憶の想起に関する脳領域 左：記録と想起の時間間隔が短いほど活動上昇、右：記録と想起の時間間隔が長いほど活動上昇

には島が活動することを見出した (図 8)。*16、*19その後、他人の顔の魅力度判断に関わる神経基盤の研究の一環として化粧による魅力度の変化についての研究を施行した。化粧による魅力度の上昇に腹内側前頭前野の活動が関わることを明らかにした (図 9)。現在、さらに他人の顔の魅力度に影響を与えると想定される視線と化粧、その相互作用についての研究を進めている。また、対人コミュニケーションにとって重要と考えられるエピソード記憶の想起に関する脳領域の研究を施行し、内側側頭葉の活動を同定した。*20 さらにエピソード記憶の文脈情報想起に関する脳領

域の研究を施行し、時間間隔の違いによって異なる内側側頭葉領域が活動することを明らかにした (図 10)。*14、*17

児童・青年期精神障害の予防的ケアシステムに関する研究

ACT (assertive community treatment) チームは、統合失調症を中心として前駆症状を有する患者の発病の防止、発病初期患者への効果的な治療の早期提供による疾患重症度の低減に寄与すると考えられる精神障害の早期発見と早期介入の可能性についての枠組みを提供した。^{*10} この枠組みは、8 つの特徴からなる。①重い精神障害を抱えた人を対象としている。②様々な職種の専門家で構成されるチームでケアを提供する。③スタッフ全員で一人の利用者のケアを共有する。④インフォーマルな資源の活用を除き、必要なサービスのほとんどをチームが責任をもって提供する。⑤利用者が生活する場での支援を行うため、積極的な訪問を行う。⑥期限をさだめず、ニーズがある利用者には継続的な関わりを保証する。⑦1日24時間・365日体制で対応する。⑧利用者数の上限を設定している、などがACTの構造である (図 11)。

ACTの対象は重い精神障害として、若年成人期に発病し、妄想や幻覚、無関心と引きこもり、および認知機能障害などの症状が一生涯持続する可能性がある、統合失調症を中心に行われることが多く、本研究でも知的障害や認知症、人格障害は除外して行われている。この疾患では前駆症状から統合失調症発症に至るものが30%程度で、前駆症状の段階での予防的介入は倫理的に問題がある。現時点では退院支援、再発・再入院を防ぐとともに、地域生活支援に関する研究が主であり、広範な文献的研究からは発病の予測力を高める神経心理学的障害をマーカーとして活用する重要性と、発症の確率が非常に高いマーカーの確立の必要性が指摘された。^{*10} 本グループでは上で述べたように統合失調型パーソナリティ保持者と統合失調症患者に共通するマーカーの確立および慢性化の神経心理学的マーカーの確立を行っている段階であるが、我が国でアウトリーチ型の早期発見・早期介入をシステマティックに行っているプログラムは未だなく、本研究が提供した枠組みは極めて重要である。

現在、東北福祉大学せんだんホスピタルでは、東北地方で初めてのACTチームであるS-ACTが発足している。チームは精神保健福祉士5名 (うちプロシューマー・スタッフ1名)、看護師1名、急性期病棟兼任の精神科医1名の常勤スタッフから構成される多職種チームとなっている。活動としては、

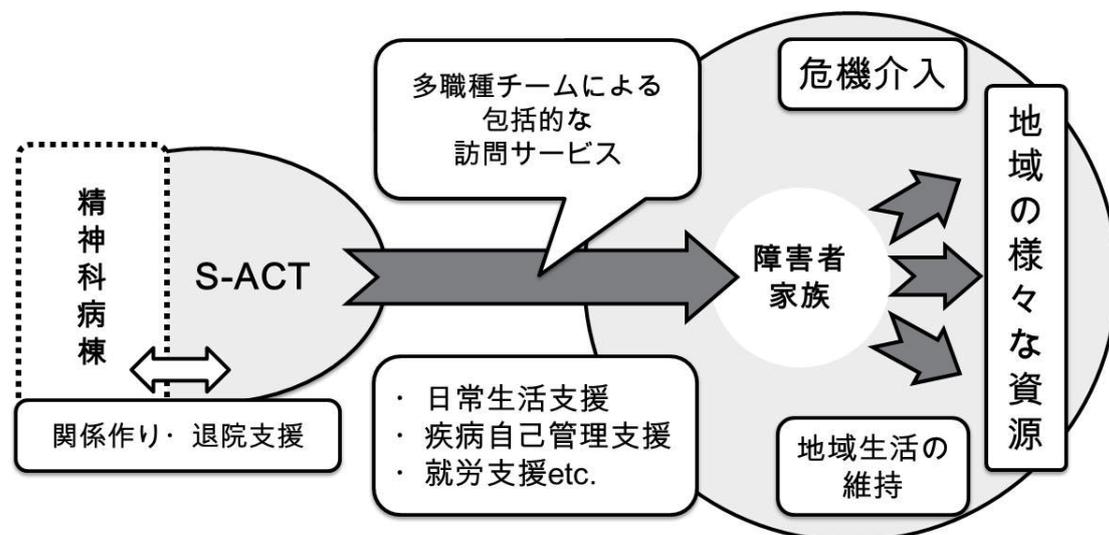


図 11 ACT の概念図



図 12 プログラムの包括的構造

表 1 プログラムごとの期待される効果

プログラム内容	パ ラ シ ユ ー ト	サ ー キ ツ ト	ス ク ー タ ー ボ ー ド	円 盤 フ ラ ン コ	旗 揚 げ ゲ ー ム	す こ ろ く ゲ ー ム	縄 跳 び	ト ラ ン ポ リ ン	フ ル ー ツ バ ス ケ ッ ト	風 船 バ レ ー	ハ ン ド ベ ル	ジ ェ ン ガ	夏 祭 り	看 板 作 り	糸 電 話	ク リ ス マ ス 会
運動企画																
ボディーイメージ																
感覚刺激	前庭覚															
	固有感覚（深部感覚）															
	視覚（眼球運動含む）															
	聴覚															
触覚																
目と手の協調性																
手指巧緻性																
コミュニケーションスキル																
対人技能（ソーシャルスキル）																
問題解決																

①病棟に入院した患者の退院支援とその後の在宅支援、②外来患者の入院防止・受診勧奨、③医療支援（アセスメント、通院支援、薬のデリバリーやデポ剤の注射等）、④日常生活支援、⑤家族支援、就労・就学支援、が挙げられ、24時間オンコール体制で行われている。また当該プログラムの実践とともに、予防や早期発見・早期介入のための教育活動も展開している。さらに、行政関連部会に出席する形で一層のケアシステム作りに着手してきていることも重要な成果である。

高機能自閉症を含む発達障害については、本学の特別支援教育研究室を中心として発達障害児の日常生活と集団の中でのソーシャルスキルやモータースキルの特性を把握するための客観的計測研究を行った。並行して、参加児童の母親に JSI-R（Japanese Sensory Inventory Revised: 日本版感覚イベントリ改訂版）を用いて、児童の前庭感覚、体性感覚、視覚などの感覚機能に関連する行動特性の計測を行った。この発達障害児の行動特性の把握に基づいて、発達障害児の行動特性を踏まえた不適応行動の予防と社会適応を促すための予防的プログラムを検討した。具体的には、小集団の中で作業療法プログラム（①運動企画、②ボディーイメージ、③感覚刺激への介入、④目と手の協調性、⑤手指巧緻性、⑥コミュニケーションスキル、⑦対人技能、⑧問題解決能力の習得を目的としたプログラム）、SST（Social Skill Training: 社会生活技能訓練）、集団内での役割獲得・ルールの遵守等の社会的スキルの習得を組み合わせることで繰り返し実施し（図 12 および表 1）、行動の変容を把握しながら、その効果について検証するとともに予防的プログラムの在り方に関して検討した。今回実施したプロ

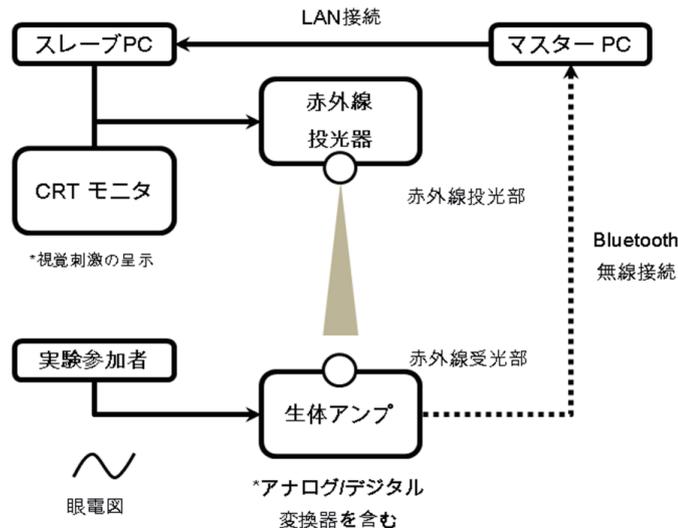


図 13 可搬型眼球運動解析装置の概略図 スタート信号が Master PC から Slave PC に送られると、赤外線投光器から赤外線が照射される。生体アンプが赤外線を受光すると、視覚刺激の呈示が始まり、眼電図の記録を開始する。眼電図は生体アンプから Master PC に Bluetooth 無線によって送信され、Master PC のハードディスクに記録される（サンプリングレート：1 kHz）。

グラムでは、モータースキルの向上を目指す中でコミュニケーション等の応用的スキルの獲得が促され、さらには小集団でのプログラムの実施は他児との共感経験を促し、社会的スキルの向上にも有効であると考えられた。

測定機器の開発

従来、据え置き型の大型実験装置を使用する必要から研究所内で限定的に行われていた眼球運動の計測・解析を幅広く様々なフィールドで遂行できるように可搬型眼球運動計測装置（Bluetooth 無線通信が可能な小型 EOG 生体アンプを活用した装置）を考案した（図 13）。そして、その精度において研究所内での計測とほとんど一致することを確認した。現在、研究所外にある東北福祉大学せんだんホスピタルにおいて、統合失調症患者を対象とした実験研究にて活用されている。

5. 今後の展望

統合失調型パーソナリティ保持者および自閉症スペクトラム指数高群を対象とした実験的研究を通して、予防的見地に立った指標を新たに見出すことに成功した。今後は見出された指標の妥当性の確認が必要となる。そのためには、実際に患者を対象とした検証および被験者の長期的経過をたどるなどの検証が第一と考えられ、現在東北福祉大学せんだんホスピタルとの連携の下、患者を対象とした検証を始めたところである。今後は ACT チームとの連携のもと、上記指標が早期発見および慢性化予防の補助手段として有効活用されることを目指す。

また、認知・行動指標の検索・計測を主とする本グループと最先端脳機能イメージング研究グループは、統合失調型パーソナリティ保持者を対象として既に共同で研究を展開している。今後は、統合失調症患者や高機能自閉症者の認知課題中の脳活動計測のみならず、課題負荷が最小限であるため精

神障害患者へも広く適用可能とされる安静時脳活動計測 (resting-state activity) を行う予定である。

発達障害児の不応行動の予防と社会適応を促すための予防的プログラムについては、今後プログラムの効果の定量的理解・判定を目指す必要があるとともに、継続的な実践を通して横断的な研究を展開することを検討している。

6. 主な発表論文等

<雑誌論文 (査読あり) >

- *1. 柴田理瑛・河地庸介・松江克彦 (2013). 自閉症スペクトラム指数と顕在的な注意の解放との関連性. 感性福祉研究所年報, 14, 31-41.
2. Kawachi, Y. & Gyoba, J. (2013). Occluded motion alters event perception. *Attention, Perception, & Psychophysics*, 75, 491-500.
- *3. Takahashi, J. & Gyoba, J. (2012). Self-rated autistic-like traits and capacity of visual working memory. *Psychological Reports*, 110(3), 879-890.
- *4. 柴田理瑛・河地庸介・松江克彦 (2012). 運動誘発盲研究からみた視覚的気付きと注意に関する一考察. 感性福祉研究所年報, 13, 243-250.
- *5. 松江克彦 (2012). 統合失調症における基本障害の理解を目指して—フィルター障害仮説の検証を通して—. 感性福祉研究所年報, 13, 217-242.
6. Kawachi, Y., Kawabe, T. & Gyoba, J. (2011). Stream/bounce event perception reveals a temporal limit of motion correspondence based on surface feature over space and time. *i-Perception*, 2(5), 428-439.
7. Kawachi, Y., Kawabata, H., Kitamura, S. M., Shibata, M., Imaizumi, O. & Gyoba, J. (2011). Topographic distribution of brain activities corresponding to psychological structures underlying affective meanings: An fMRI study. *Japanese Psychological Research*, 53(4), 361-371.
8. 渥美恵美・大淵憲一・勅使河原麻衣 (2011). 社会的交流技能自己評価尺度の妥当性の検証. 感性福祉研究所年報, 12, 163-174.
9. 河地庸介・柴田理瑛・今泉修・行場次朗・松江克彦 (2010). 情報源弁別に影響する視覚刺激とその時間特性 —運動誘発盲 (Motion-induced blindness) を用いて—. *臨床神経生理学*, 39(4), 192-198.
- *10. 西尾雅明 (2010). わが国における訪問型早期介入プログラムの可能性. 東北福祉大学感性福祉研究所年報, 11, 127-143.
- *11. 松江克彦・河地庸介 (2010). 統合失調症の病態解明への実験心理学的アプローチ. *基礎心理学研究*, 29, 53-57.

<学会発表>

- *12. 河地庸介・柴田理瑛・松江克彦. 驚愕刺激に先行する自己動作は瞬目反射を抑制する—統合失調型パーソナリティ傾向に依存する抑制効果—. 日本感性福祉学会第12回大会, 仙台, 2012年10月.

- *13. 柴田理瑛・河地庸介・松江克彦. 自閉症スペクトラム指数と空間的注意特性の関連性 -眼球運動を指標として-. 日本感性福祉学会第12回大会, 仙台, 2012年10月.
- *14. Suzuki, M., Okuda, J., Ueno, A., Matsue, Y. & Fujii, T. Neural correlates of the retrieval of temporal order memory. SFN 2012, New Orleans, USA, October, 2012.
- 15. Kawachi, Y. & Matsue, Y. Temporal characteristics of perceived non-overlap of objects in audiovisual stream/bounce displays. European Conference on Visual Perception 2012, Alghero, Italy, September, 2012.
- *16. 上野彩・伊藤文人・林亜希子・小関優太・森悦朗・松江克彦・藤井俊勝. 後の好き嫌いを予測できる神経活動. 第34回日本神経科学大会, 横浜, 2011年9月.
- *17. 鈴木麻希・奥田次郎・上野彩・松江克彦・藤井俊勝. 出来事的时间順序情報の想起過程に関わる神経基盤. 第34回日本神経科学大会, 横浜, 2011年9月.
- *18. 柴田理瑛・河地庸介・松江克彦. 眼球運動から分析する運動誘発音の空間異方性. 北海道心理学会. 東北心理学会第11回合同大会, 札幌, 2011年8月.
- *19. Ueno, A., Ito, A., Koseki, Y., Hayashi, A., Mori, E., Matsue, Y. & Fujii, T. Distinct brain activations predicting the choice of likes and dislikes. International Neuropsychological Society, 39th Annual Meeting, Boston, USA, February, 2011.
- *20. Koseki, Y., Ito, A., Abe, N., Ueno, A., Hayashi, A., Mori, E., Sung, Y., Matsue, Y. & Fujii, T. Dissociating areas for novelty detection and for episodic encoding within the human medial temporal lobe. International Neuropsychological Society, 39th Annual Meeting, Boston, USA, February, 2011.
- *21. 河地庸介・柴田理瑛・行場次朗・松江克彦. 統合失調型パーソナリティと視覚意識の異方性. 東北心理学会第64回大会, 仙台, 2010年9月.
- *22. Kawachi, Y., Matsue, Y., Shibata, M., Imaizumi, O. & Gyoba, J. Self-triggered prepulse inhibition. 29th International Congress of Clinical Neurophysiology, Kobe, Japan, November, 2010.
- 23. 河地庸介・柴田理瑛・今泉修・行場次朗・松江克彦. 消失事象を主観的なものであると混同させる刺激要因の検討. 日本基礎心理学会第27回大会, 東京, 2009年12月.
- 24. 河地庸介・柴田理瑛・今泉修・行場次朗・松江克彦. 知覚的消失現象を用いた awareness に関する研究. 第39回日本臨床神経生理学会学術大会, 福岡, 2009年11月.
- 25. 河地庸介・柴田理瑛・今泉修・行場次朗・松江克彦. 知覚的消失現象におけるセルフアウェアネス. 東北心理学会第63回大会, 青森, 2009年6月.

<参考文献>

1. 奥田次郎, 藤井俊勝: 展望する脳. 社会脳シリーズ第1巻「社会脳科学の展望-脳から社会をみる」(荻阪直行編) 新曜社 東京 2012, pp. 1-33.
2. 阿部修士, 藤井俊勝: 嘘をつく脳. 社会脳シリーズ第1巻「社会脳科学の展望-脳から社会をみる」(荻阪直行編) 新曜社 東京 2012, pp. 35-61.
3. 藤井俊勝: 記憶とは. Clinical Neuroscience 2011; 29: 144-147.
4. Fujii T., Suzuki M. Episodic memory. In: Binder MC, Hirokawa N, Windhorst U (eds): The

Encyclopedia of Neuroscience, vol 1. Springer, NewYork, 2009, pp.1139-1142.

5. Kawachi, Y., and Gyoba, J. (2008). Physical offset of an invisible object can recover visual awareness suppressed by motion-induced blindness. The Japanese Journal of Psychonomic Science, 27(1), 109-110.

高齢者関連疾患研究グループ

高齢者関連疾患の病態解明・予防ケアに 関する研究プロジェクト

グループ代表者氏名： 船渡 忠男（東北福祉大学）

共同研究者： 加藤 伸司（東北福祉大学）
齋木しゅう子（東北福祉大学）
齋藤 邦明（京都大学）

研究協力者： 五十嵐 守（東北福祉大学）
黒木 薫（東北福祉大学）
竹田 真由（天理医療大学）

鈴木 堅二（東北福祉大学）
大内 誠（東北福祉大学）
菅原 明（東北大学）
佐藤 啓壮（東北福祉大学）
山本 宣幸（東北大学）

高齢者関連疾患研究グループ

高齢者関連疾患の病態解明・予防ケアに関する研究プロジェクト

船渡忠男 加藤伸司 鈴木堅二 齋木しゅう子 大内誠 齋藤邦明
菅原明 五十嵐守 佐藤啓壮 黒木薫 山本宣幸 竹田真由

A. 分子生物学的視点による予防システム構築

1. 研究開始当初の背景

高齢化社会において高齢者の病気に対する健康不安が重要な課題となっている。加齢に伴う疾患としては、肥満・糖尿病・脳血管障害（脳卒中）などの血管における動脈硬化症、精神科学に関連する認知症、骨量の低下する骨粗鬆症などがある。したがって、本プロジェクトでは、高齢者および高齢者に関連する疾患患者を対象として、老化（エイジング）に関するメカニズムを分子・細胞レベルおよび画像レベルで解明していき、これら疾患の原因・病態に基づく予防法および慢性化・進行化の予防法として、個別的な、オーダーメイドのプログラムシステムの確立を目指した研究を行うものである。特に、高齢者における寝たきりとなる危険因子を回避することに重点をおき、高齢者が健康で自立した生活を送る上での身体機能・精神機能の維持と予防および、関連疾患患者においては慢性化予防に着眼した研究を中心に推進する。

2. 研究の目的

本グループにおいては、分子生物学的視点による予防システム構築を目的とし、老化（エイジング）に関するメカニズムについて分子・細胞レベルでの解明を目指す。さらに、これら疾患の原因・病態に基づく予防法および慢性化・進行化の予防法として、オーダーメイドのプログラムシステムの確立を目指した研究を行うものである。

老化現象の一つに「酸化ストレス」があげられる。中でも喫煙は、体内に酸化ストレスを与える大きな要因である。しかし、喫煙と心疾患などに強い相関があるにもかかわらず、喫煙者の全てが発症するわけではなく、宿主側の

要因としての遺伝的素因が関与することが考えられる。そのため、一つ目の研究として酸化ストレスと遺伝的素因を解明することにより、酸化ストレスの軽減を目指す(図1)。タバコの煙が生体内に入ると、化学物質を代謝する第1相酵素として、cytochrome P450 (CYP) が存在し、第2相酵素の一つとして、GST が存在する。これらの酵素の活性は、遺伝子変異の有無が関連すると考えられている。これまで我々は、GST 遺伝子変異として、GSTM1、GSTT1 に着目した。

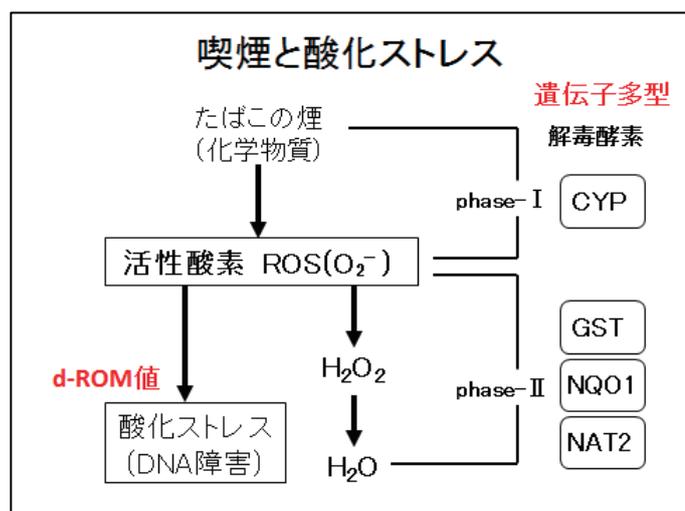


図1 喫煙と酸化ストレス

二つ目の研究として、酸化ストレスに限らず、精神的なものも含め、当人が感じる「ストレス」について、蛋白レベルでのバイオマーカーの探索を行う(図2)。三つ目の研究として、高齢者は加齢に伴い高血圧・動脈硬化性病変を発症する。これらの病変においてもストレスは関与しており、喫煙による遺伝子発現レベルでの影響と、降圧剤の作用について解明を目指す。

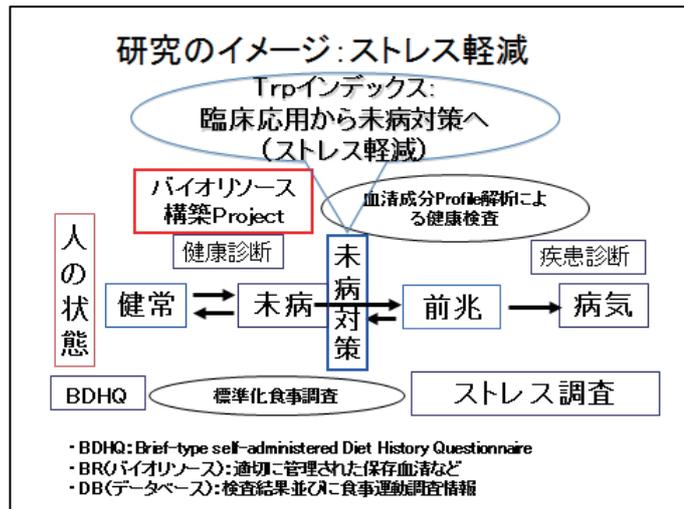


図2 未病のためのストレス軽減

3. 研究の方法

3-1 喫煙と酸化ストレスの関連性

喫煙者44名、非喫煙者38名を対象とし、たばこ中の物質に対する解毒作用のある酵素として、グルタチオンS転移酵素 (Glutathione S-transferase: GST) の遺伝子多型解析と、酸化ストレス値の測定を行った。GSTM1、GSTT1の遺伝子多型は、Multiplex-PCRを行った。調整済みのPCR試薬にGSTM1、GSTT1、β-globinの遺伝子領域をターゲットとしたそれぞれのプライマーを用いた。94°C5分の後、94°C30秒、64°C60秒、72°C60秒を1サイクルとする30サイクル、72°C5分の条件でPCRを行った。アガロースゲル電気泳動により、増幅産物のサイズの違うバンドの有無によって、欠損を判定した。酸化ストレス度測定には、d-ROMテストキットを用いた。まず、血清10μlをpH4.8の酢酸緩衝液の入ったマイクロチューブに入れて混合させた。次に、全量を呈色クロモゲン入りのキュベットに入れて混合した後、キュベットを装置内の専用遠心機にて1分間遠心を行った。遠心後、キュベットを装置内にセットして吸光度測定を行った。

3-2 ストレスと蛋白発現解析

ストレス状態のマウスのモデリングを構築し、二次元電気泳動を用いて、タンパク発現解析を行った。その結果より、ストレス状態において発現が上昇するタンパクに関して質量分析を行った。また、ストレス状態とうつとの関連性を知るために手掛かりとなるインドールアミン酸素添加酵素 (Indoleamine 2, 3-dioxygenase: IDO) に着目し、インターフェロン投与患者において、うつ傾向がみられる群と見られない群における、IDOの活性および関連するタンパク発現について検討を行った。

3-3 動脈硬化における細胞の遺伝子発現について

正常ヒト冠動脈血管内皮細胞を用いて、ニコチンと降圧剤を添加することで変化する遺伝子について、DNAマイクロアレイによる解析を行った。DNAマイクロアレイは、

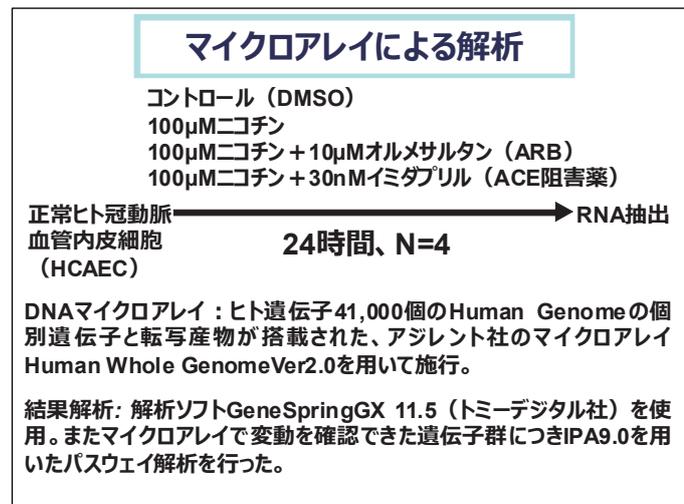


図3 ニコチンにおける血管内皮細胞の遺伝子発現について

の Human Whole Genome Ver2.0 (アジレント社) を用いた。

結果解析には、専用ソフトである Gene Spring GX 11.5 (トミーデジタル社) を使用し、解析で変動を確認した遺伝子群については、IPA 9.0 を用いたパスウェイ解析を行った (図 3)。

4. 研究結果

4-1 喫煙と酸化ストレスの関連性

非喫煙群における性別での d-ROM テストについて、男性が 344.85 ± 34.48 U.CARR であり、女性が 384.08 ± 57.56 U.CARR となり、t 検定における p 値が 0.047 となり有意な差を生じた。そのため、喫煙群の有無による男性のみのデータについて統計解析を行った。喫煙群における d-ROM テストは、 354.93 ± 70.47 U.CARR であり、非喫煙群が 351.56 ± 45.82 U.CARR となり、有意差を生じなかった (図 4)。さらに、遺伝子変異と d-ROM テストについては、喫煙群内で変異の有無による d-ROM 値の比較を行った結果、GSTM1 においては差が見られなかったが、GSTT1 において、若干の差を生じた (図 5)。

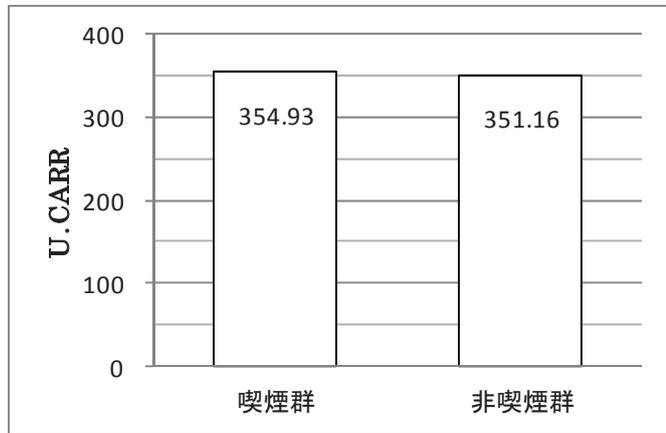


図 4 喫煙群と非喫煙群における d-ROM 値

4-2 ストレスと蛋白発現解析

ストレス解析については、ストレス状態のモデリングを構築できたことにより、さまざまな解析が可能となった。

また、インターフェロンとうつとの関連性について、インターフェロン投与患者において、副作用としてうつ症状のある患者群では、トリプトファン代謝産物の値が高いということが示された。これより、IDO 代謝とうつ症状に対する関連性は強いと考えられる。つまり、ストレス状態が高くなりうつ傾向となる高齢者において、IDO 代謝をバイオマーカーとし、うつ症状の初期段階で対策をとることができる可能性が示唆された。

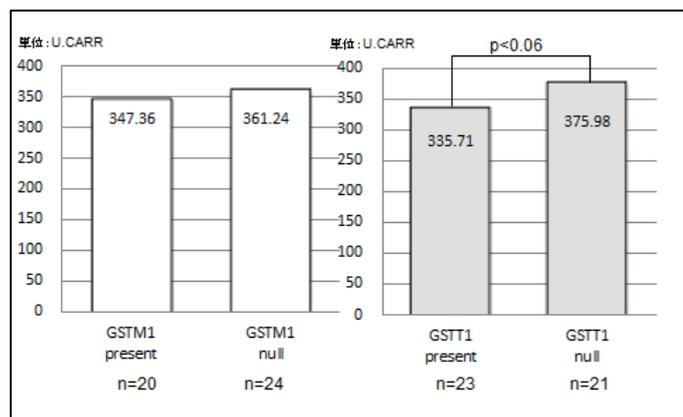


図 5 喫煙群における遺伝子多型と d-ROM 値

4-3 動脈硬化における細胞の遺伝子発現について

ニコチンはヒト冠動脈血管内皮細胞において動脈硬化・細胞増殖を惹起する遺伝子群を誘導する事が明らかとなった。その一方で、ACE 阻害薬や ARB はニコチンの動脈硬化・細胞増殖惹起作用を抑制する可能性が示唆された。

以上から、ACE 阻害薬や ARB は喫煙に伴う動脈硬化性病変に対しても有効である可能性が示唆された。

5. 考察および今後の展望

喫煙における酸化ストレスマーカーとして、d-ROM テストという、新たな手法を用いて検討を行ったが、喫煙との有意差を得ることができなかった。血清または血液細胞から測定できる酸化ストレスの指標の確立も必要であると考えられる。しかし測定が簡便である点を考えると、施設やクリニックでの測定には適している。今回は喫煙におけるストレスであったが、食生活や運動量における酸化ストレス度の測定は十分に可能と考えられた。

現状の課題として、喫煙における酸化ストレスを臨床化学という視点からみると、GST などの代謝酵素には、血中濃度によって酸化ストレスが左右すると考えられるが、酵素活性を血中で捉える必要性がある。また、抗酸化を有する酵素は生体系には多数存在している。そのため、1 つの酵素活性が低下したとしても、他の酵素が補いあうことによって、酸化ストレスの極端化が抑制されている可能性が高いと考えられる。今後、喫煙障害と酸化ストレスに着目した分子機序から解明していくにあたっては、これらの問題を解決していく必要がある。

また、ストレスのバイオマーカー探索として、現段階で使用可能なストレスモデル、今回検討したインターフェロン投与患者においては、ストレスのかなり高い状態である。そのため、実際の高齢者におけるストレスの度合いで、はっきりとした差が出てくるのか、日常的なバイオマーカーとして使用可能かどうかの検討を行う必要がある。

動脈硬化に関する遺伝子群については、培養細胞レベルでの実験では明らかとなっているが、実際に生態系での反応を確かめる必要がある。また、遺伝子群で総合的判断を行う場合には、日常的に行うシステムとは言えず、その中でどの遺伝子に着目するべきか、検討を重ねる必要がある。

5年間を通して、被験者の統一を行った総合的な研究を行う段階には至らなかったが、今後のバイオマーカーの検討はおおよそ完了したと考えられる。今後、高齢者を対象として着目したバイオマーカーが本当に役立つかの検討を予定している。

6. 主な発表論文等

<論文>

1. 船渡忠男・竹田真由 「健康寿命延伸のためのオーダーメイド介護予防ケアシステムに関する文献的考察」. 東北福祉大学研究紀要(2013)37, 291-305
2. 船渡忠男・竹田真由 「高齢者における肺炎球菌ワクチン接種の効果と医療経済評価のエビデンス研究」. 東北福祉大学研究紀要(2012)36, 357-369
3. Sugawara A, Urano A, Matsuda K, Saito-Ito T, Funato T, Saito-Hakoda A, Kudo M, Ito S. 「Effects of PPAR γ agonists against vascular and renal dysfunction」 *Curr Mol Pharmacol*(2012), 248-254
4. 竹田真由、船渡忠男・藤巻慎一・岩谷良則 「オンチップ電気泳動システムによる RNA の品質評価の検討」. *生物物理化学*(2011)55, 1-4
5. 菅原 明・宇留野晃・松田 謙・工藤正孝・伊藤貞嘉, 「PPAR γ と生活習慣病」, *ホルモンと臨床*(2010)58, 59-64

<学会発表>

1. 竹田真由・吉田真美・斉藤邦明・加藤誠司・日裏久英・佐守友博・船渡忠男「GSTA1 の一塩基変異の検出方法(MASPER 法:modified allele specific primer extension reaction)について」第16回日本遺伝子診療学会第16回日本遺伝子診療学会、2009年8月、札幌
2. 竹田真由・船渡忠男「オンチップ電気泳動による RNA サンプルの質的評価について」第60回日本電気泳動学会総会 2009年9月、松本
3. 竹田真由・船渡忠男・齋藤邦明「喫煙による酸化ストレスとグルタチオンS転移酵素遺伝子(GST)多型の関連性について」第17回日本遺伝子診療学会、2010年8月、津
4. 竹田真由・船渡忠男「オンチップ電気泳動による RNA サンプルの質的評価について」第60回日本電気泳動学会総会、2010年9月、札幌
5. 竹田真由・斉藤邦明・船渡忠男「マイクロチップ電気泳動システムを用いた RNA の品質評価」第18回日本遺伝子診療学会、2011年6月、京都

B. 運動分野による予防システム構築—1

研究成果の概要

バランスを構成する運動機能と身体活動量との関連性について高齢者の特性を解析し、バランス機能の維持・向上をはかる効果的な運動プログラム立案を目指した。

高齢者の転倒要因の一つの指標としてあげられている反応時間については、高齢者において反応時間も延長し、かつ反応エラー時の足圧中心の変位も増加が大きく、静止立位時の足圧中心の変位周波数が高く、特に動作初期に著明であることが確認できた。これを元に、平衡機能検査の手法として立位時の重心動揺の周波数分析による、新たな生体指標の有用性を確立した（平成23年2月28日 特願2011-041293）。

前方のバランス制御評価指標であり、日常の臨床にて頻繁に用いられているファンクショナルリーチテスト（以下、FRT）は、高齢者において FRT のリーチ距離と転倒要因との相関が高いことが報告されているが、高齢者では、リーチ動作時に若年者群と比べて母趾圧力が低い事が確認できた。

バランス機能・下肢筋力向上の運動方法として、簡易型3次元モーションキャプチャー機能を装備したゲーム機を用い体感型の運動（ビデオゲーム）を作成し、地域在住の高齢者に実施したところFRT、股関節屈曲、外転、内転、膝伸展、屈曲、足背屈の筋力は有意な向上を認めた。

1. 背景

瞬発性や敏捷性を担う筋力は、筋線維の中でも速筋が関与すると言われ、一般的に高齢者は、その速筋線維の萎縮が顕著であり、また全身持久力のパラメーターである最大酸素摂取量も、20歳代を頂点に徐々に低下し、70歳代では約半分の能力に低下すると言われている。また、様々な形態的变化（骨粗鬆症、変形性関節症、変形性脊椎症）が起きてくる。身体活動レベルを発達段階的に見ると、抗重力肢位の獲得とともに寝返りや坐位、立位が可能となり、歩行という移動手段を獲得する。移動とは、垂直方向にある重心をそれ以外の方向に移し替えることを意味し、様々な外乱刺激を経験するなかで安定した状態となっていく。このことは、「動くこと」、日々の生活の中での身体活動は、生体への外乱刺激であり、活動量を維持・向上させることは、バランス機能の維持・向上につながることを意味する。筋持久力および最大筋力は歩く、階段を上る、椅子から立ち上がるといった日常生活の起居移動動作に影響を及ぼし、高齢者の転倒および大腿骨頸部骨折の一般的な危険因子は、筋力の脆弱性と下肢筋肉の瞬発力の低下、平行機能の低下による。加齢に伴う身体活動レベル、精神機能レベルの個体差は大きく、日常の身体活動レベルを維持し、また、安全で自立的な生活を送るうえでも筋力、全身持久力、平衡機能等へのアプローチは重要な課題である。

2. 研究の目的

加齢により生じる身体機能・精神機能の低下は、それまでに獲得したパフォーマンスの更なる低下を引き起こす。高齢者にとり介護予防・日常生活活動の自立は目標であり、転倒を予防することは重要となる。器質的に大きな問題がないにもかかわらず寝たきりとなり易い虚弱老人と、相反して活動的な生活を送る高齢者もいる。身体機能の個人差が大きい高齢者に対し、個々の能力に応じた運動処方を行い、安全で効果的に行われなければならない。個人により、その能力の差が大きい高齢者に対し、運動能力に応じた個別性のある運動プログラムを構築するため様々な年代、運動能力の違いをふまえ運動動作解析を行い、活動量を維持し寝たきり防止策を、体力レベルを考慮した個別的なプログ

ラム立案につなげることを目的とした。

3. 研究方法

1. 運動機能解析

各種の生体情報を同期させ、同じ時間軸上で分析が可能である事は、生体の特性をとらえる上で重要となる。今回、重心動揺、動作解析、筋力を同期させ、可搬式でコンパクトな今回のシステムとし、バランスを構成する運動機能について各年代で、静的バランス機能（開眼閉眼時での立位・開眼時での片脚立位）の測定と動的バランスとして自己誘導型の外乱刺激を加えた動作（歩行・タイムアップアンドゴーテスト・その場足踏み）、外部誘導型の外乱刺激を加えた動作（FRT）時の重心動揺や筋電図、動作解析と、下肢のROM、下肢の筋力の計測を感性福祉研究所の動作解析室で、特に3次元動作解析装置Cortex（Motion Analysis社製）を用い計測した。

このデータから、可搬型運動解析装置〔重心動揺計FDM-S（Zebris社製）やデジタルカメラによる3次元動作解析装置Kine Analyzer（キッセイコムテック製）〕を用い現場での計測のため利便性の高い計測手法や計測項目の最適化を行った。

2. 体感型ゲーム

Kinectは、被写体を映すだけで人からKinectまでの距離を図り、その人の大きさや骨格のさまざまな動きを検出し、ゲーム中のキャラクターとプレイヤーの動きを合成して操作する事ができる。X-boxとKinectを用い上肢運動ならびにバランス・下肢筋力強化を目的とした運動プログラム作成し、これを用い、ゲームを週に3回程度、全実施回数24回、約2～3ヶ月間を継続的に行なった。

4. 研究結果

1. 時間周波数解析によるCOPの周波数変化を検討

高齢者は若年者よりCOP（Center of Pressure）のX軸周波数が高く、特に計測開始後10秒間で差があった。

高齢者はX軸開眼時、閉眼時ともはじめの10秒は若年者より高周波で、その後低周波化した。若年者は腓腹筋、前脛骨筋等の制御系が大きく働き、視覚の依存が高いが、高齢者は腓腹筋、前脛骨筋等の制御系の依存度が低かった。

2. 運動習慣のある健常高齢者の足圧中心の変化と下肢筋活動

運動習慣を持つ健常高齢者を被験者として、足圧中心と3軸加速度計を用い平衡機能（静的バランス）状態とその際の下肢の筋活動を計測した。一般に加齢と共に身体の揺れが大きくなるとされるが、今回の被験者のCOPの揺れはすくなく日常生活での活動が影響していることが確認できた。

3. 高齢者の立位時の母趾圧

高齢者で、開眼時・閉眼時ともに若年者に比べ母趾圧が高かった。

4. 高齢者のステップタスク時の反応エラー

反応時間は高齢者で、若年者に比べ有意に低下していた。また、COGの加速度はX、Y、Z軸方向共

に差が生じなかったが、COP では側方・前後ともに高齢者で若年者に比べ大きかった。

5. 高齢者の前方リーチ動作時の母趾圧力

リーチ距離では高齢者群が若年者群に比べ有意に短く、動作時の角度変化では、股関節において高齢者群が有意に大きかったが、足関節において若年者群との間に有意な差は認められなかった。両上肢拳上位・最大リーチ位の各肢位における母趾圧力では、最大リーチ位にて高齢者群が有意に小さくなった。

6. ビデオゲームを用いた高齢者の運動機能の変化

足圧中心総軌跡長は変化しなかった。Functional reach test (FRT) は、介入後に有意に増大した。股関節屈曲筋力、股関節外転筋力・内転筋力、膝関節伸展筋力・屈曲筋力、足関節背屈筋力は介入後に増加した。

5. 考察

加齢とともに生じる筋肉量の減少は誰にでも起こるが、一定以下まで筋肉量が低下すると、日常生活活動の制限や転倒リスクが増加する。活動量の低下は筋量のみならず、運動制御系の神経系機能や運動を維持するための呼吸・循環・代謝系機能の低下をも引き起こす。筋の量と質を維持するためには有酸素性あるいはレジスタンストレーニングが有効であるが、高齢者の多くはちょっとした段差や床面の変化に対応できず、バランスを崩しよろけたりつまずいたり、運動への不安感から低活動状態が引き起こされる「負の循環」を引き起こす事が示唆される。高齢者の場合、生活の中で『動く』こと自体が生体への外乱刺激となり、活動量の維持・向上やバランス機能に影響するとされている。

加齢に伴う人の姿勢制御システムの機能が低下すると、直立姿勢時の重心動揺に影響を及ぼし、これは神経系だけではなく、下肢筋力の低下にもその一因があり、高齢者の転倒原因などと密接な関係がある。立位時の重心動揺、足圧、筋電図を同期し、分析する事で筋・神経などの生体機能や視覚、聴覚、皮膚からの諸情報を統合して調節されている姿勢保持能力を評価する事が出来る。運動習慣を持つ健康高齢者を被験者として、足圧中心と腰部、頭部に3軸加速度計を装着し、平衡機能（静的バランス）状態とその際の下肢の筋活動を計測した。一般に加齢と共に身体の揺れが大きくなるとされるが、今回の被験者の COP (Center of Pressure) の変位量は、同年代の平均よりも少なく、日常生活での活動量の多さが影響しているものと推察できた。若年者と高齢者で足圧中心 (COP) の総軌跡長の周波数解析より新たな評価指針として、周波数解析の有用性が示唆された。

外乱刺激や、自己の体重心を可能な限り支持基底面内で動かす、またその際の反応速度や、出力としての動作分析の一つとして立位における前方へのリーチ動作 (FRT) では、前足部への荷重が増大し足趾での支持が重要であり、高齢者群はリーチ動作時に若年者群と比べて母趾圧力を高めることができず、股関節の屈曲角度を増大させて動作を遂行しており、高齢者が足関節の運動よりも股関節の動きを伴う戦略を用いている。

刺激に対する反応時間は、早い動作を要求される種目の選手で全身反応時間が短いと報告されており、中高年以上の場合、日常行動の敏捷性と高い相関が認められている。敏捷性の低下は、とっさの時に危険回避行動の遅れとなり、つまずき時や車中の揺れなどに対するバランス反応の低下を招く。高齢者において FRT のリーチ距離と転倒要因との相関が高いことが報告されており、アドヒアランス

を高め、運動効果を高めるには、楽しく、達成感がある事、身体機能面からは反応性、可動性、持久性をふくむ運動内容である事がのぞましい。今回の X-box Kinect を用いたビデオゲームは、運動実施者の動きを 3次元で表現出来、ゲーム中のキャラクターと被験者の動きが同期し操作できる仕様で、ゲームの操作のために被験者は全身を使い、また、規定時間内でゲームをクリアするという目標を持たせることでアドヒアランスは高まったと考える。

ビデオゲームのコンテンツには、体重心を移動させる上肢の運動、片脚立位保持による下肢筋力強化を行う内容で運動を実施した。自身の動きによりゲームが進むという事で達成感もあり実際に身体を動かす事で、普段の限られた範囲でしか使われていない運動範囲を拡大させ、高齢者の運動機能改善をはかることができた。このビデオゲームを用いた運動により、股関節の屈曲筋力向上が認められた。股関節屈筋筋力の向上は、遊脚初期の下肢振り出しモーメントが向上し、クリアランスの向上が期待でき、股関節の屈曲筋力や足関節背屈筋力は、高齢者の転倒予防に関する Key muscle と言われている事から、長期的に実施する事で転倒予防の効果も期待できるものと考えられる。

6. 今後の研究の進め方

高齢者における骨粗鬆症や転倒の原因となる平衡機能低下の危険因子を軽減させるには運動療法の介入が有用であり、本研究の一連の結果をもとに予防ケアシステムとしてビデオゲームを用いた運動プログラムの開発を行い実施したが、運動強度設定の個別性にまでは至らなかった。

運動耐容能の分析をおこない、個別性の高い安全な運動処方について検討する。

7. 主な発表論文等

<論文>

1. 黒木薫、佐藤啓壮、齋木しゅう子. 住環境の違いが高齢者の母趾機能に及ぼす影響 ～離島在住高齢者と都市部在住高齢者の比較～ 老年医学会投稿予定
2. 佐藤啓壮、黒木薫、齋木しゅう子. 体感型ビデオゲームを用いた高齢者運動介入効果の検討（仮題；投稿予定）

<学会発表>

1. Keizo Sato, Kaoru Kuroki, Syuko Saiki, Atsushi Yoshimura, Review of a new method of exercise instruction for the elderly employing a video game using Kinect, JAPAN-KOREA 1st JOINT CONFERENCE, Nagasaki, November, 2012
2. 佐藤啓壮、黒木薫、齋木しゅう子. 高齢者のステップタスク時の反応エラーに対する運動学的検討. 第47回日本理学療法学会大会、神戸、2012年 6月
3. 黒木薫、佐藤啓壮、齋木しゅう子. 高齢者の前方リーチ動作時の母趾圧力の特徴. 第47回日本理学療法学会大会、神戸、2012年 6月
4. 黒木薫、佐藤啓壮、齋木しゅう子. 高齢者における両脚立脚時の母趾圧の特徴. 第66回体力医学会大会、山口、2011年 9月
5. Keizo Sato, Syuko Saiki, Ryoichi Nagatomi. Comparison of ground reaction force characteristics of nordic walking instructors and elderly persons during nordic walking and walking. European College of Sport Science, Liverpool, UK, July, 2011

6. 黒木薫、佐藤啓壮、齋木しゅう子. 立位姿勢における母趾圧が内側縦アーチに及ぼす影響、第15回宮城県理学療法学会大会、宮城、2011年1月
7. 黒木薫、佐藤啓壮、齋木しゅう子. 両脚・片脚立位時における足趾圧力の特徴、第65回体力医学会大会、千葉、2010年9月
8. 佐藤啓壮、黒木薫、五十嵐守、齋木しゅう子. 時間周波数解析による高齢者静止立位時の足圧中心スペクトルの特徴. 第46回日本理学療法学会大会、宮崎、2011年5月.

C. 運動分野による予防システム構築—2

1. 研究開始当初の背景

高齢化社会において高齢者の病気に対する健康不安が重要な課題となっている。加齢に伴う疾患としては、肥満・糖尿病・脳血管障害（脳卒中）などの血管における動脈硬化症、精神科学に関連する認知症、骨量の低下する骨粗鬆症などがある。したがって、本プロジェクトでは、高齢者および高齢者に関連する疾患患者を対象として、老化（エイジング）に関するメカニズムを画像レベルで解明していき、これら疾患の原因・病態に基づく予防法および慢性化・進行化の予防法として、個別的な、オーダーメイドのプログラムシステムの確立を目指した研究を行うものである。特に、高齢者における寝たきりとなる危険因子を回避することに重点をおき、高齢者が健康で自立した生活を送る上での身体機能・精神機能の維持と予防および、関連疾患患者においては慢性化予防に着眼した研究を中心に推進する。

2. 研究の目的

本グループにおいては、運動分野による予防システム構築を目的とし、老化（エイジング）に関するメカニズムの解明を目指す。さらに、これら疾患の原因・病態に基づく予防法および慢性化・進行化の予防法として、オーダーメイドのプログラムシステムの確立を目指した研究を行うものである。本研究の目的は、健常者の肩関節を非侵襲的なMRIを用いて、鳥口下接触現象を引き起こすと考えられる肢位で、肩甲骨鳥口突起と上腕骨前方との距離を測定し、その距離が最短となる肢位を検証することである。

3. 研究の方法

被験者は、肩関節周囲の痛みや既往歴のない健常ボランティア4名とした。全例男性を対象とし、年齢は28-53歳（平均39歳）であった。右肩を研究対象とした。本研究は、東北大学医学部臨床研究倫理審査委員会による承認を受け、それぞれの被験者に研究内容を十分に説明し、書面による同意を

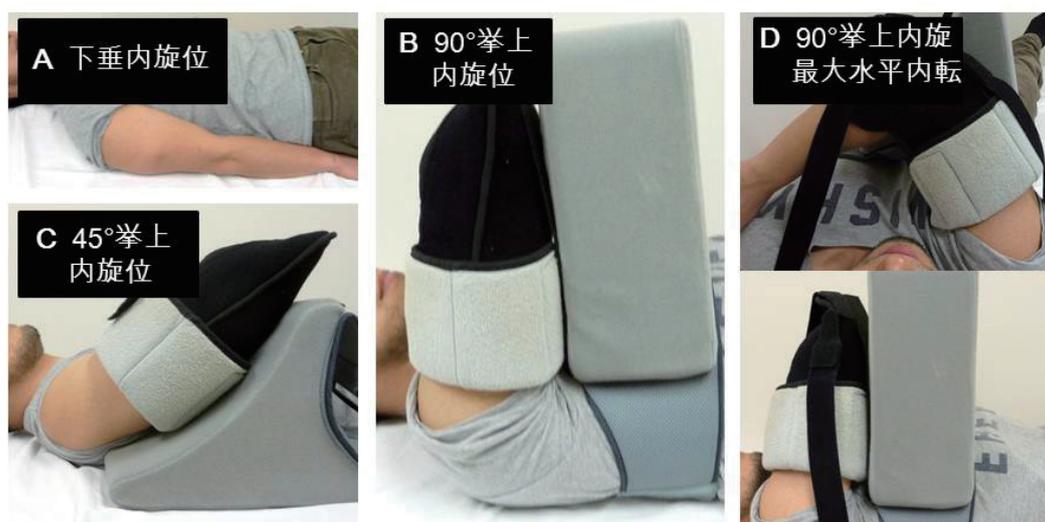


図1 被験者のMRI撮像肢位

撮像肢位は、肩関節内旋位を維持した状態で、(A)下垂位、(B)45°挙上位、(C)90°挙上位、(D)90°挙上かつ最大水平内転位の4つの肢位で行った。

得た上で実施した。

本研究は大きく5つの過程に分けられる。3次元MRI撮像による画像データの収集、segmentation法による3次元表面モデルの作成、voxel-based registration法による移動情報の解析、肩甲上腕関節の動態解析、烏口突起—上腕骨間距離の計測。これらの作業はすべて同一の研究者によって行われた。

本研究において、MRI撮像はMAGNETOMを用いて行った。撮像条件は、3D-FLASH法 (TR: 12 ms、TE: 5.8 ms、0.8 mm-slice thickness、Flip angle: 20°、FOV: 240×240mm²、450×512 matrix) を用いた。撮像肢位は、肩関節内旋位を維持した状態で、挙上0°、45°、90°、90°かつ最大水平内転位の4つの肢位で行った(図1)。上肢は装具を用いて固定し、挙上角度は角度計を用いて確認した。MRI撮像により得られた画像データ(DICOMデータ)を、大阪大学で共同開発されたソフトウェア、Virtual Place M(株式会社AZE、東京都)を使用してコンピュータに取り込んだ(図2)。このソフトウェアは、DICOMデータの閲覧にのみ使用されるだけでなく、後述するsegmentation、voxel-based registrationの機能を有する。ここで挙げたsegmentationとは、得られた画像データから対象となる関心領域を抽出することである。本研究では、挙上0°での上腕骨と肩甲骨を、各被験者の画像データからそれぞれ抽出した。続いて抽出された上腕骨近位部と肩甲骨の画像データから、marching cubes algorithm (Virtual Place Mに採用されているプログラム)によって上腕骨近位部と肩甲骨の3次元表面モデルを作成した。

今回、4つの肢位から得られたデータより、voxel-based registrationの手法を用いて、各肢位間の3次元移動情報を算出した。この手法により、本研究では挙上0°における上腕骨と肩甲骨の抽出データを他の肢位の画像データに重ね合わせることで、その移動情報を算出した。



図2 本研究で用いた画像解析ソフト

本研究では、大阪大学で共同開発されたソフトウェア、Virtual Place M(株式会社AZE、東京都)を使用した。

本研究では、肩甲下筋腱の付着部を想定した小結節膨隆部を5点、近位端から遠位端までを等間隔に決めた。また、上腕骨頭中心を測定し、小結節上の各点と骨頭中心を結んだ直線より、烏口突起と接する点を求め、各点-烏口突起上の点の距離を、烏口突起と小結節との距離として、CHDを想定して求めた(図3)。各症例で、4つの肢位でそれぞれ5点からの距離を求め、最短距離となる肢位およびその距離を調査した(図4)。

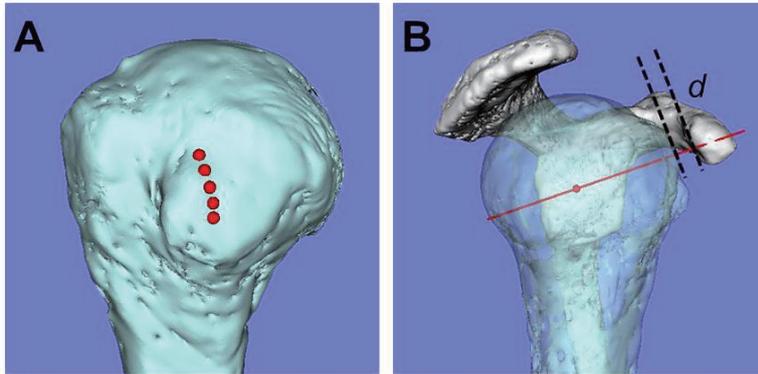


図3 本研究における烏口突起-小結節間距離の測定 肩甲下筋腱の付着部を想定した小結節膨隆部を5点、近位端から遠位端までを等間隔に決めた(A)。続いて、上腕骨頭中心を測定し、小結節上の各点と骨頭中心を結んだ直線より、烏口突起と接する点を求め、各点-烏口突起上の点の距離を、烏口突起と小結節との距離として求めた(B)。

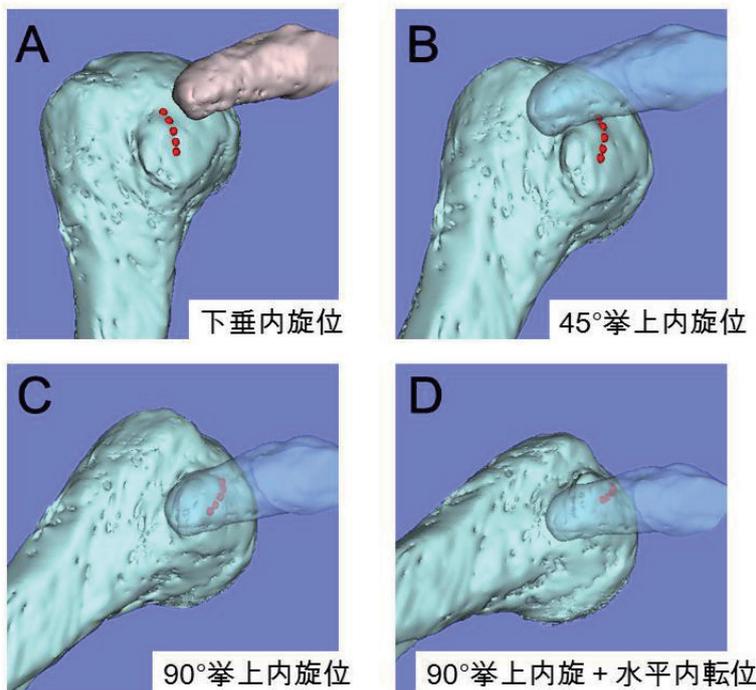


図4 症例2における4つの肢位での烏口突起と小結節の位置関係

AからCへ挙上角度が大きくなるにつれ、小結節が烏口突起下に入り込むのが確認できる。さらに、Dのように水平内転を加えることにより、小結節はより内側上方に進むのが分かる。

4. 研究結果

4例全例で解析を行うことができた。いずれの症例においても、下垂位でCHDが最短距離を示しておらず、1例では45° 挙上内旋位、1例では90° 挙上内旋位、2例では90° 挙上内旋かつ最大水平内転位において最短となっていた。CHDが10 mm以下を示したのは4例中2例であった(図5)。

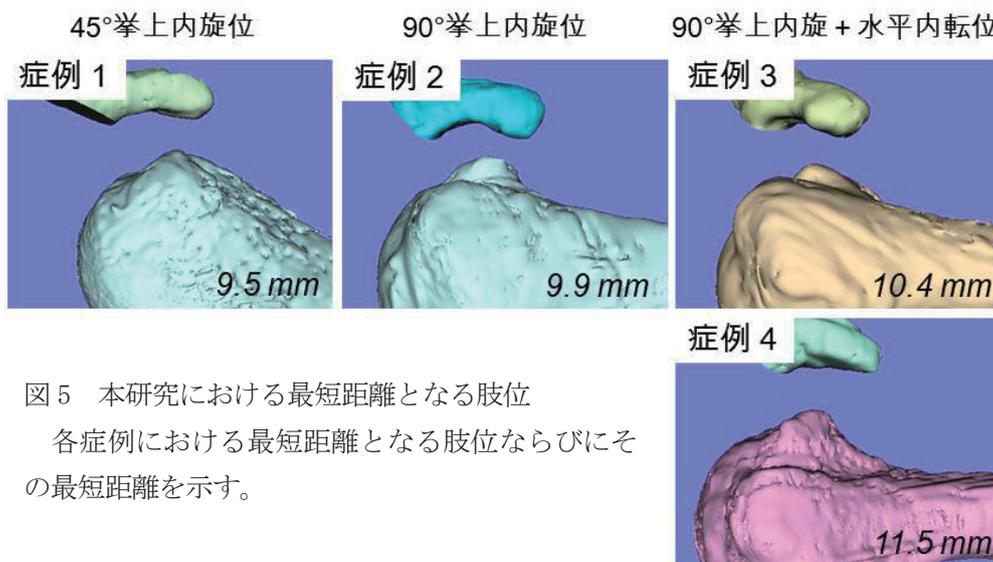


図5 本研究における最短距離となる肢位
各症例における最短距離となる肢位ならびにその最短距離を示す。

5. 考察および今後の展望

烏口下インピンジメント症候群は、肩痛を生じうる病態として近年注目されている。Goldthwait (1909) により、烏口突起と肩甲下筋腱などの腱板前方成分との接触についてはじめて報告され、肩痛などの病態を生じる可能性が指摘された。本症に関していまだ不明な点が多いものの、1990年代より肩関節前方の痛みを引き起こしうる稀な病態として徐々に理解されるようになってきた。症状を引き起こす原因として、烏口突起と小結節の間で肩甲下筋腱や上腕二頭筋長頭腱が圧迫を受けることによると考えられている。

一方、烏口下インピンジメント症候群の診断に関する報告は少なく、近年では Modified Hawkins-Kennedy Sign などの誘発検査の有用性が指摘されている。また、画像所見に関する報告については、coracohumeral distance (以下、CHD) を用いる場合が多い。Giaroli らは、MRI を用いた CHD の測定で 10.5 mm 以下の場合には本症との関連性があり、その感度、特異度はそれぞれ 79%、59%と報告している。しなしながら、画像検査については肩関節下垂位で評価されたものが多く、本症を動的に評価した報告は少ない。Gerber らは、下垂位および挙上位で CT を行った結果、挙上位では烏口突起が上腕骨に近接することを明らかにしている。したがって、様々な肢位で評価する必要があり、とくに誘発肢位での CHD の評価は重要であると考えられる。我々は、健常者の肩関節を非侵襲的な MRI を用いて評価し、烏口下接触現象を引き起こすと考えられる肢位で撮像された画像より肩甲骨烏口突起と上腕骨前方との距離を解析し、その距離が最短となる肢位を調査した。

結果として、4例全例で下垂位では最短距離を示しておらず、うち2例では誘発肢位である肩関節挙上、内旋、水平内転で最短距離を示していたことから、この肢位で症状が見られやすいことに反映した結果であると考えられた。一方で、最短でも 9 mm 以上みられたことから、軟部組織における炎症などの状態により強く影響を受けることが示唆される。

先端的脳機能イメージング研究グループ

磁気共鳴法における新たな研究手法を用いた 先端的脳機能イメージング

グループ代表者氏名： 坪川 宏（東北福祉大学）

共同研究者： 小川 誠二（東北福祉大学） 亀井 裕孟（東北福祉大学）

成 烈完（東北福祉大学）

岡野 和宣（National Chiao Tung University）

増原 宏（National Chiao Tung University）

杉山 輝樹（Instrument Technology Research Center）

江口 直美（ソムノクエスト株式会社）

研究協力者： 山本絵里子（東京大学）

先端的脳機能イメージング研究グループ

磁気共鳴法における新たな研究手法を用いた先端的脳機能イメージング

坪川宏 小川誠二 亀井裕孟 成烈完 岡野和宣
増原宏 杉山輝樹 江口直美 山本絵里子

機能的 MRI (fMRI) は脳機能を研究してゆく上で有効な手法であるが、現在広く使われている MRI の空間分解能は約 3-5 mm³、時間分解能は秒単位であることから、主に脳の機能部位を同定するために用いられてきた。今後、脳の情報処理メカニズムをシステムレベルで解明し、認知症に代表される高齢者関連脳疾患や各種精神疾患の予防・ケア研究に寄与するためには、1 mm³以下の細かい機能的サブ構造を知ること、数十から数百ミリ秒の時間情報が必要である。これらを実現するために、既存の MRI 測定方法で刺激パラダイムを考案する方向、測定方法を考案する方向の二本立てで開発を進めた。また、被験者への侵襲をより少なくするために、安全性の高い低磁場での MR 測定技術の開発を行ってきた。さらに、脳の細胞レベルで何が起きているのかを MR 信号から読み取るために、脳内で毛細血管周囲を取り囲んでいるグリア細胞 (アストロサイト)、ニューロン、血管上皮細胞の 3 者による相互作用のメカニズムを明らかにする研究を行った。

1. 従来型 MRI 測定における新規刺激パラダイムの開発

二つの同じ視覚刺激を短い時間間隔で呈示 (paired stimulus paradigm) すると、二回目の刺激による信号に抑制が見られるが、刺激提示間隔が長くなると回復する。これは、二つの信号が同じ神経組織に入力されるためと考えられる。この現象を用い、組み合わせ刺激に応答する fMRI 信号を解析することで、数十ミリ秒～数百ミリ秒の時間情報を得ることができ、特定の機能部野の内部構造を推定することも可能となる。高次視覚野を対象に時間情報と内部構造を調べた。

顔の処理において中心的な役割をする脳の部位として、Occipital Face Area (OFA) と Fusiform Face Area (FFA) が知られている。これらの部野は、片視野の刺激呈示によって脳の両半球が活動を示す。もし左視野からの信号と右視野からの信号が OFA または FFA の同一神経組織に入力されれば、同じ刺激を左から右視野へと短い時間間隔で呈示することにより信号の抑制が見られる可能性がある。そこで、時間間隔 (ISI) を 66 ミリ秒、132 ミリ秒、264 ミリ秒、528 ミリ秒として OFA と FFA での fMRI 信号を調べた。視覚刺激は図 1 のように提示した。

図 1 で M は男性、F は女性の写真を表す。S は一つの刺激 (シングル) 呈示、W は ISI を挟んで二つ (ペア) の刺激呈示を表す。L は左の視野、R は右視野への刺激呈示を表す。C はコントロールとして十字だけが視野の中央に呈示されている期間 (12 秒)、T はタスクとして顔写真が左右の視野に呈示されている期間 (12 秒) を表す。写真の呈示時間は 33 ミリ秒である。視線を視野の中央に固定するために、コントロールの間、被験者は十字の色の変化に合わせてボタンを押した。タスクの間は十字の色の変化にさらに写真の性別の区別も行った。刺激に対する第一視覚野 (V1) と OFA、FFA の各機能部野での脳活動が図 2 のように得られた。

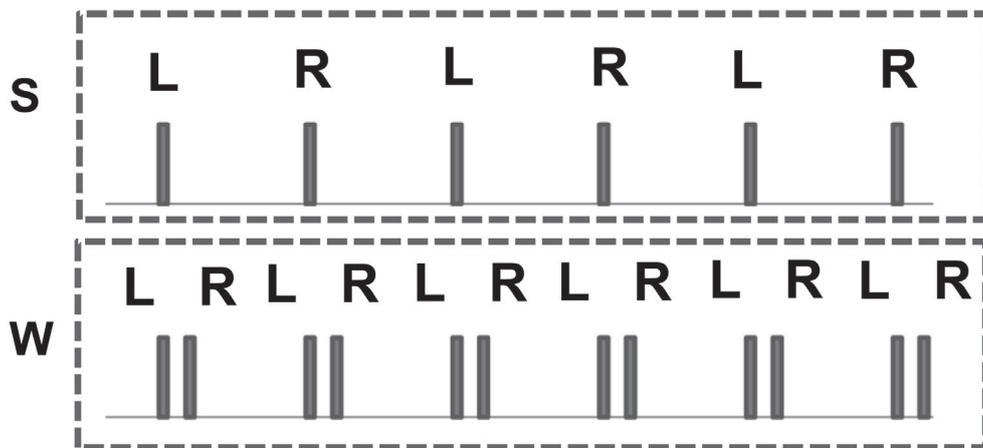
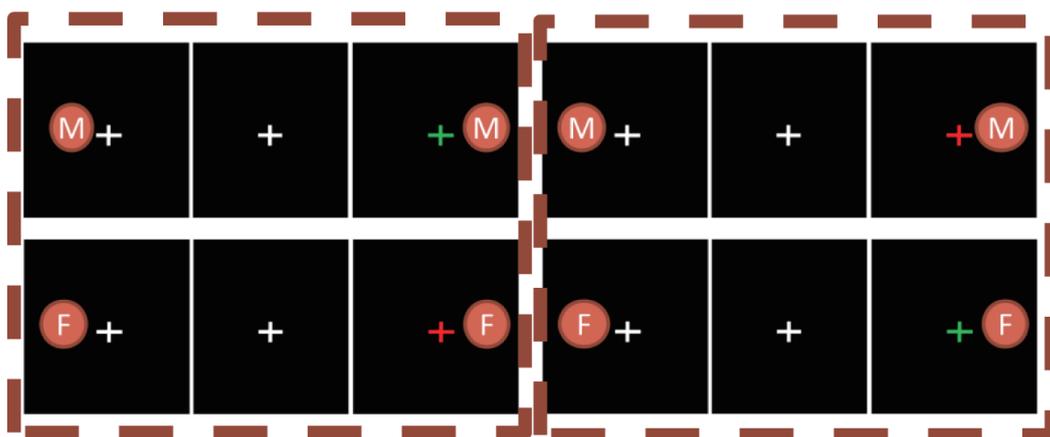


図 1

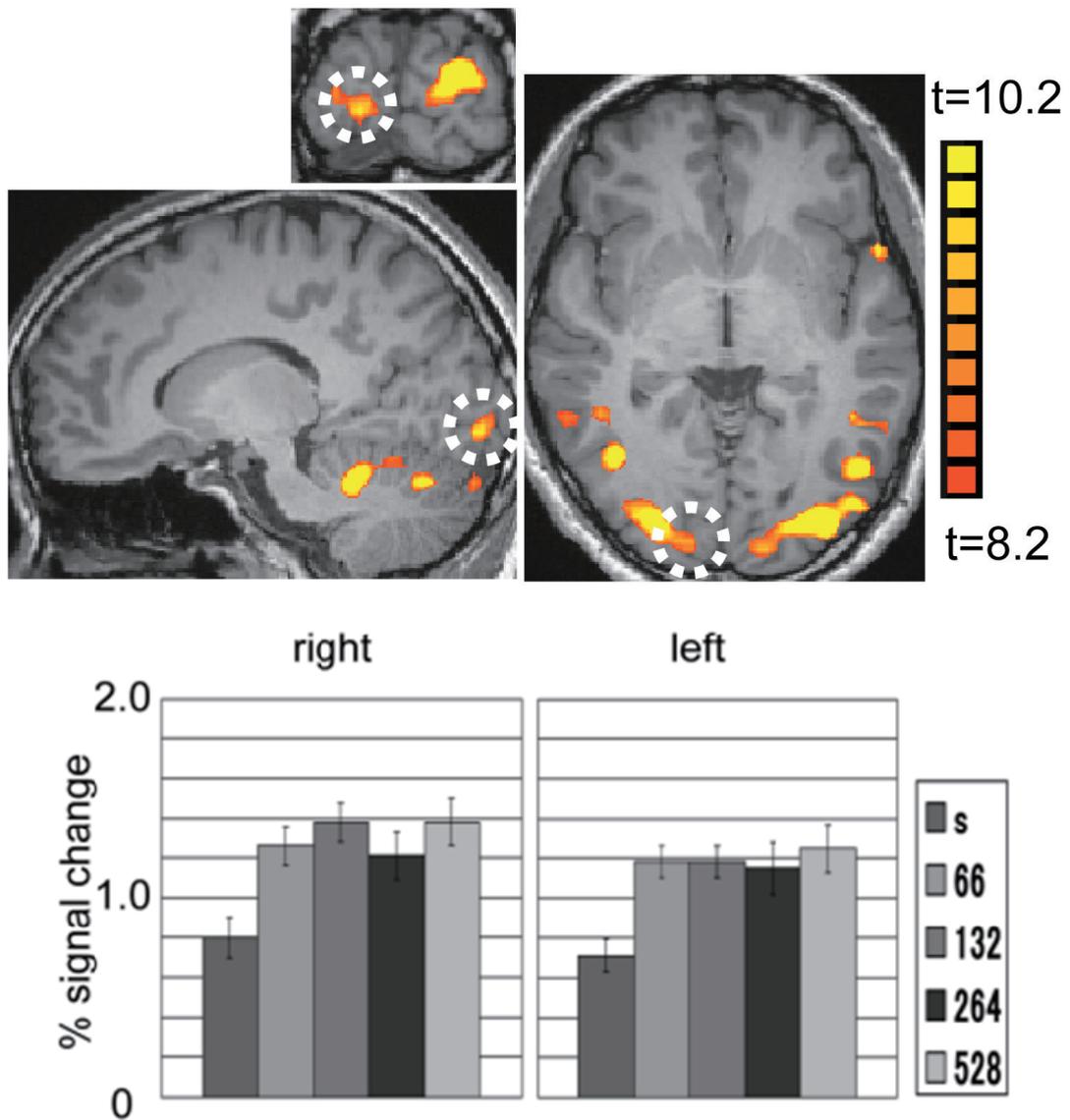


図 2

図 2 で白い点線に囲まれている活動部位は右の V1 である。図 2 でのグラフが示すように V1 ではペアー刺激の方がシングル刺激よりペアー刺激の間隔に係わらず大きかった。これはペアーの二つの刺激が視野の互いに異なる位置に与えられたためである。

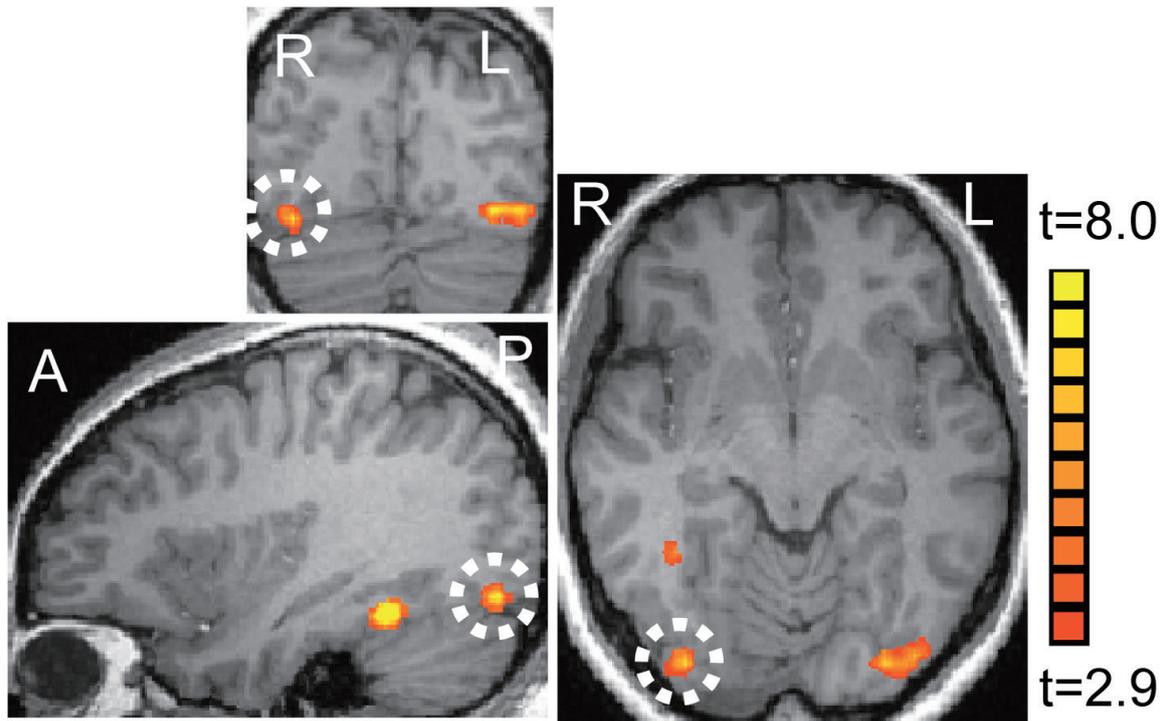


図 3

図 3 で白い点線に囲まれた活動部位は OFA である。図 3 のグラフではシングル刺激の信号が ISI264 ミリ秒までのペアー刺激の信号に比べて大きいものの抑制があることを示している。しかし、ISI528 ミリ秒の信号は他のペアー刺激の信号より大きく、抑制がほとんど回復していることを表している。また、左と右の活動のパターンはほぼ同じである。これらは、ペアーでの二つの刺激が視野には互いに異なる位置に与えられたが、OFA では一定部分受容野が重なっている可能性があることを意味する。また、ISI528 ミリ秒での抑制の回復は、第一回目の信号の処理がおよそその時間帯で終わることを意味する。

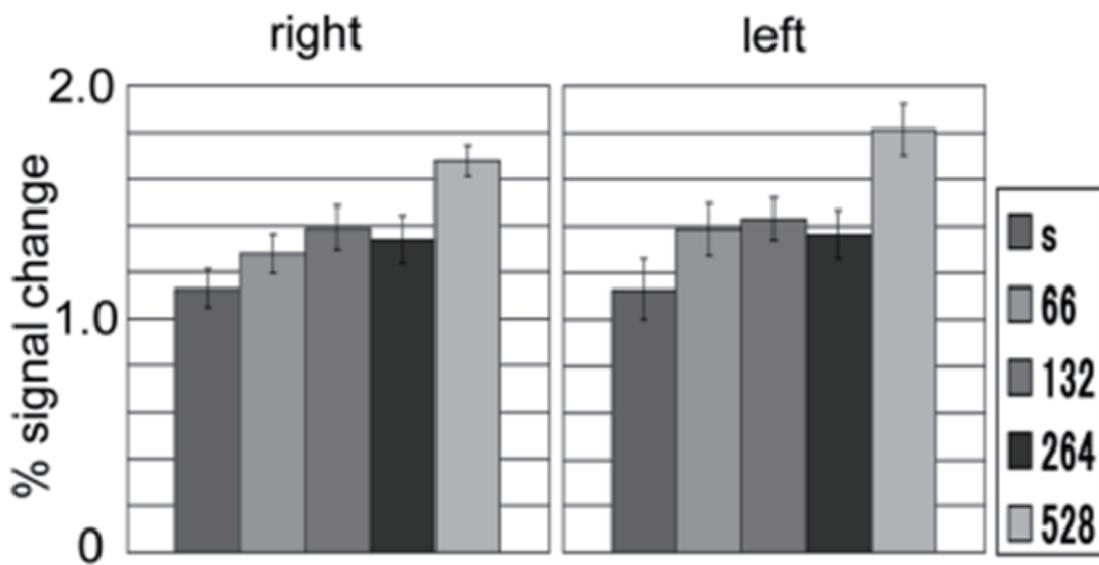
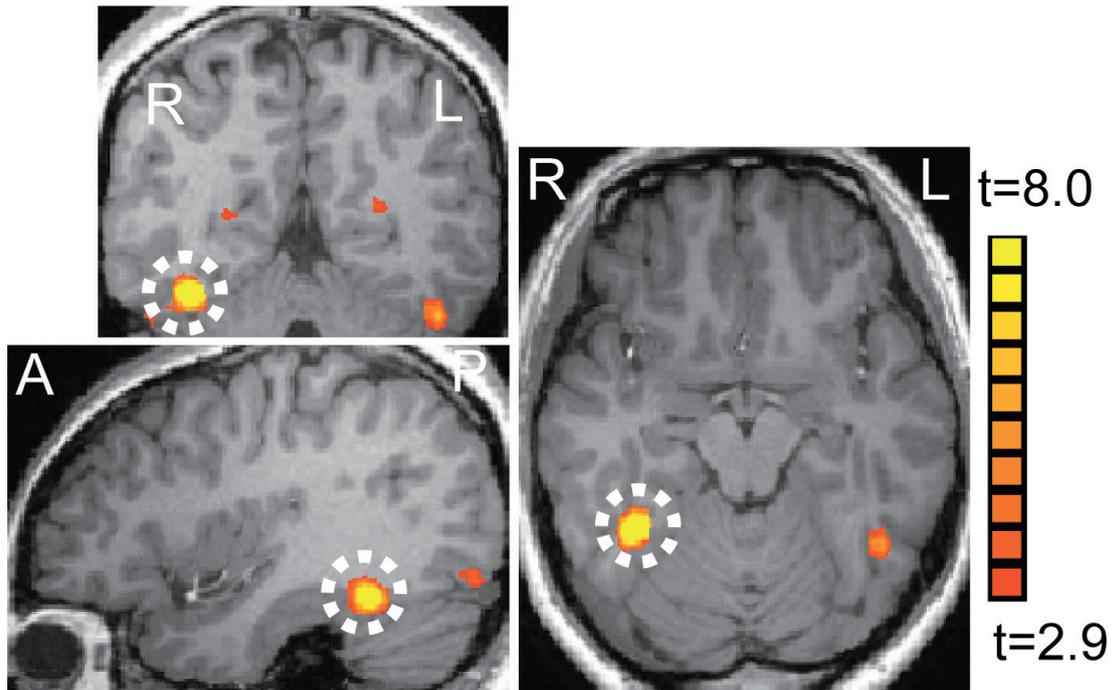


図 4

図 4 で白い点線に囲まれている活動部位は FFA である。FFA では ISI264 ミリ秒までのペアー刺激に対する信号にさらに抑制があり、シングル刺激の信号と有意な違いがないことを示す。また、ISI528 ミリ秒の刺激に対してもすこし抑制が見られている。ここでの信号の抑制パターンは小川ら (Ogawa et al., PNAS2000) が報告した、同じチェッカー刺激を 200 ミリ秒の ISI を挟んでペアーで呈示した時の V1 での応答パターンと似ている。これは、視野では異なる位置に呈示された二つの刺激が FFA ではほぼ同じところにあるように受容されていることを意味する。

これらの結果から、OFA と FFA で信号を処理するのに要する時間が少なくとも約 200 ミリ秒はかか

ることが分かった。また、OFA と FFA では内部構造が部分的に異なることも分かった。

ペアー刺激を利用した別の実験で脳の左右半球の機能的な違いと左右半球間の信号の伝達について調べた。この実験では二つの同じ刺激と異なる刺激を片視野だけに 132 ミリ秒で呈示した。

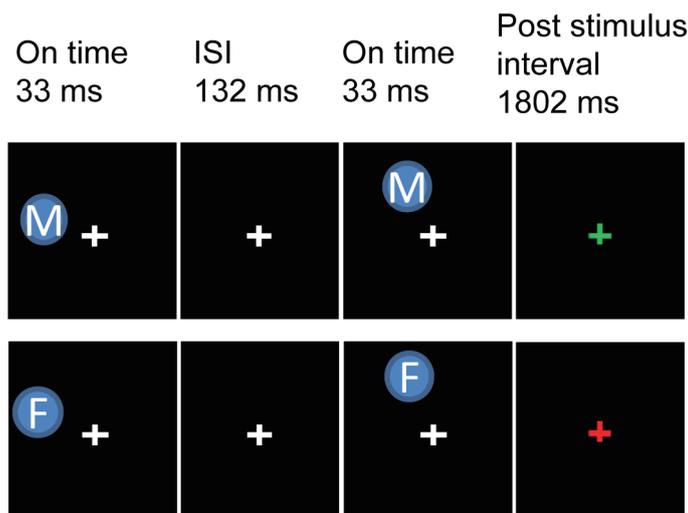
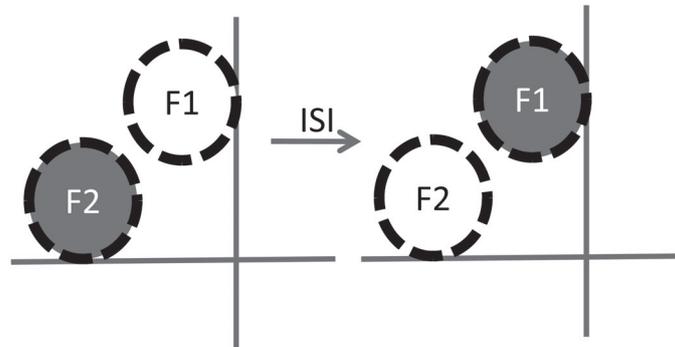


図 5

ここでは二つの刺激が同じ位置に呈示されることを避けるための工夫をした。二つの刺激が視野の同じ位置に呈示されると V1 から活動の抑制があるのでそれを避けるためである。

図 5 で、F1、F2 は顔写真の刺激が現れる視野の位置を現している。刺激の呈示方法は例えば F2 が先に現れて刺激時間間隔 ISI (132 ミリ秒) 後に F1 が現れる。または、F1 が先で、F2 が後のもあり、呈示の順番はランダムにした。刺激は、シングル (S) とペアー刺激で、ペアー刺激では、二つの写真が同じもの (SW) と違うもの (DW) を用いた。M は男性の顔写真で F は女性の顔写真を表す。視野の中央に十字を呈示した。タスク期間 (18 秒) では、2 秒間隔で刺激が呈示された。また、その間、被験者には十字の色の変化と写真の性別をダブルチェックさせることにより視野を中央に固定させながら横視野に呈示される写真を見るようにした。また、刺激を左視野に呈示した時と右視野に呈示した時のこれらの刺激に対する応答を比較した。

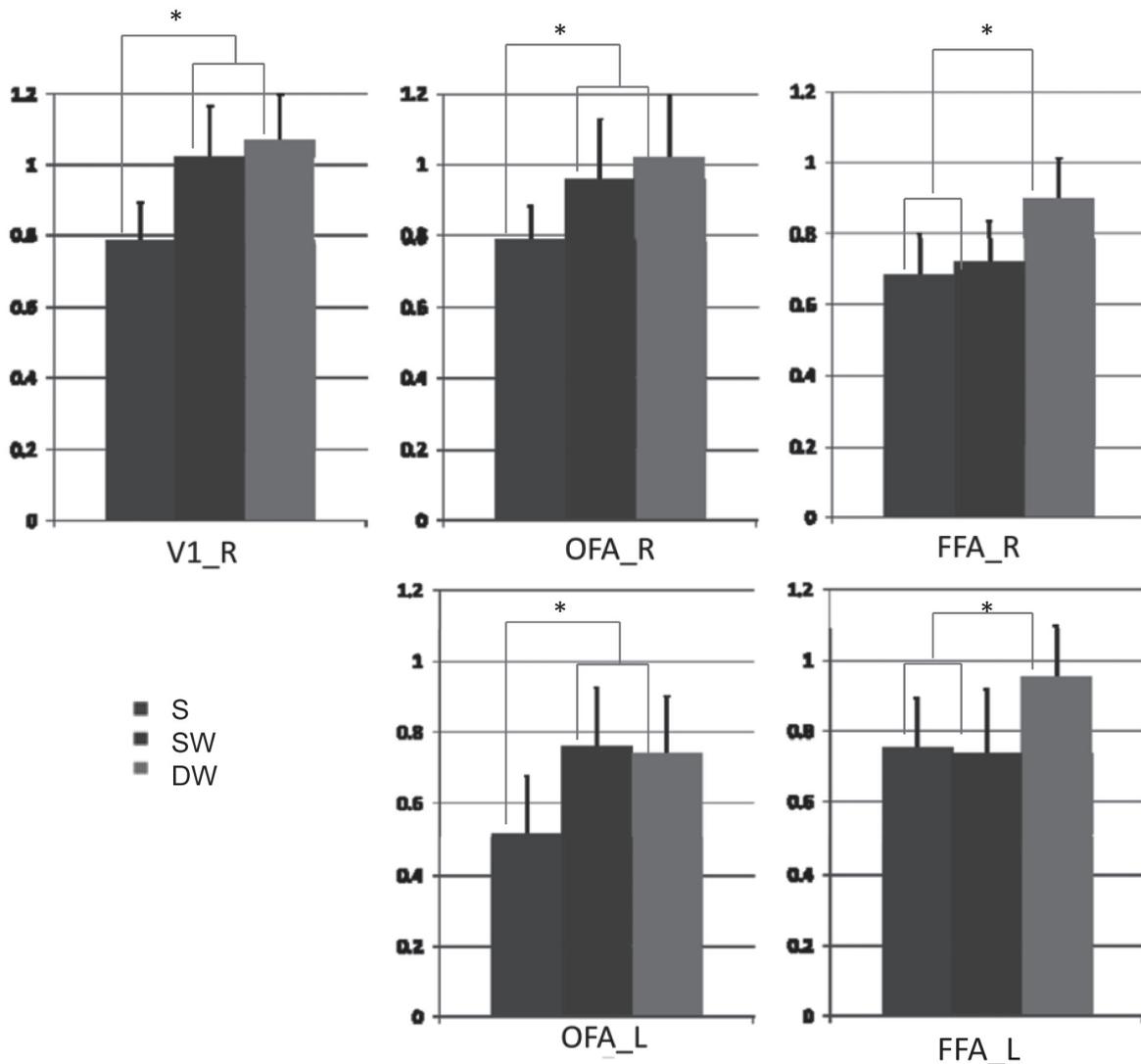


図6

図6は左視野に刺激を呈示した時のV1、OFAとFFAでの応答を現している。左脳のV1で信号がないのは、V1では、反対側の視野刺激にのみ活動が見られるためである。刺激間隔ISIが132ミリ秒と短い、V1とOFAではシングルとペアーの違いを区別していた。しかし、FFAではSとSWとの応答の違いはなく、DWとだけ違いがあることが分かる。これは、OFAではペアー刺激の二つの写真が同じか違うかについての区別をしているのではなく、内容と関係なく刺激が物理的に一つか二つかについての区別をしていることを意味する。しかし、FFAでは、物理的に二つの刺激であっても内容が同じであれば一つと同じものとして処理しており、二つの写真の内容、つまり、同じか違うかの基準をもとに区別をしていることが分かる。

さらに、このデータは、顔の異同に関する特徴抽出は132ミリ秒と短い時間でもできることも示している。

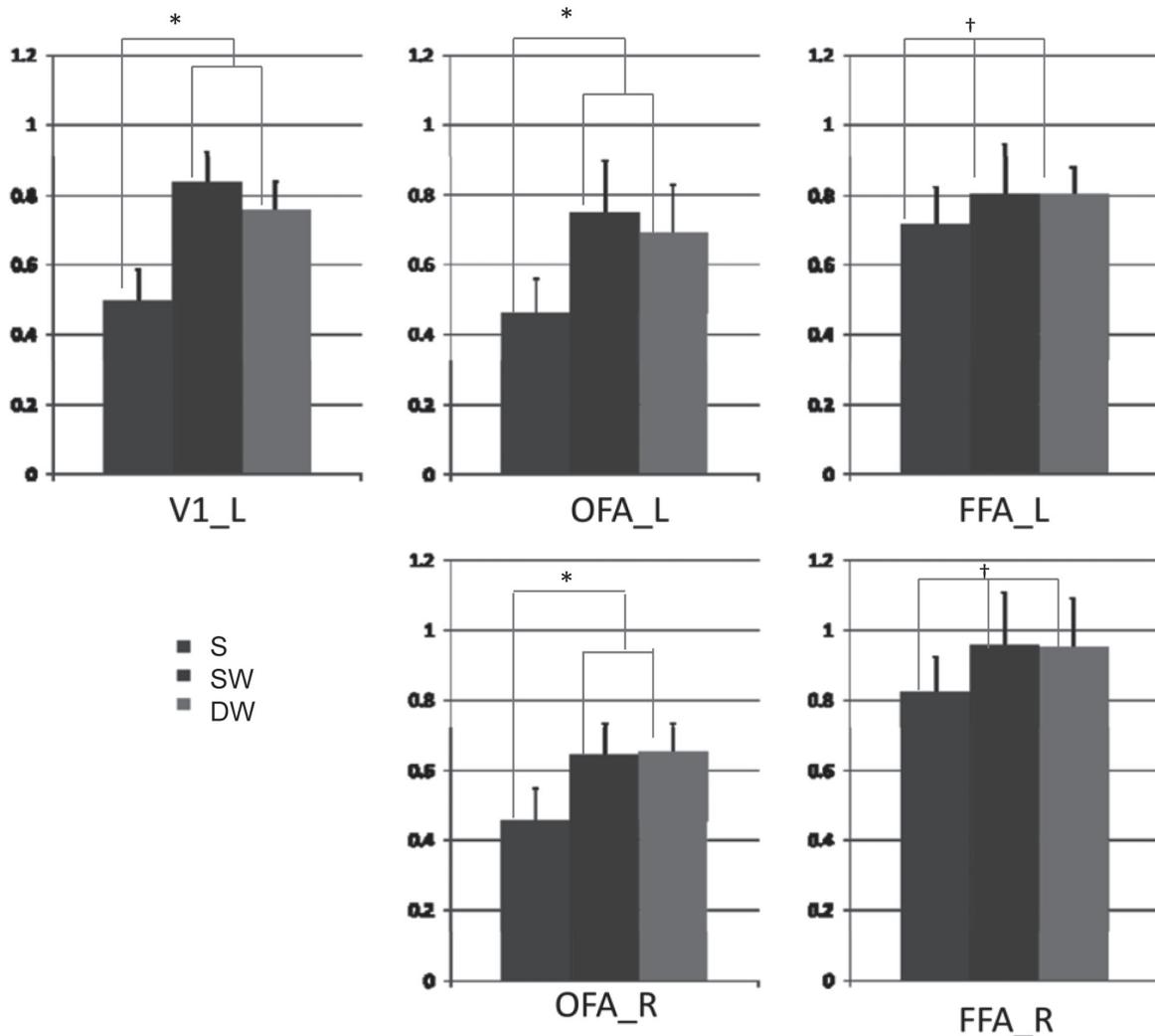


図 7

図 7 から刺激が右視野に呈示された場合、V1 と OFA では左視野に呈示された時と同様な活動が観測され、物理的に一つか二つかについての区別はなされていることが分かる。たが、FFA では違う結果が見られた。FFA では S、SW そして DW でも信号の抑制がみられ、FFA でも、二つの写真の違いを区別してないことが分かる。これは、右視野に刺激が短い時間間隔で呈示された場合はその二つの写真の違いが区別できない事を意味する。このように左視野と右視野に呈示した時の違いが両側で起きていることから、顔の異同に関連する情報の処理において右脳の優位が示唆された。また、大脳半球間の信号の伝達において、情報のフィルタリングが行われており、それが、少なくとも、OFA までには行われていることが推測される。

これと関連して、高磁場 MRI (7T) を利用して、空間的高分解度のデータを得、FFA で左右の視野に特異的に活動する神経組織があることと、その組織での活動は半球特異的な特徴を含んでいることも確認した。

これらの実験は、paired stimulus paradigm を使うことによって、fMRI の物理的な時・空間分解能を超える脳活動の信号計測が可能であることを示す。

さらに脳の機能野同士のネットワークを調べるために、最近、注目されている安静時（resting state）の脳機能部野間の connectivity について、先天的な聴覚障害を持っている被験者を対象に実験を行った。被験者が左利きであるので、対照被験者としては、ノーマルの左利き 2 名と右利き 2 名のデータとの比較を行った。聴覚障害被験者に対しては脳活動の再現性を確認するために 1 年の間隔をおいて 2 回 MRI 測定を行い、ノーマル被験者に対しては各々 1 回の測定を行った。まず、刺激を呈示しながら測定を行った後 resting state での測定を行った。



図 8

図 8 は刺激として使った顔、建物、口の形、かな文字を現している。顔写真と建物の写真は非言語刺激で、口の形とかな文字は言語刺激として用いた。MRI 測定時には安静期間（18 秒）とタスク期間（16 秒）を各刺激について 2 回ずつ繰り返した。タスク期間で 1.5 秒の呈示 ON 時間と 0.5 秒の OFF 時間で写真 6 枚を視野の中央に呈示した。また、その間、被験者に呈示された写真を比較させた（one-back task）。安静期間では視野の中央に十字を呈示した。

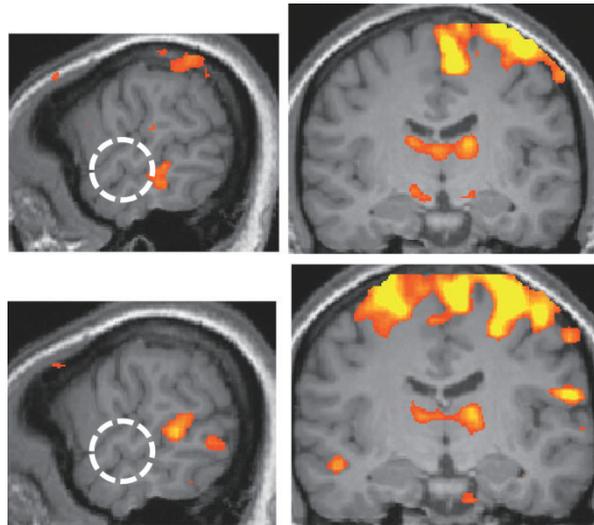


図 9

図 9 は左利き被験者の活動マップである。白い点線に囲まれているのは聴覚野に相当する部位である。聴覚野に刺激に対する活動がないことが分かる。右利き、左利き被験者ともに聴覚野での活動は見られなかった。

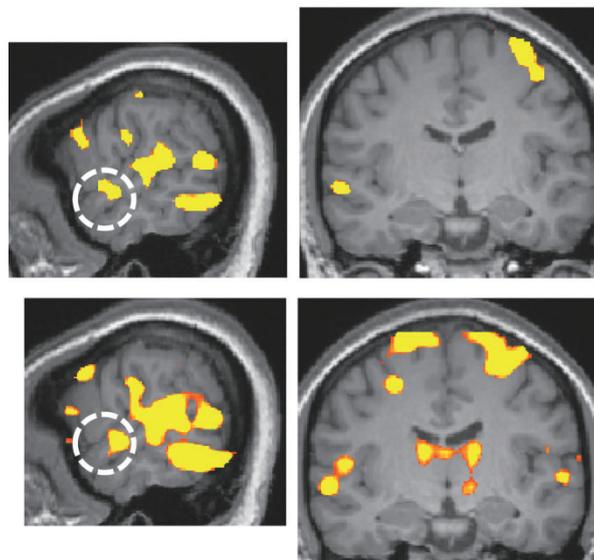


図 10

図 10 は聴覚障害者の刺激に対する脳活動マップである。下のパネルのマップは上のパネルのマップより 1 年後のものである。1 年のインターバルを持って測ったにも関わらず活動マップはかなり似ていることが分かる。また、この活動マップが示すように、同様な刺激で聴覚障害者の聴覚野では活動が見られた。

聴覚障害者の場合、視覚情報を脳の聴覚関連部位で使用することが予想され、言語刺激と非言語刺激に分けて言語刺激に対してより活動が大きい部位を探した。

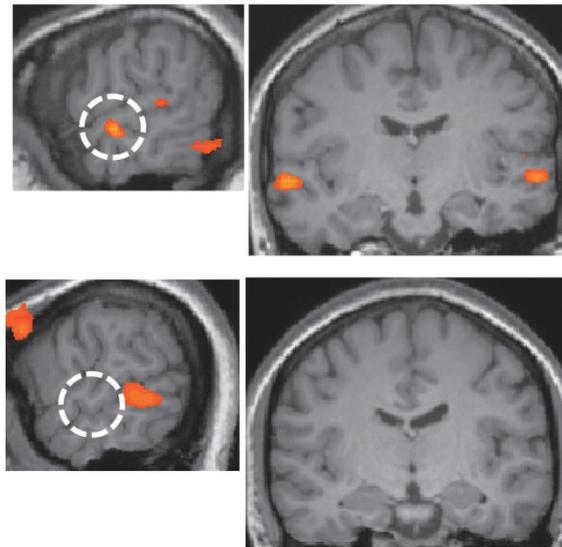


図 11

図 11 の上が聴覚障害者の言語刺激優位な活動部位を現し、下がノーマルの左利き被験者の言語刺激優位なところを表している。白い点線で囲まれているところが聴覚野に相当する部位であり、聴覚障害被験者でだけ活動が見られている。活動しているところは、第2聴覚野に相当する部位である。これによって、先天的な聴覚障害で音による言語入力がない場合に聴覚野が視覚言語処理のために使われていることが分かった。

次に、視覚言語入力が視覚情報処理経路のどの部分から聴覚野へ入力されるかを調べるために、第2聴覚野での活動部位をシードとして、resting state でのデータを用いて相関がある部位を探した。

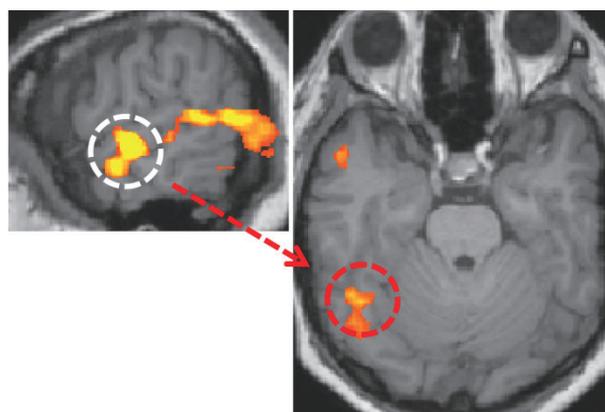


図 12

図 12 は、第2聴覚野での活動部位と有意に相関を示した部位が右側の Fusiform gyrus であることを表す。視覚情報はV1から腹側視覚経路上に沿って処理されることが知られているが、Fusiform gyrus

ではより高次の処理を行っていることも知られている。これによって、聴覚野への信号の入力は視覚情報として処理が行われた後からであることが分かった。また、これは、聴覚障害者の視覚野と聴覚野間での神経回路の構築が変わっていることをも示唆する。

2. MRI 測定方法の開発

(1) Fast signal の検出

通常の fMRI (BOLD) 信号は応答時間が数秒なので、神経活動に伴う応答のより速い信号を検出する方法を試みた。通常の MRI 実験では 1-3 秒の繰り返し測定時間 (TR) を使用するが、速い信号を検出するために、ここでは、50 ミリ秒の TR を使って測定を行った。TR が短いため、測定する画像は一枚だけにした。刺激時間とその間の安静時間は各々 200 ミリ秒にした。刺激は顔写真と椅子などのオブジェクト写真を使った。刺激周期が短いため、測定される信号には、BOLD 信号が反映されないと想定した。また、信号雑音比が小さいこと、そして、短い life-time を持つ神経活動の信号は voxel ごとに振る舞いが異なることをも予想して、分析方法としては Multivariate analysis (SVM) を採用した。

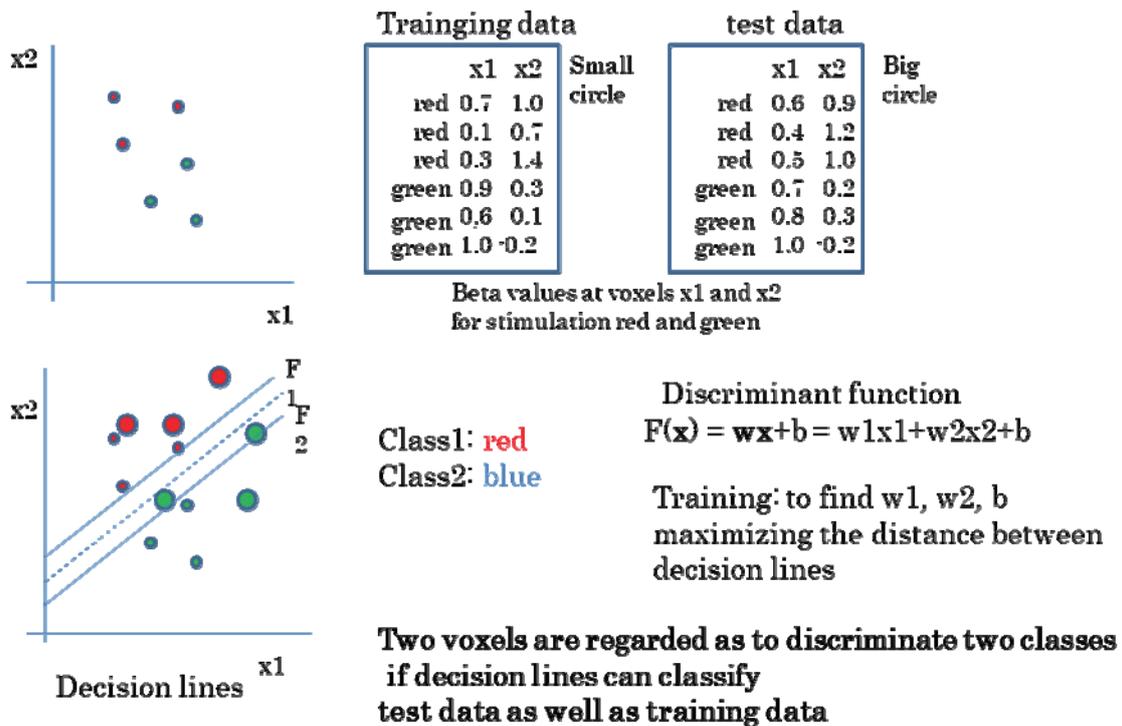


図 13

図 13 は SVM の説明である。二つの刺激による信号が赤と緑の場合、ある特定の活動部位での信号から赤と緑の違いが見分けることの出来るような関数を求めることができれば、その部位では、その刺激の違いを区別していることになる。

実験のデータ分析では、顔写真のデータを赤、オブジェクト写真のデータを青にして、MRI データに SVM を用いて解析を行った。

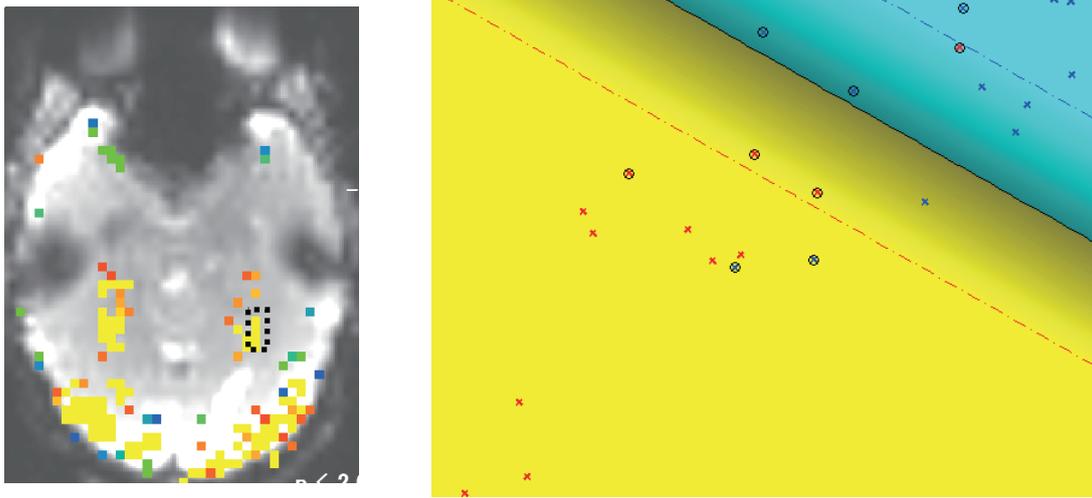


図 14

図 14 の左の図で黒い点線に囲まれている部位はParahippocampal Place Area (PPA) であり、建物などのオブジェクト刺激を処理している部位として知られている。この部位でのデータを SVM で分析した結果が右の図である。赤と青とが判定線により分かれ、PPA で、顔とオブジェクトの区別、つまりカテゴリの区別が出来ていることが分かった (accuracy 77%)。この MRI 実験では安静時間が 200 ミリ秒であるので、信号として分析に寄与したものは信号の life-time が 200 ミリ秒までのものが主であると考えられる。

(2) Fast imaging 方法

Fast signal を検出する測定において、速い信号を計測するために TR を短くすることによって脳の測定範囲がかなり狭くなる問題があり、それを解決するためには、短い時間に 3 次元の画像データを取る必要がある。MRI 測定を速くするためには、MRI システムの物理的な制限などの問題もあり、ここでは、一部の測定データから残りの部分のデータを推定する方法 (Inverse Imaging) を使った。この方法の概念はすでに他の研究グループ (Lin et al. 2008) からも提案されているが、独自で MRI 測定シーケンスと処理アルゴリズムを開発した。

図 15 では 2 次元画像の例をあげている。Fig. 1 は Image space で、Fig. 3 は K-space を表す。Array コイルを使って、MRI データを測定する時に、通常は、左の Fig. 1 の画像を得るためには K-space でのデータを全てサンプリングして Image space の画像を得る。ここでは、測定時間を短くするために、K-space で center-line のデータだけを実測して他のラインのデータを推定する方法を表している。K-space で計測した center-line のデータから Fourier 変換した実測データ y から全てのデータから得られる画像データを推定することは、係数行列 W を求めることになる。この測定法と推定方法により、約 10 ミリ秒で 2 次元画像を得ることが出来た。また、同様な方法を使って 3 次元の脳全体画像を 50 ミリ秒まで測定することが出来た。

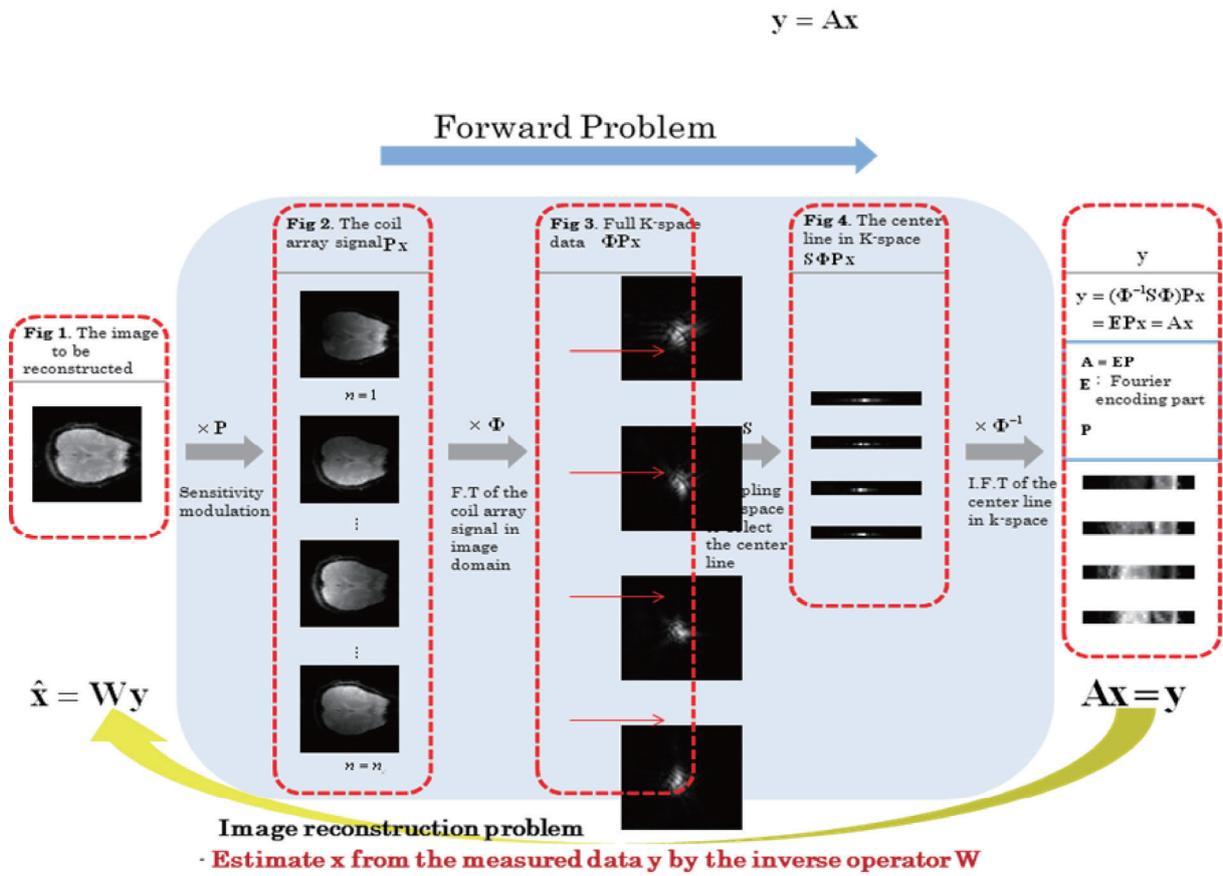


図 15



図 16

テスト実験では視覚刺激を呈示しながら測定を行った。画像の厚みは1ミリメートルで、64枚の画像 slice を TR62 ミリ秒で測定し、全脳を計測出来た。実験では、開発した測定シーケンスにより計測された fMRI 信号と通常の長い TR (1-3 秒) で測定した信号を比較して、開発した測定シーケンスを検証した。刺激としては、通常の fMRI 実験で用いる Block design を採用した。刺激の呈示は 10 秒間で 20 秒間は安静にした。図 16 はその時の脳活動のマップを現している。図中の緑の線に囲まれている部分は視覚野に相当する部位であり、通常の fMRI で見るような機能マップが新しい測定法でも観測された。このような fast imaging によって、2次元で行われた fast signal の検索が3次元でも行われれば、信号の検出がさらに容易になることが期待できる。

(3) Partial volume effect の検出

高磁場 MRI (7T) により、空間分解能が 1 立方ミリメートルぐらいまで測定できるようになってはいっても神経細胞の大きさに比べるとまだ大きい。Partial volume effect を利用して、voxel 内の神経回路などの微小構造変化または機能変化を検出するための MRI 測定シーケンスを開発した。

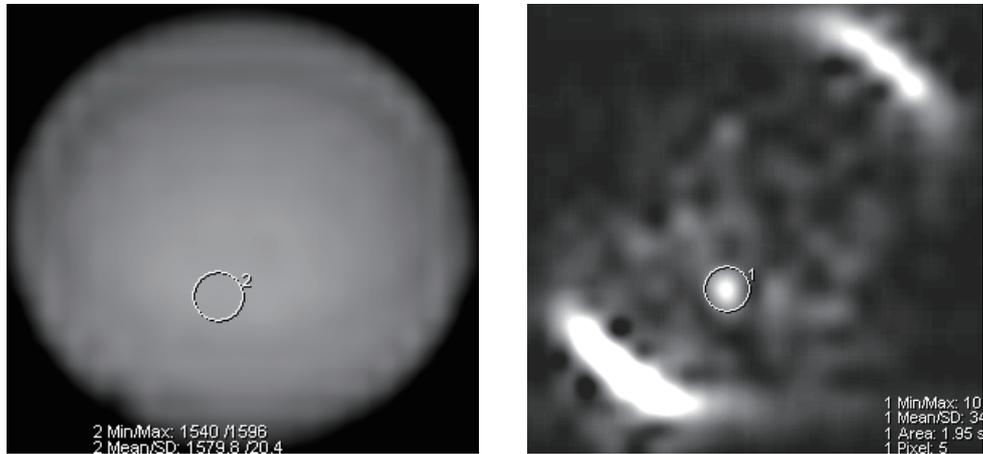


図 17

新しいシーケンスでは voxel 内均一な信号を減らすための磁場を加えた。

実験では、ファントムに小さいビーズを入れて通常の EPI シーケンスと新しいシーケンスでの画像の比較を行った。図 17 の左の図は通常の EPI 測定で、右の図が新しいシーケンスによるイメージである。新しいシーケンスによる画像では partial volume effect が強調されてビーズによる影響が検出されていることが分かる。

3. 超低磁場 MRI の技術開発

安全性が高いだけでなく、神経電流分布の可視化などが期待される技術として超低磁場（数十～数百 μT ）MRI がある。NMR の信号検出感度は原理的には磁束密度の 2 乗に比例するので、超低磁場 MRI の観測には高度な検出技術が要求される。まず、回転座標系 NMR 信号、すなわち過渡的章動運動及び回転エコー信号の縦磁化検出を試み、サーチコイルを用いて高感度で検出することに成功した。

さらに、電流による NMR 信号の変化を高感度で検出することにも成功した。

次にこの信号検出技術を、地磁気（約 50 μT ）を観測磁場とする超低磁場 NMR へ展開させた。分極磁場発生と信号検出には、同一のコイルをスイッチング回路を通して切り替えて使用した。生体組織に近い導電率と縦緩和時間をもつ試料について信号を観測することができた。

図 18 の上の図は低磁場 MRI システムの回路であり、下の図は水のプロトンの NMR 信号である。ここでは、分極磁場として 10 mT を用いた。

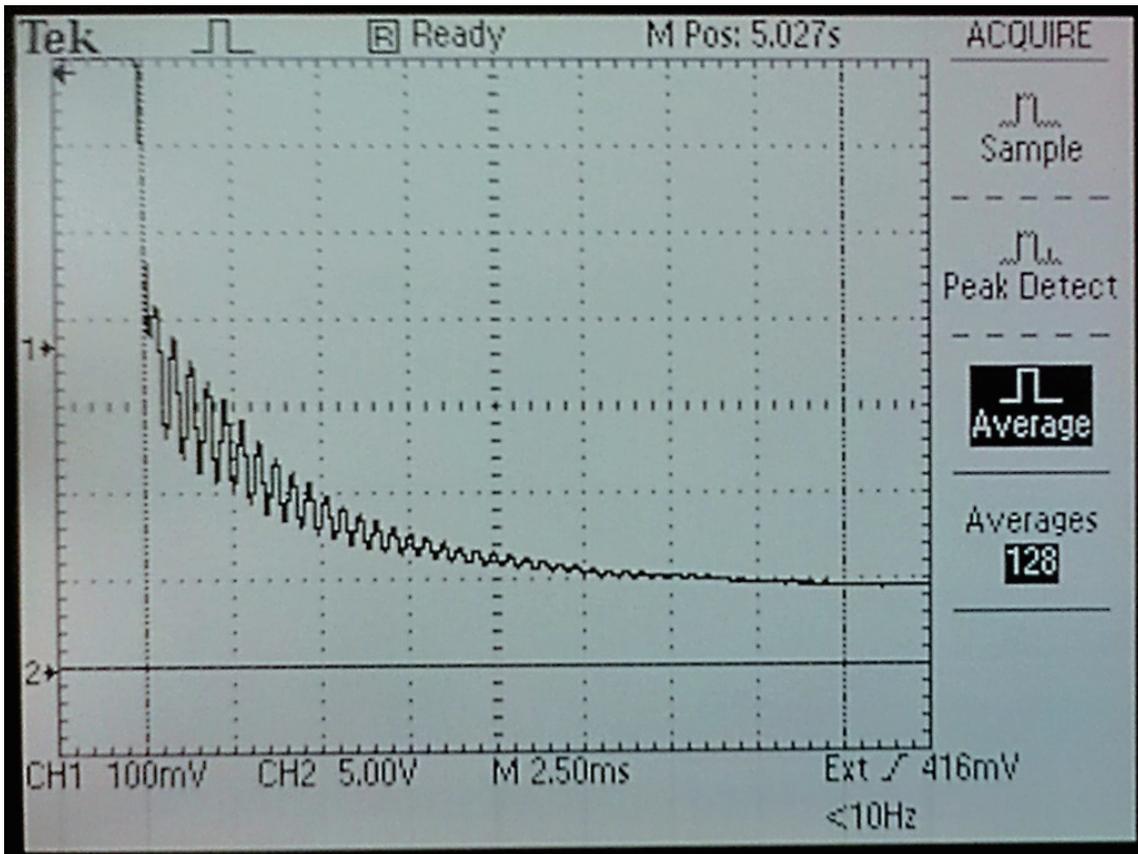
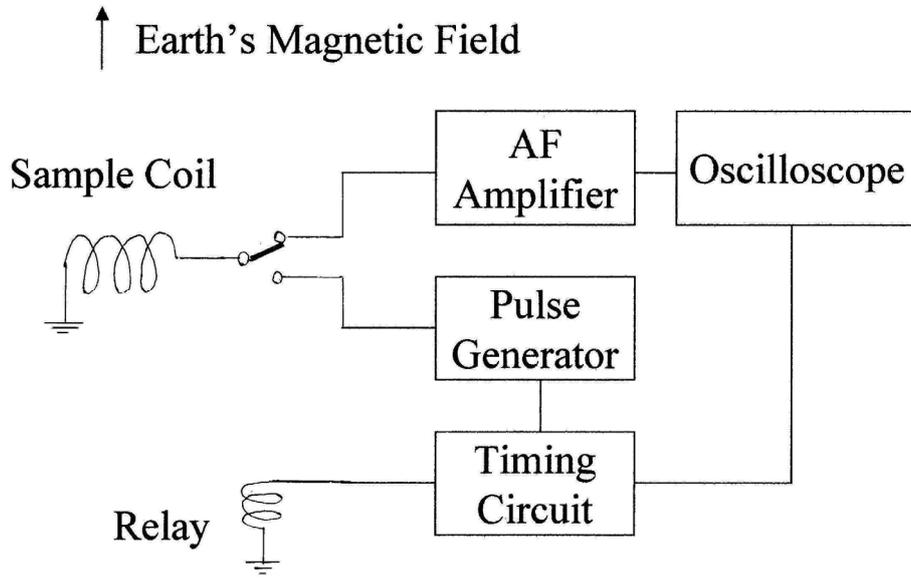


図 18

4. 主な発表論文等

< 発表論文 >

1. Sung, Y., Ogawa, S. (2013). Cross-modal connectivity of the secondary auditory cortex with higher visual area in the congenitally deaf—A case study. J. Biomedical Science and Engineering, 6, 314-318.
2. Choi, U-S., Sung, Y., Choi, S-H., Kim, N., Kim, Y-B., Cho, Z-H. and Ogawa, S. (2013). Intermixed structure of voxels with different hemispheric characteristics in the fusiform face area. NeuroReport, 24, 53-57.
3. Sung, Y., Tsubokawa, H., Kim, Y-B. & Ogawa, S. (2012). Eye movements provide inhibitory inputs to the occipito-temporal region. O.J. Medical Imaging, 2, 85-89.
4. Sung, Y., Someya, Y., Yamamoto, E., Choi, S-H., Cho, J-H. & Ogawa, S. (2011). Involvement of low-level visual areas in hemispheric superiority for face processing. Brain Research, 1390, 118-125.
5. Sung, Y., Kim, Y-B., Tsubokawa, H. & Ogawa, S. (2011). Eye movements and categorical properties in visual object processing. Report of Kannsei Fukushi Research Institute, 12, 189-196.
6. Sung, Y., Choi, S-H., Hong, S-J., Choi, U-K., Cho, J-Heeo. & Ogawa, S. (2010). An fMRI study of neuronal interactions in face-selective areas of the brain. Brain Research, 1366, 54-59.
7. Sung, Y. & Ogawa, S. (2009). Characterization of functional multiplicity of an activation site by the interaction among neuro-circuits as probed by fMRI responses to different stimulus inputs. Brain Imaging and Behavior, 3, 1-9.

< 図書 >

8. 亀井裕孟 (2010). MRI 安全性の考え方 (分担項目 電磁場の生体影響). 日本磁気共鳴医学会, 秀潤社, p 279 (分担 14).

< 学会発表 >

9. Ogawa, S. fMRI of Visual Perception. Joint Society meeting of JSCEV&KSCEV, Seoul, Korea, November, 2012.
10. Sung, Y. and Ogawa, S. Cross-modal connection of the secondary auditory cortex with higher visual area in the congenitally deaf. The 3rd Australasian Cognitive Neuroscience Conference, Brisbane, Australia, July, 2012
11. Sung, Y.・Doh, S.・小川誠二. 食品放射線汚染が与える精神・心理的影響—脳活動による評価—. 日本放射線影響学会第 55 回大会, 仙台, 2012 年 7 月.
12. Ogawa, S. Looking Back and also Forward on fMRI. Public Lecture in UCLA Summer Course of Neuro-imaging, California, USA, July, 2012.
13. Sung, Y., Choi, U-K. & Ogawa, S. Passive categorization process seen in the ventral visual pathway. The 8th FENS forum of neuroscience, Barcelona, Spain, July, 2012.

14. Ogawa, S. Past, present and Future of fMRI. UK-Japan Workshop in Multimodal Imaging of the Brain, London, UK, July, 2012.
15. Ogawa, S. Present and Future of fMRI. Symposium on Imaging Brain Function with Magnetic Resonance, Yale University, Connecticut, USA, January, 2012.
16. 亀井裕孟. 生物学的の影響. 日本磁気共鳴医学会講演会, 東京, 2012年3月.
17. Sung, Y. Some characteristics in the ventral visual region on categorization and signal flow. NRI-KEIO joint symposium on Functional Neuroimaging and Cognitive neuroscience, Incheon, Korea, January, 2012.
18. Sung, Y., Choi, U.-S., Choi, S.-H., Kim, Y.-B., Cho, Z.-H. & Ogawa, S. Contralateral preference and categorical preference in visual object processing areas. The 41th Annual meeting of Society for neuroscience, Washington DC, USA, November, 2011.
19. Ogawa, S. What's next in fMRI/MRI. International Society of Nuclear Magnetic Resonance, Yokohama, Japan, November, 2011.
20. Sung, Y. & Ogawa S. Fast response MRI signals in visual object processing areas. The 8th of IBRO World Congress of Neuroscience, Florence, Italy, July, 2011.
21. Sung, Y., Tsubokawa, H. & Ogawa, S. Characteristics of inter-hemispheric transfer of face information. The 17th Annual meeting of Human Brain Mapping, Quebec, Canada, June, 2011.
22. Ogawa, S. Challenges in fMRI. Mansfield Lecture, International Society of Magnetic Resonance in Medicine, Montreal, Canada, May, 2011.
23. Ogawa, S. What is new in fMRI. NRI-KEIO joint symposium on Functional Neuroimaging and Cognitive neuroscience 2011, Incheon, Korea, March, 2011.
24. Sung, Y. Fast response MRI signals in visual object processing areas. NRI-KEIO joint symposium on Functional Neuroimaging and Cognitive neuroscience 2011, Incheon, Korea, March, 2011.
25. 亀井裕孟. 電磁場の生物学的の影響. 日本磁気共鳴医学会講演会, 東京, 2011年3月.
26. Ogawa, S. From the beginning of fMRI: Ever Expanding Field. Pauling Medal Lecture at Stanford University Medical School, California, USA, February, 2011.
27. Sung, Y., Yamamoto, E., Tsubokawa, H. & Ogawa, S. Eye movements provide inhibitory signals to the occipito-temporal region. The 40th Annual meeting of Society for neuroscience, San Diego, USA, November, 2010.
28. Yamamoto, E., Someya, Y., Sung, Y., Ogawa, S. & Watanabe, S. Temporal patterns of activation during biological motion perception: fMRI study. The 40th Annual meeting of Society for neuroscience, San Diego, USA, November, 2010.
29. Ogawa, S. In the Midst of Ever Expanding fMRI Field. Society Meeting of Japan Bio-Magnetism, Kawasima, Japan, July, 2010.
30. 亀井裕孟. MRの安全性. 日本磁気共鳴医学会第32回MR基礎講座, 京都, 2010年7月.
31. Sung, Y., Someya, Y., Yamamoto, E. & Ogawa, S. Hemispheric superiority and information processing stages for faces. The 16th Annual meeting of Human Brain Mapping, Barcelona, Spain, June, 2010.

32. Ogawa, S. Our Recent fMRI interests. 1st Neuroimaging Conference in China, Chong Quing, China, April, 2010.
33. Ogawa, S. Our Recent fMRI interests. Keio-Gachon NRI Joint Sympoium, Tokyo, Japan, February, 2010.
34. Ogawa, S. Expectation of MRI for Elucidation of Brain Function in Coming Years. Symposium on “Future of Neuro-molecular Imaging” at National Institute of Radiation Science, Chiba, Japan, November, 2009.
35. Ogawa, S. Expectation in Unknowns of EHF MR. Expectation in Unknowns of EHF MR, Seoul, Korea, November, 2009.
36. Sung Y. & Ogawa S. An aspect of categorization mechanism in the ventral visual pathway. The 39th Annual meeting of the Society for Neuroscience, Chicago, USA, October, 2009.
37. 亀井裕孟. Rotary Echo 信号の縦磁化検出—超低磁場 MRI に向けて—, 第 37 回日本磁気共鳴医学学会大会, 横浜, 2009 年 10 月.

<研究成果の公開状況> (上記以外)

メディア出演等

38. 小川誠二. 知の先端. 産経新聞. 2009 年 6 月 26 日.
39. 小川誠二. ノーベル医学・生理学賞候補に小川誠二氏. 産経ニュース電子版 (ほか). 2009 年 9 月 24 日.
40. 小川誠二. サイエンス・インタビュー 科学のいま、そして未来. milsil (国立科学博物館). 3(4). 2010 年 7 月.

4. ニューロン・グリアネットワークの人工的構成に関する研究

研究成果の概要

脳機能の解明には、脳の活動部位を時空間的に且つ包括的に解析できる fMRI を用いた研究に加え、ニューロンやアストロサイトの個別細胞レベルの現象や、各細胞間の局所ネットワークでの信号伝達や生化学的な現象を扱うボトムアップ的な研究が不可欠である。そこで当該研究グループでは、これら細胞を基板上に配置し、任意の細胞間での相互作用を自在に形成できるプラットフォームを提供することで、外部刺激に対する細胞間ネットワークの挙動、特にニューロン・アストロサイトネットワークの可塑性や、信号制御に掛かるメディエーターの探索に資することを目指した。このようなプラットフォームを実現するために、1) 異種細胞を任意の空間に配置する技術、2) 細胞間の相互作用制御する技術開発、3) 配置した細胞からの被侵襲情報取得に関する要素技術を開発した。本テーマにおいて、低細胞接着素材である分岐高分子パーフルオロアルキル単分子膜分子 (blanched high-molecular perfluoroalkyl self assembled monolayer、以下 Rf-SAM と略す) や双性イオンを有する 2-メタクロイルオキシエチルホスホリルコリン (2-methacryloyloxyethyl-phosphorylcholine: MPC と略す) の共重合ポリマーを塗布したガラス基板に高エネルギーレーザーを照射することで、基板上に細胞接着領域と非接着領域のパターニングを形成することができた。このパターニング法は、水溶液中での応用が可能で、細胞培養中に追加のパターンを形成することで細胞間の相互作用制御の可能性を見出した。非侵襲情報取得に関しては、細胞の代謝に関わり細胞自身が持つニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NADH) やフラビンアデニンジヌクレオチド (FAD) の画像化により、細胞の活動状況をモニターすることで、アストロサイトの状態識別の可能性を示すことができた。

1. 背景

脳機能の細胞レベルでの活動を理解するには、ニューロン、アストロサイト、血管関連細胞を包括的に検討できるような新たなシステムが必要であった。従来の組織培養は、ニューロンの培養によるランダムなネットワーク形成や脳スライス標本を用いた電気生理、ヒストケミカルな検討が主流である。しかしながら、組織培養を用いる系では、ニューロンの分化誘導と樹状突起や軸索形成の誘導による任意のニューロン回路の形成は困難で、ランダムで確率的に形成されるネットワークでの検討のレベルを超えることはできないでいた。脳スライスは、より自然脳に近い状態での検討が可能であるが、長時間培養がむづかしく、例えば神経回路全体の可塑性の検討は難しかった。何よりもまず、自然脳においては、ニューロンやアストロサイトが独立して機能しているわけではなく、種々細胞が相互作用しながら活動しているわけで、細胞培養や脳スライスでの特定の細胞にターゲットを絞った研究から、より自然脳に近いが、検討対象を絞れる共培養系での研究への発展が必要な状態になりつつあったし、現在でも要求されている。実際、ニューロン、アストロサイト、そのほかのグリア、毛細管を自在に配置できるような細胞デバイスなるものが開発できれば、それら構成要素の種類と数を変化させたり、細胞ネットワークを変化させたりすることが可能になる。さらに、基板上的細胞ネットワークからの信号を非侵襲的に長時間モニターできるようになれば、特定のメディエーターに対するレスポンスが、エネルギー代謝や細胞の体積変化といった脳の特定機能の検討で可能になり、脳機能研究に与える影響は大きいと考えられる。

ニューロンやアストロサイトの回路を基板上に構成するには、まず細胞接着性の低い基板表面にマ

マイクロメートルスケール細胞が接着する領域を形成する必要がある。ニューロンやアストロサイトは塩基性の表面に強く接着するので、これらのマイクロパターンを基板上に作成できれば細胞を特定領域に接着できる [1]。より生理的な条件としては、コラーゲンやラミニンのような細胞間接着因子 (Extra Cellular Matrix: 以下 ECM) [2, 3] やあるいは、軸索パターンニングにはミエリン塩基性タンパク質のような脳関連タンパク質 [4] を基板上に配置することが必要となる。ECM と親和性のあるマイクロパターンあるいは細胞が接着できるマイクロパターンは、マスクを用いる従来型リソグラフィー [5-7] のほか、ゴム版画の要領のマイクロ版であるソフトリソグラフィーあるいはマイクロスタンプと呼ばれる方法 [8-11]、インクジェット [12, 13]、が一般的であるが、これらはあらかじめ多量の基板を作製するのに適している。しかし、全て大気中で行われるため、機能性タンパク質のパターンニングには適さない場合もあるし、培養中のマイクロパターン変更に用いることはできない。液中でのパターン作製には、あらかじめ基板に作りこんでおいたマイクロ電極アレイ表面 [14] やペン型小型電極 [15] を用いた電気化学的な酸化還元反応や、光化学的な反応 [16-19]、酵素的な反応 [20]、熱的な反応 [21, 22] で表面特性をタンパク質非接着性から接着性に変える方法を利用することができる。

溶液中でのパターン作製は、ニューロン・グリアネットワークの人工的構成のためには必須である。しかし、細胞は分裂、分化、機能発現、死に至るまでの一連のシーケンスからなり、それは所定の時間における細胞間の空間的な相互作用により左右される。このことを考慮すると、ECM や細胞のパターンニングが空間的・時間的にコントロールできる方法が必須となる。この観点は既存の方法では不十分である。多くは一回限りのパターン形成であり、任意の位置での時間差をつけてのパターン作製や同じ位置での ECM の削除や異なる ECM のパターンニング、一度表面に固定された ECM を他の ECM に変更するようなことができない。当然のことながら、これらの上に立つ異種細胞のパターンニングや培養中に他の細胞に交換したり相互作用の相手を変えることは、不可能ではないが、可塑性のような脳機能研究のために資することは実質的に難しい。

次に、ニューロン、アストロサイト、血管からなる高次の模擬脳モデルが基板上に構成できたとして、個々の細胞さらには回路網全体からの情報を得ることは並大抵のことではない。電気生理的な解析は、長時間の追跡が困難で、動的解析には向かないと判断した。ひとつの可能性は、マイクロ空間での高速 MRI であるが、これに関しては、当研究グループの別ユニットにおいて研究がなされている。その目標は空間分解能 1 mm^3 で数十ミリ秒から数百ミリ秒の時間分解能での自然脳の解析を目指している。これは、自然脳の研究では先進的な研究であるが、細胞レベルの検討に用いるには空間分解能の面で不十分である。そこで私たちは、別の現象に着目した。それは、細胞が自ら蛍光を発する物質を持つので、これを利用すれば細胞の情報を得られる点である。代表的なものは前記した NADH と FAD である。実際、ニューロンやアストロサイトでは脂質メディエーターの受容体への結合や信号伝達にリンクして各種イオンチャネルが開閉すると考えられるが、この機構の多くはエネルギー依存的におこる (図 1)。

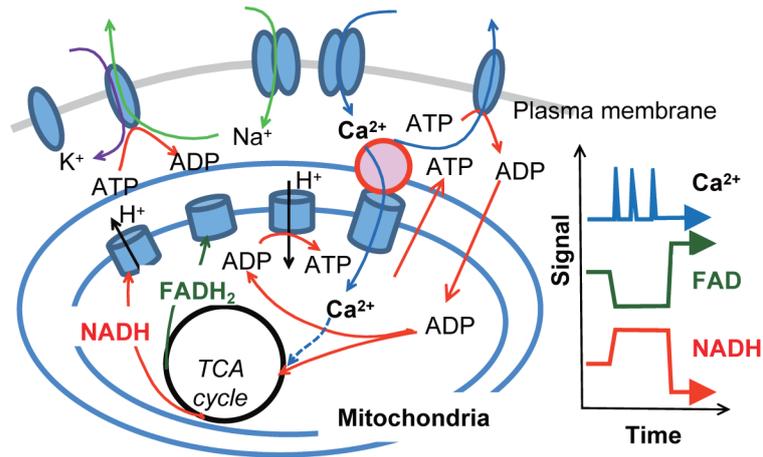


図1 イオンチャネルと細胞内因性蛍光シグナルの関係：細胞表面の受容体に伝達因子が結合すると、イオンチャネルが開閉してTCAサイクルが機能し、NADHやFADの量が変動し、それに伴う蛍光シグナル強度が変化する。

消費されたATPを補うためにミトコンドリア内ではTCAサイクルが働く。共役する電子伝達系のレドックス反応により酸化型ニコチンアデニンジヌクレオチド(NAD^+)が還元型NADHに変化し、フラビンアデニンヌクレオチド(FAD)は還元型 $FADH_2$ になる。このうちNADHとFADには強い蛍光がある。また、NADHは、ミトコンドリア膜内に局在する電子伝達系酵素に結合すると、その蛍光寿命が長くなる。したがって蛍光を発するNADH(最大励起波長340nm、最大蛍光波長470nm)とFAD(最大励起波長440nm、最大蛍光波長530nm)の量と状態を追跡することで、脂質メディエーターの影響を間接的にモニターできるはずである。一般にNADHやFADは補酵素に分類される。すなわち、反応の前後でそれ自体は物質的変化がない状態が存在する。ミトコンドリア膜の電子伝達系酵素に対するNADHの振る舞いがそれに当たる。NADHがミトコンドリア内の電子伝達系酵素に結合すると蛍光寿命が変化する。この蛍光寿命変化は細胞の状態を反映する[23, 24]。

2. 研究の目的と意義

先端的脳機能イメージング研究グループは、既存の計測技術の限界を超えた新しいイメージング・システムを開発することを目指している。このグループは、大きく分けて、機能的MRIグループと細胞生理グループからなる。その中において、細胞生理グループではMRIから得られる信号の分子・細胞レベルでの解釈を可能にするため技術的開発という位置づけで研究を行った。すなわち、脳の細胞レベルで何が起きているのかを核磁気共鳴信号から読み取るために、脳内で毛細血管周囲を取り囲んでいるグリア細胞(アストロサイト)、ニューロン、血管上皮細胞の3者による相互作用のメカニズムを明らかにするための、これら細胞をパターンニングしたデバイス作製と各細胞からの生理的な情報を得るための技術開発を目標とした。脳内異種細胞によるネットワークを人工的に構成した*in vitro*実験系の開発が主たる目的である。その経緯は、MRI信号の分子・細胞レベルでの解釈を可能にするためには、脳内で毛細血管周囲を取り囲んでいるグリア細胞(アストロサイト)、ニューロン、血管上皮細胞の3者による相互作用のメカニズムを明らかにする必要があるが、従来の*in vitro*標本を用いた実験には限界があり、十分な検証ができないことが分ったからである。そこで我々は、ニューロ

ンやアストロサイトなど異種細胞による脳内ネットワークを人工的に構成した新規の実験標本の作成に取り掛かった。また、基板上に形成したネットワークからの信号を従来の電気生理ではなく細胞自身の持つエネルギー代謝関連の生体物質である NADH や FAD の自家蛍光を非侵襲で長期培養条件下で追跡し、細胞の置かれている状態を把握できる実験系からなる、新たな神経生理研究システムを提供する研究を始めた。

3. 研究の方法

(1) 実験機材と材料

後述するように、この研究の鍵となるのは液中で基板表面改質ができるような高出力レーザーである。本研究では、一貫して再生増幅フェムト秒レーザーを使用した。使用した装置は、チタンサファイアレーザーで基本波 800 nm、パルス幅 130 fs、パルス繰り返し数 1000 Hz である。MPC ポリマー（リピジュア CM5206）は日油株式会社 ライフサイエンス事業より研究目的ということで無償でいただいた。ヒト正常アストロサイトと専用培地はロンザ社、セルラインの PC12 と HeLa は理化学研究所バイオリソースセンターより分譲したものを使用した。ラミニン-1、各種 Q-ドット、蛍光修飾試薬、Dulbecco's modified eagle medium (DMEM)、牛胎児血清 (FBS)、馬血清、ストレプトマイシンとペニシリンの混合液はライフテクノロジーズのもの、コラーゲン I とゼラチンは新田ゼラチンのものをそのまま使用した。ガラス基板はショット社のホウ珪酸ガラス（厚み 0.4 mm）を使用した。プラスチック容器はアサヒガラスのものを使用した。

(2) 基板加工と細胞計測のための光学システム

図 2 に全体システムを示す。基板のパターニングと基板からの情報は全て倒立顕微鏡の上で行う。フェムト秒レーザーは、ビームスプリッターで複数のビームラインに分割されており、複数の実験を同時に行えるようになっている（図では省略）。

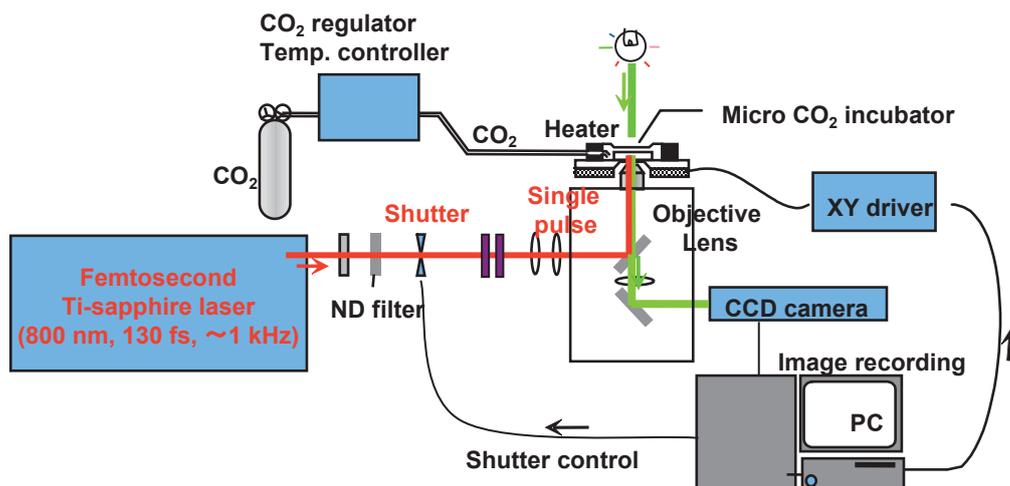


図 2 液中基板加工のセットアップ

エキスパンダーで広げられたレーザービームは、平行光のまま機械式シャッターと ND フィルターで照射時間と光量を制御できる構造となっている。顕微鏡には CCD ビデオカメラが取り付けられており、

加工の状況を記録できるようになっている。顕微鏡上にはマイクロ CO₂ インキュベーターが設置してあり、加工基板と細胞培養が同時にできる構造となっている。

図示はしていないが、必要に応じて顕微鏡の別ポートにはガルバノメーターミラーを用いたスキヤニングユニット（オリンパス FV-300）を設置することができる。このスキヤニングユニットには光ファイバーカップリングで分光測定（構成：Thermo Oriel Inst.、モデル 77480 分光器と ANDOR DV420-OE 冷却 CCD）ができる構造となっている（1光子励起のみ使用）。共焦点条件下でレーザービームをスキヤンして試料の蛍光像と散乱光像を得るとともに、画像上の特定位置の蛍光スペクトルを得ることができる。

(3) 細胞接着阻害表面を持つ基板

最初に細胞接着阻害表面の探索を行った。細胞接着性物質としてポリ-L-リジンとコラーゲン、代表的な細胞接着阻害物質として MPC ポリマー、アガロース、*R_f*-SAM を表面を持つ基板への PC12 細胞の接着特性を評価した結果を図 3 に示した。当然細胞は塩基性解離基を持つポリ-L-リジン表面やコラーゲン表面に接着した。MPC ポリマー、アガロース、*R_f*-SAM 表面への接着は阻害された。

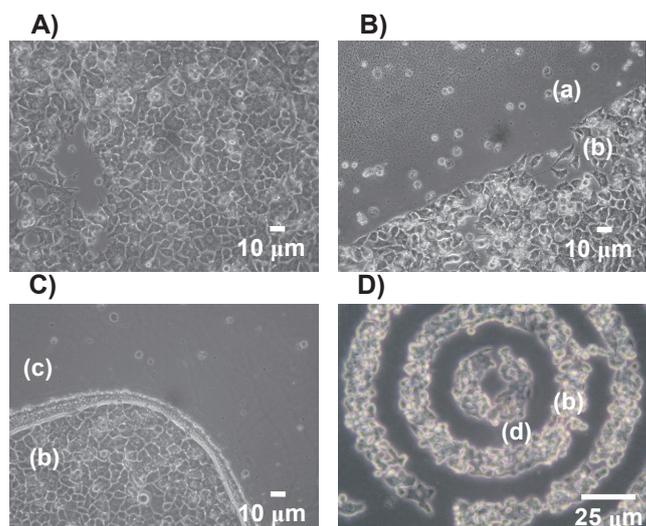


図 3 細胞接着特性と細胞接着阻害特性を持つ表面： A) ポリ-L-リジンコート表面、B) アガロース (a) とポリ-L-リジンコート表面 (b)、C) PC ポリマー表面 (c) とポリ-L-リジンコート表面 (b)、D) パーフルオロアルキル単分子膜表面 (d) とポリ-L-リジンコート表面 (b)。PC12 を塗布して 7 日後の写真。

PC12 は接着力の弱い細胞であるが、より接着力の強い細胞で同様な検討を行った。接着阻害特性は、PC ポリマー、アガロース>パーフルオロアルキル単分子膜の順であった。パターンニングによる表面改質を考えると、アガロース表面の改質には、赤外レーザーを用いて熱的にアガロースを溶解する報告 [21] があるが、波長が長いので微細領域の改質には向かないと考えられる。また、赤外レーザーによる加熱が細胞に影響する。そこで、非熱的なフェムト秒レーザーによる表面改質が可能な *R_f*-SAM と MPC ポリマーを選択した。多くの細胞はコラーゲンに対するレセプターを持つので、細胞接着にはコラーゲンを使用することにした。従って細胞接着阻害表面作製には、

R_f -SAM [25] と MPC ポリマー [26] を選択した。図 4 に構造の概略と細胞接着阻害メカニズムを記載した。

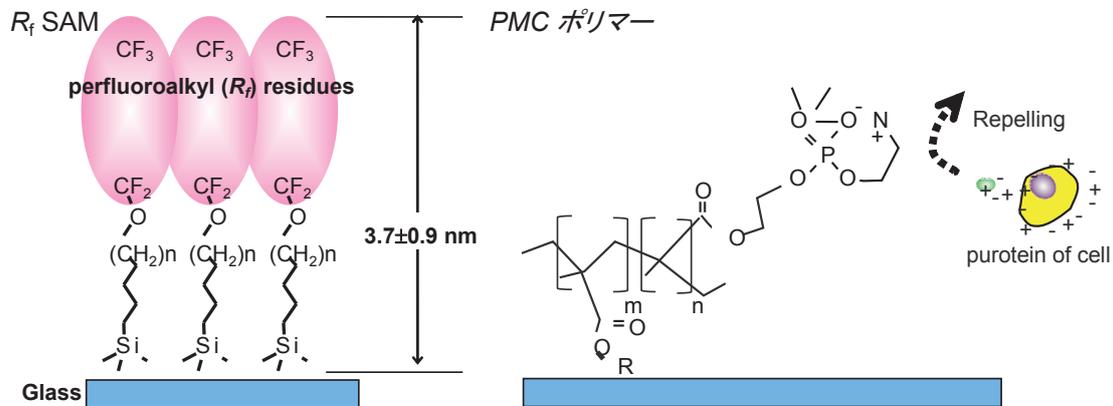


図 4 R_f -SAM と MPC ポリマーの概要

R_f -SAM は、分岐パーフルオロアルキルがポリエーテル結合でつながった残基がシランカップリング残基とアルキル基で結合している (図 4 左)。シランカップリング基はシラノールの形でガラス表面の Si-OH 基と縮合反応する。従ってこの化合物はガラス表面に共有結合で固定される。分子量は 5000-7000 で、ガラス基板上での厚みはエリプソメーターによる計測で 3.7 ± 0.9 nm の薄膜を形成している。分子内に長鎖アルキル基があることとパーフルオロアルキルそのものが疎水性のため、おそらく SAM 膜に近い構造をとっていると予想される。従って R_f -SAM と称している。表面は岐パーフルオロアルキルの特性に由来して低自由エネルギー表面となっている。実際、種々溶媒に対する接触角を測定したところ、水に対して 113° 、ジヨードメタンで 93° 、エチレングリコールで 97° 、ジプロピレングリコールで 78° と幅広い溶媒にに対して撥溶媒特性を示す (データ未発表)。低自由エネルギー表面とは、分子との相互作用が少ない表面と言い換えることができ、タンパク質や細胞との相互作用が小さくなる。十分に自由エネルギーが低い表面は、原理的に物質分子との相互作用がなくなるわけであるが、実際にはそうではないので、例えば接着性の高い細胞では完全に細胞接着を防ぐことはできない反面、 R_f -SAM 修飾密度や側鎖の大きさを変えることにより細胞を弱く接着させることができる可能性がある優れた分子と考えている。パーフルオロ基の多くは環境規制物質になるが、使用した分子はこの点に考慮し、分解しやすいポリエーテルの構造のものを使用した。

MPC ポリマーは代表的な双性イオンポリマーで、分子内にホスホリルコリン由来のリン酸基と 4 級アミンを持ち、安定な分子内塩を形成している (図 4 右)。このため、表面は R_f -SAM と異なり親水性になる。 R_f -SAM と異なり、双性イオン構造により、他のイオンや水分子とのイオニック、水素結合的相互作用が小さくなっている。MPC ポリマー塗布基板は溶媒中のプラスイオンともマイナスイオンとも相互作用が少ないので、タンパク質分子や細胞との相互作用が少ない表面を形成している。ここで用いた MPC ポリマーは物理吸着によりガラス表面に結合している。0.1%のエタノール溶液に浸漬した後、風乾する方法で容易に 100 nm 台の膜を形成する。

(4) 液中でのレーザーを用いた基板表面の改質と細胞パターンニング

ここでは代表例として、細胞非接着性の MPC ポリマー塗布基板に異種細胞を配置する系を図 5 を用いて説明する。

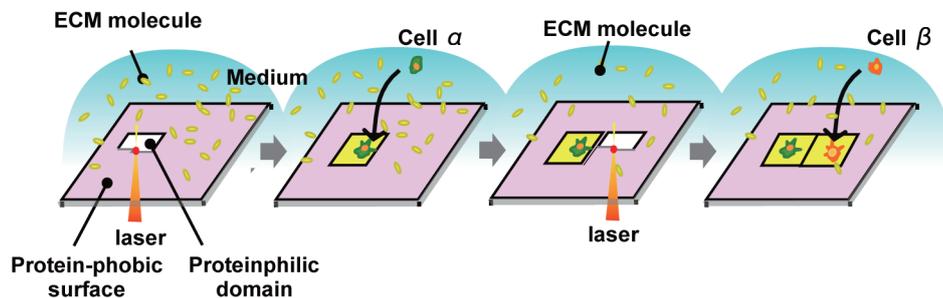


図 5 レーザーによる基板表面の改質と細胞パターンニング

MPC ポリマーを ECP を含む緩衝液中に配置し、ガラス基板底面側からフェムト秒レーザーを基板表面に集光する。この時、集光面が液中にあると、水が多光子吸収を起こしてアブレーションが起き、空隙が発生する。この空隙は、レーザーを当て続けると連続的に発生するが、その実態は単なる水蒸気なのかプラズマ状態なのかよくわからない。いずれにせよ、空隙の発生は機械的な応力を発生し、例えば近隣の細胞を引き剥がす等の影響があるので、空隙が発生しない条件が基板表面のパターンニングには重要である。このため、焦点面はレーザー集光位置を液中からガラス中に移動させて、気泡が発生しなくなる場所を基準面として使用することとした。基準面にレーザーを 20 $\mu\text{m}/\text{秒}$ の速度で 2 μm のピッチで掃引すると、表面の MPC ポリマーは除去されてガラス表面が露出する。このレーザー掃引領域は、細胞の大きさを考慮して 50 \times 50 μm を基本とした。掃引中は溶液中に ECM 分子が存在するので、ECM 分子が露出したガラス表面に吸着する。溶液を細胞の入ったものに置換すると、細胞は ECM 吸着表面に選択的に接着する。この時 ECM を共存させるのは、時間と手間を節約するためで、細胞側に問題が出るようなら、最初のレーザーパターンニング工程後に ECM 吸着を完了させた後、ECM を含まない緩衝液で洗浄して細胞を懸濁した培地に置換する方法で細胞を接着させてもよい。細胞接着工程は 16 時間を目安としている。細胞によってはもっと早く接着を完了するものもあるが、ソーマ（細胞本体）からフィロポディア（糸状仮足）やラメリポディア（葉状仮足）をのばすようになるにはこれくらいの時間が必要となる。最初の細胞接着が完了した後に、隣接部位に再度レーザーを掃引する。この時も溶液には ECM を共存させておく。新たにレーザーを掃引した領域にも ECM が接着し、次の細胞が接着できる環境が整う。異なる細胞を添加すると、新たに作製した ECM 吸着領域に細胞が接着し、異種細胞の配置が完了する。

4. 研究成果

(1) フェムト秒レーザーによる表面改質の特徴

MPC ポリマー塗布基板表面にフェムト秒レーザーを照射した表面状態を図 6 に示した。基準面にフェムト秒レーザー焦点面を合わせて掃引した結果、掃引の進行に従い散乱光像としてレーザー照射面が目視できた。これは焦点面が高エネルギーレーザーにより変性したことを示している。この時の走引速度は 20 $\mu\text{m}/\text{秒}$ 、ピッチ 2 μm なので、50 μm 角の領域を約 1 分間で作製できたことになる。

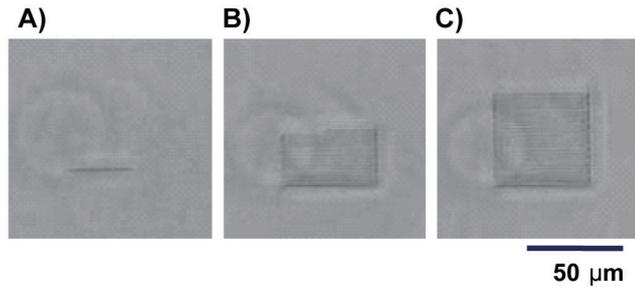


図6 フェムト秒レーザー走引による基板表面改質の進行状況： A) レーザー走引開始直後、B) 中間、C) 50×50 μm 領域の走引終了時の顕微散乱光像。

図7は、PCMポリマー基板の基準面にレーザーを照射して作製した試料を走査電子顕微鏡（SEM）で観察した像である。左はレーザー掃引が基準面に対して-0.5 μm、右が+0.5 μm の条件で表面改質を行った結果である。基準面に対して-0.5 μm でレーザーを掃引すると、レーザー掃引位置に対応してSEM上に影（aの部分）が映った。この影は、基板表面が凸凹になるほどの強度ではないので、表面は何らかの修飾を受けているが、ガラスそのものがダメージを受けるほどのものではないのかもしれない。影のピッチは掃引のピッチと一致して2 μmであった。影の幅は $0.9 \pm 0.1 \mu\text{m}$ なので、50×50 μm のエリアの46%が何らかの影響を受けたことになる。

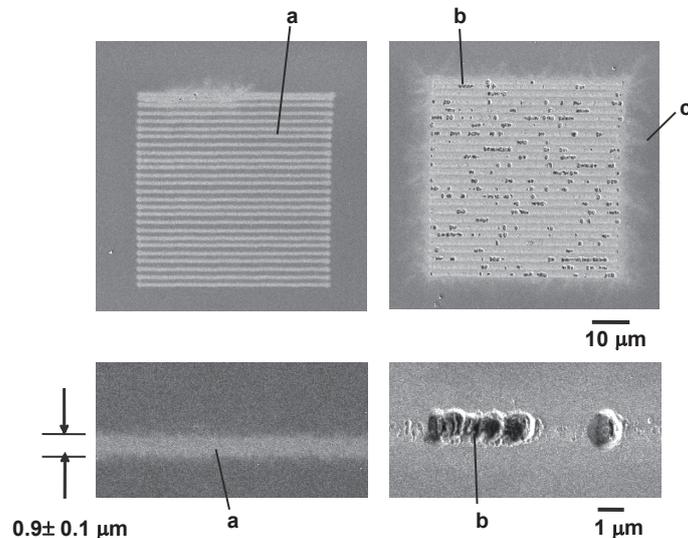


図7 レーザー集光照射したMPCポリマー塗布基板のSEM像。左はレーザーを基準面に対して-0.5 μmの位置を掃引した。右は基準面に対して+0.5 μmの位置を掃引した。上段は2 μmピッチで掃引した全体図、下段は1本のみ掃引した拡大図である。図中a、b、cに関しては本文参照。

これに対して、右の図、すなわち基準面に対して+0.5 μmの位置に集光掃引した試料のSEM像は全く異なる様相を示した。まず、いたるところにbで示すような凹凸が観測された。また影のような部分もcで示すようにレーザー掃引に対して放射状に流れるような形になっており、変化した部分と未変化領域の境界が曖昧であった。レーザーを用いたパターンニングを考えると、右のような境界ははっ

きりしない状態ではパターンニングの範囲が一定とならないので、パターンニングの精度が低下する。また、凹凸部分は、空隙の発生した位置と一致していた。空隙の発生は、周囲に応力を発生し、近くに細胞があった場合は細胞が飛ばされてしまう。従って、表面改質には、基準面よりマイナスの位置へのレーザー集光が絶対条件となる。

基準面にレーザーを集光して表面が改質されたと思われる基板に AlexaFluor[®]488 標識コラーゲン (0.4 nM) の PBS 溶液を滴下して 40 時間室温で暗所反応させた後、PBS で洗浄すると、レーザー照射部から蛍光が検出された (図 8)。この蛍光強度は無垢のガラス基板に同様な操作を施した表面での平均蛍光強度の 4 倍以上であった。無垢ガラスの場合は蛍光強度に島状のムラがあった (データ明示せず)。PC ポリマー表面領域では蛍光強度がバックグラウンドレベルで、MPC ポリマーによるコラーゲン吸着防止が有効に作用していた。

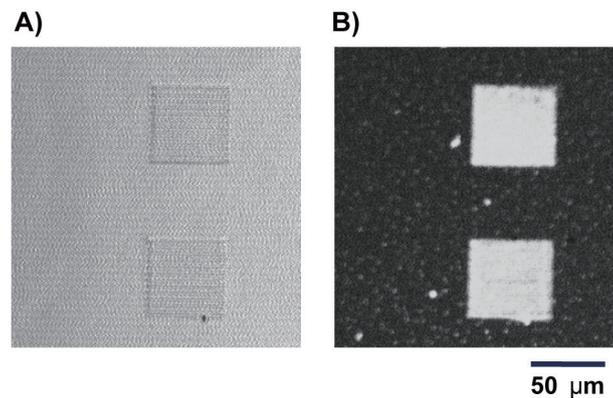


図 8 フェムト秒レーザーを照射した MPC ポリマー表面への蛍光標識コラーゲンの吸着: A) 透過光像、B) 蛍光像 (励起光 473 nm、蛍光像 405 nm 以上)。

この結果より、MPC ポリマー塗布基板はレーザー集光によりその表面がタンパク質接着阻害性から接着性変わったことがわかる。

図 7 の結果は、レーザーを用いた表面改質がレーザー集光位置に強く依存することを示している。そこで焦点位置が基準面に対して基板深度方向に $-4 \mu\text{m}$ (横軸のマイナス方向)、溶液方向に $2 \mu\text{m}$ (プラス方向) の範囲で変化させて AlexaFluor[®]488 標識コラーゲンの付着状態を測定して図 9 に示した。

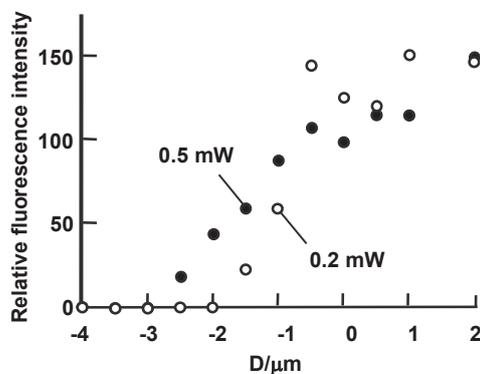


図 9 レーザー焦点位置の表面改質に与える影響。いろいろな焦点位置にレーザーを集光した基板を準備し、AlexaFluor[®]488 標識コラーゲンの付着特性を調べた。レーザー焦点位置を示す D はプラス側が溶液方向、マイナスが基板内部方向を想定している。基準となる焦点位置 ($D=0 \mu\text{m}$) はレーザー焦点位置を溶液側から基板側に移動した時に空隙が発生しなくなる位置である。

この時のレーザーパワーは焦点面で0.2 mWと0.5 mWであった。パワーが0.2 mWでは、 $-2 \mu\text{m}$ 以上、0.5 mWでは $-3 \mu\text{m}$ 以上で蛍光が検出された。それら以下では蛍光はバックグラウンドレベルであった。レーザー焦点位置が基準面に近づくと蛍光強度も強くなり、効果的に表面改質が起きていることがわかる。前記したように、焦点位置がプラス位置になると、空隙発生と修飾境界面が一定でなくなることから、レーザー集光位置は基準面に対してマイナスであることが要求される。焦点位置が0.2 mWパワーで $-2 \mu\text{m}$ 以上(0.3 mWパワーで $-3 \mu\text{m}$ 以上)では基準面に近づくと連れて蛍光強度が高くなり、 $-0.5 \mu\text{m}$ 以上でその増加率が低下する結果となった。従って、レーザー集光位置は基準面に対して $-0.5 \mu\text{m}$ 以上までの狭い範囲が最適条件であることがわかった。

ところで、基準面よりプラス側では空隙が発生すると記載したが、これは水が多光子吸収を起こした結果である。水の吸収極大は純水で160 nmでその裾野は200 nm以上になることはない。塩溶液では裾野が長波長側に膨らみ吸収域が200 nm前後まで広がる。従って一般的な緩衝液では4光子以上の多光子吸収により空隙が発生していることが示唆される。これに対して、ガラス基板では、一連の実験ではホウ珪酸ガラスを用いているので、その光吸収は340 nm以下で起きることになる。使用したレーザーは800 nmなので、267 nm帯で3光子吸収を起こしていると考えられる。この3光子と4光子吸収の違いが、表面改質に本質的に関わっている。図10にその考察を述べる。

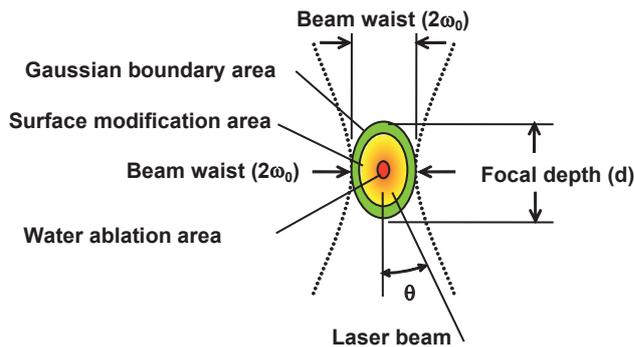


図10 レーザー集光点近傍の強度分布の概念。レーザービームの断面の強度分布はガウス分布となっていると仮定。

レーザーをレンズで集光すると、ある一定以上は絞れない状態となる。レーザービーム断面で強度がガウス分布しているレーザーの系では、一般的に強度が $1/e^2$ 以上の範囲を集光領域と定義する。この $1/e^2$ 集光領域での焦点位置でのビームの広がりをビームウェイストと呼び、その半径を ω_0 で表す。ビームは焦点から遠くなるほど広がるが、この時の角度を θ とする。一般に焦点深度はビームの広がりが $2^{1/2}\omega_0$ になるところまでの範囲 d で表す。ここでビームウェイスト直径 $2\omega_0$ と焦点深度 d は次式で表すことができる。

$$\omega_0 = \lambda / (\pi\theta), \quad (1)$$

$$d = (e^2 - 1)^{1/2} \pi \omega_0^2 / \lambda, \quad (2)$$

ここでの θ はラジアン単位 (rad) である。

さて、今溶媒の屈折率 n がわかっているとすると、ビームの入射角は使用する対物レンズの開口数NAから次式で求めることができる。

$$NA = n \sin\theta \quad (3)$$

焦点位置は水中にあるので水の屈折率1.33とする。使用したレンズは $NA=0.46$ であるので、式(3)より、

$\theta=0.35$ rad を得る。この数値を式 (1) (2) に代入しビームウェイト $2\omega_0$ と焦点深度を求める。ここで使用したレーザーの波長は $\lambda=800$ nm であるので、

$$2\omega_0=1.4 \mu\text{m}$$

$$d=10.6 \mu\text{m}$$

を得る。これが、およそそのレーザービーム照射領域である。実際の表面改質領域は多光子吸収由来なので、これより狭い範囲ということになる。実際基準面での表面改質範囲は SEM で見る限り、 $0.9 \mu\text{m}$ で、これは計算で求めたビームウェイト $2\omega_0$ の 60% である。ビームウェイトの位置と基準面の位置には水の多光子吸収を起こす領域分の違いがあるが、ほぼ同じと仮定すると、焦点深度方向の有効的な表面改質範囲は $d=10.6 \mu\text{m}$ の 60% で $7 \mu\text{m}$ と計算される。従って、レーザービームの深度方向に $7 \mu\text{m}$ の範囲で表面改質を起こすことができる計算になる。

図 11 にレーザー焦点位置を深度方向に変化させた時の表面改質と空隙の発生の関係の模式図を示す。レーザー焦点位置 D が基板表面から十分深い位置にあるときは表面改質が起きないし、空隙の発生も無い。ガウスビームの $1/e^2$ 領域が表面に達してもこの領域は多光子吸収を起こすには光子数が不十分なので表面改質は起こらない。焦点位置が基準面に対して実験データより $-2 \mu\text{m}$ 以上 $0 \mu\text{m}$ 以下では多光子吸収による表面改質が起きる。この領域はガラス基板に 3 光子吸収を起こさせるに十分な領域に相当するであろう。計算上の表面改質可能な領域は $7 \mu\text{m}$ であるので、その中心部 $3 \mu\text{m}$ が水が多光子吸収を起こして空隙を発生する 4 光子以上、おそらくは 5 光子吸収を起こさせる領域と大まかに推定することができる。

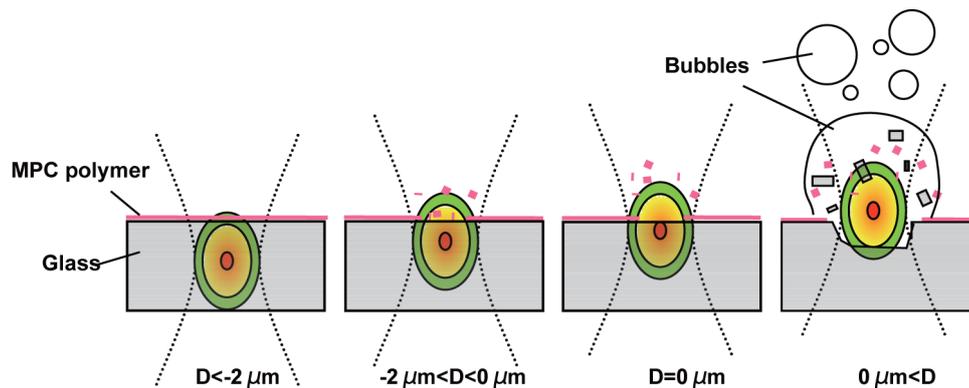


図 11 レーザービームと表面改質現象のモデル。D は基準面を表す。図の緑の外境界はガウス分布しているレーザーのパワーが $1/e^2$ になる境界領域を示す。レーザー焦点位置をガラス内部から液中に移動したときに、黄色と緑の境界はそれが表面に到達した時に表面改質が起きる位置、赤と黄色の境界は、空隙が発生し始める位置である。従って、緑の領域は基板表面の改質を行うことができないし、その領域が液中にあっても空隙は発生しない。黄色の領域が界面にあり、赤の領域が界面に無い領域では表面の改質が有効的に行われる。赤のレーザーの中心部が液中にあると、水の多光子吸収で空隙が発生する。

最後に表面改質の本質を明らかにするため、レーザー照射領域を SEM で分析した。試料は R_f -SAM と MPC ポリマー塗布したガラス基板の両方を分析した。図 12 は MPC ポリマー塗布基板表面部分、その表

面 1.5×1.5 mm の範囲の基準面にレーザーを集光した部分、ガラス表面の X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) 解析結果である。ここで緑、黒、赤の線はそれぞれ MPC ポリマー表面、レーザー照射した表面、ガラス表面での測定結果である。MPC は C、N、P を含み、ガラスは Si を含むのでこれらの変動を見ることでレーザー照射表面で何が起きているか推定できる。Si の存在比率はガラス表面で 31.4%、MPC ポリマー塗布表面では検出されなかったため、MPC ポリマー塗布面ではガラス面が MPC ポリマーで覆われていることがわかる。レーザーを照射した MPC ポリマー塗布面では Si が 15.7% 検出されたことから、ガラス表面が部分的に露出したことがわかる。この数値はガラス表面ほど大きくないが、44-50% の表面が露出したことになる。この結果は、SEM の実験結果より表面の 46% が修飾されているとの結果 (図 7) と一致する。次に C であるが MPC ポリマー塗布面では 62.4% を占める。ガラス面でも 6.9% 存在するが、これは大気中の炭化物の吸着によるものと推定される。レーザー照射面では 34.8% に低下しているが、この低下率は約 50% であり、Si の低下率と一致する。さらに、P ではレーザー照射することで 5.2% から 2.2%、N では 2.7% から 2.0% に低下していた。すべての XPS 解析結果は表面の MPC ポリマーがアブレーションにより除去されたことを示している。

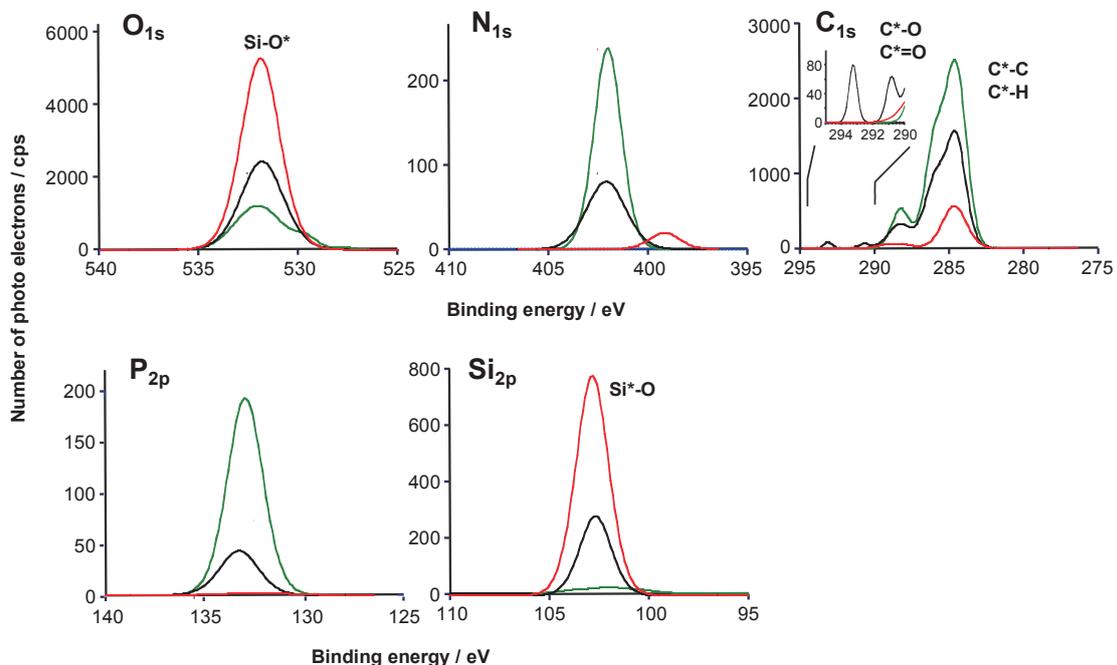


図 12 MPC ポリマー表面の XPS 表面解析。緑、黒、赤の線はそれぞれ、MPC ポリマー塗布面、レーザー照射した MPC ポリマー塗布面、無垢ガラス表面の解析 XPS エネルギースペクトルである。線源は Al (1486.6 eV、pass energy 40 eV) で、各スペクトルは炭化水素の C_{1s} が 284.8 eV として校正してある。

これに対して、R_f-SAM では様子が異なる。同様な方法で測定した XPS エネルギースペクトルを図 13 に示す。R_f-SAM の特徴はフッ素 F を多量に含む点である。レーザー照射面では MPC ポリマー塗布面に比べて C-F 結合由来のピークが 46% に低下している。しかし、C の含有率はレーザー照射面の方が 158% と大幅に増えている。また、Si に関してはレーザー照射したにもかかわらず変化が無い。また、R_f-SAM 表面でも Si が検出されているので、R_f-SAM の場合は完全に表面がカバーされているわけではなく、これが、若干の細胞接着性を残す原因と考えられる。同様に酸素

0 についてもレーザー照射前後で変化が無い。従って、ここから類推できるのは、レーザーによってフッ素と炭素の結合が切れてフッ素Fは除去されるが、炭素C骨格は残るということである。

R_f -SAM は共有結合でガラス表面に結合している。それに比べて MPC ポリマーは物理吸着でガラス表面に結合している。共有結合の方が物理吸着より安定なため、従って R_f -SAM は部分分解するが炭素骨格は残り、MPC ポリマーは根こそぎ除去されると考えられる。一般に C-F 結合は C-C 結合に比べて強い。にもかかわらず R_f -SAM でフッ素が除去されやすいのは、高密度のホトンのせいかもしれない。たとえば同様に真空中で電子線を照射するとフッ素が飛ぶ状況はよく知られた現象であるが、理由はよくわかっていないものと思われる。

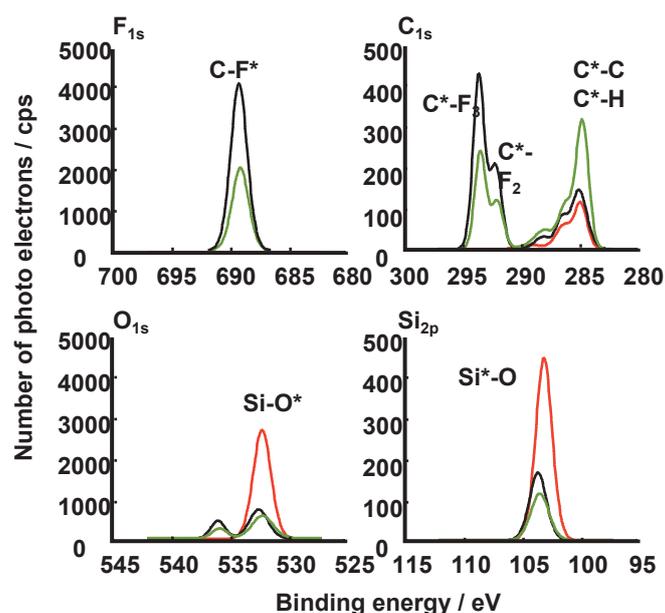


図 13 R_f -SAM 表面の XPS 表面解析。黒、緑、赤の線はそれぞれ、 R_f -SAM 面、レーザー照射した R_f -SAM 面、無垢ガラス表面の解析 XPS エネルギースペクトルである。他の条件は図 12 と同じ。

(2) 液中フェムト秒レーザー照射で作成した改質表面への細胞接着と異種細胞配置

多くの細胞はコラーゲンのレセプターであるインテグリンを介してコラーゲン塗布基板表面に接着する。そこでフェムト秒レーザー照射面への特異的細胞接着の可能性を検討した。0.1%ゼラチン（コラーゲンの部分加水分解物）と 10%牛胎児血清を含む DMEM 中で、PC ポリマー基板表面の $50 \times 50 \mu\text{m}$ 領域にフェムト秒レーザーを照射して表面改質を行った。直ちに HeLa 細胞を播種して 1 日間培養した後に、所定の培地交換した時の細胞の状態を図 14 に示した。HeLa 細胞は基板表面のフェムト秒レーザー照射領域、すなわち、MPC ポリマーがレーザーアブレーションにより除去された領域に優先的に接着していた。周囲の MPC ポリマー表面には HeLa 細胞は接着していないことがわかる。さらに 4 日間培養を続けたところ、HeLa 細胞は分裂してレーザーを照射領域にスフェロイド状の細胞塊を形成したが、PC ポリマー領域に浸潤することはなかった。

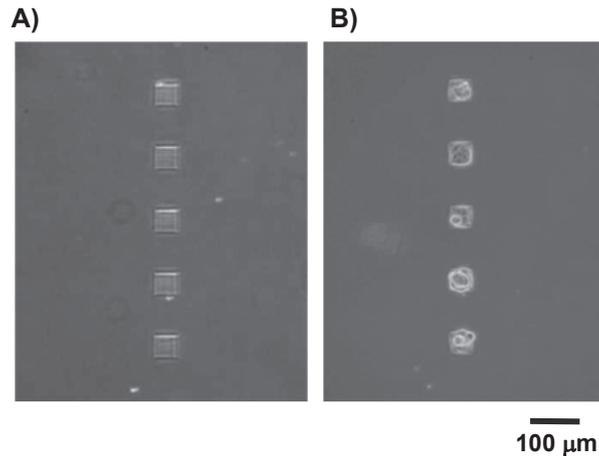


図 14 表面改質領域への HeLa 細胞接着例： A) 細胞播種前、四角い部分がレーザー照射領域、B) HeLa 細胞播種 1 日培養後の写真。

次に、追加工により異種細胞を配置した例を示す。ここでは NHK と HeLa 細胞を基板上の隣接する微小領域に配置した。まず、図 5 に示した手順により、MPC ポリマー塗布基板の基準面にフェムト秒レーザーを照射して $50 \times 50 \mu\text{m}$ の細胞接着領域を作る。この時溶液にはゼラチンが 1 mg/ml の濃度で含まれる。直ちに NHK を播種して 16 時間放置する。この培地にもゼラチンが含まれるので、レーザー照射領域にゼラチンが吸着し、その上に NHK が接着することになる。次に、接着しなかった細胞を培地を交換することで除き、NHK が接着した領域の隣に新たな領域を作成する。最後にゼラチンを含む培地に懸濁した HeLa 細胞を添加して放置する。このようにして作成した NHK と HeLa 細胞の顕微鏡写真を図 15 に示す。

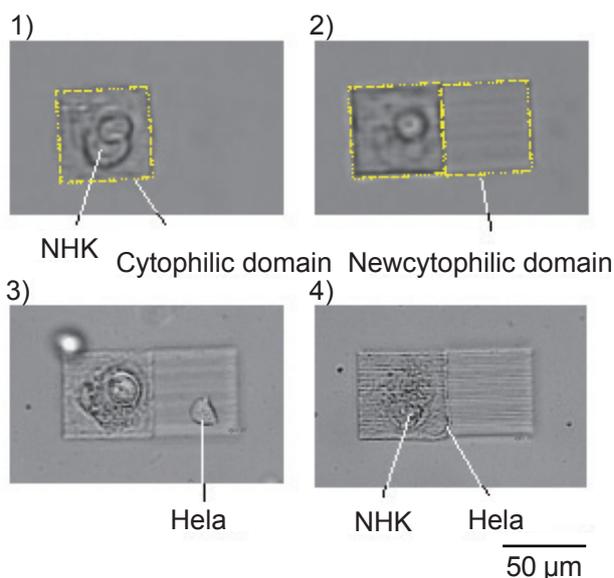


図 15 NHK と HeLa 細胞の配置例。1) レーザー照射により表面改質した黄色領域に NHK が接着した様子。2) NHK 隣接部に新たな接着領域を作成した様子。3) 新たな接着領域に HeLa 細胞を配置した 30 分間後の様子。4) 2 日間培養した後の様子。すべての工程に 1 mg/ml のゼラチンを含む。

NHK は全行程を通じてほとんど動かなかった(図 15 1-4)。HeLa 細胞は配置後約 2 時間で接着した(図 15 3)。HeLa 領域内を活発に動き回った。その後 60% の HeLa 細胞が NHK 領域に浸潤する様子が観察された(図 15 4)。このように培養中に新たな細胞接着領域を追加工することで、異種細胞を配置することができた。

(3) 液中フェムト秒レーザーアブレーションを用いた表面改質による細胞間相互作用の制御

液中でレーザーアブレーションによる表面改質技術を利用することで、任意の細胞間ネットワーク形成を細胞培養中の任意の時刻に行うことが可能になった内容について述べる。

基板表面に作成した細胞接着領域に細胞を配置した状態では、細胞の周囲は細胞接着阻害ポリマー表面で覆われているために、突起を伸ばしたり移動したりはできない。細胞間の細胞接着阻害表面にフェムト秒レーザーを照射して新たなチャンネルを作成すると、チャンネルに沿って神経様細胞が突起を伸ばし、他の細胞とネットワークを形成することを確認した。また、アストロサイトのような遊走細胞ではチャンネルに沿って細胞が移動して他の細胞と相互作用する現象が見られた。ここではPC12の神経突起を誘導して、細胞間ネットワークを形成した例(図16)と、NHAの遊走を制御した例(図17)について記載する。

PC12はNGFで神経突起を分化誘導することができる。図16Aに示すように、基板上に細胞接着領域を作成し、そこにPC12を接着させた後に神経突起をのばす方向を制御するために各細胞間の細胞接着阻害性表面(R_f -SAM修飾ガラス基板)にレーザーアブレーションで細胞接着領域のパターンを作成した。PC12のガラス面に対する接着性は弱い塩基性表面に接着しやすい。そこでパターンを作成した基板を2-(アミノエチル)エチルアミノプロピルトリメトキシシランでシランカップリング処理して、レーザーアブレーションで作成した表面に $(\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{-NH-(CH}_2)_3\text{-O-Si}\equiv)$ を導入して細胞接着領域とした。PC12を播種すると細胞接着領域に細胞が各々孤立した状態で接着し、そのまま培養や分化誘導して所定の機能の細胞を作製することができる。シランカップリング反応は、低表面自由エネルギーの R_f -SAM表面では起きづらいので、問題なく細胞接着領域と非接着領域を区別して作成できる。これらの操作後に細胞接着領域間にフェムト秒レーザーを集光スキャンし、誘起されるレーザーアブレーションにより R_f -SAMを除去する。細胞接着を阻害するパーフルオロアルキル自己集合膜が除去されると基板のガラス表面が露出するので細胞が浸潤できるようになり、任意の細胞間のチャンネルを形成することが可能になる。レーザーアブレーションにより R_f -SAM表面に線が描画されることが、透過光による顕微鏡観察で確認できた(図16B)。描画された線幅は顕微鏡観察で $3.3\ \mu\text{m}$ であった。 R_f -SAM表面では描画される線幅にレーザーパワー依存性があり、 $300\ \mu\text{W}$ で $2.4\ \mu\text{m}$ 、 $1000\ \mu\text{W}$ で $5.4\ \mu\text{m}$ であった。このようにフェムト秒レーザーを用いた液中パターンニングは、細胞サイズより細かい線幅での加工が可能で、培養中のデバイス追加工によるアクティブなパターン変更には十分精密な加工線幅が得られた。チャンネル追加工中、PC12は基盤から剥離したり形状が変化することなく、その場にとどまっていた。NGF存在下で培養を続けると、PC12は神経突起を伸ばし、ついには細胞間が神経突起でつながった(図16C)。

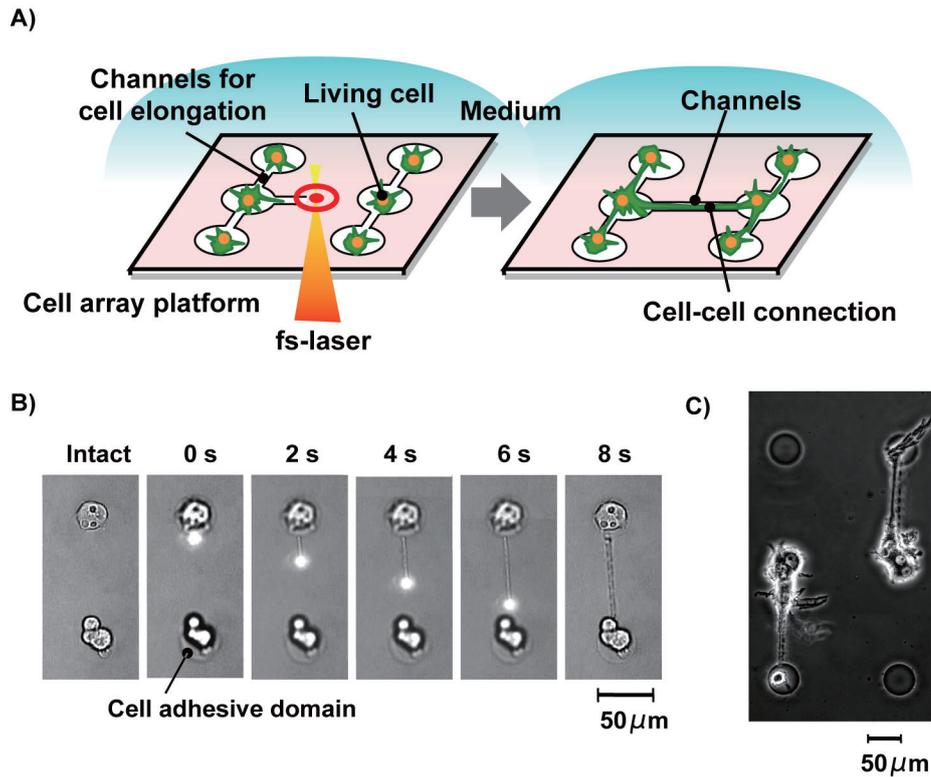


図 16 フェムト秒レーザーによる表面改質を用いた細胞間相互作用誘起用チャンネルの作成と PC12 の神経様突起の空間誘導。A) チャンネル作成と神経様突起の空間誘導の概念。B) PC12 培養下でのチャンネル作成例。C) PC12 の神経様突起の空間誘導例。

図 17 に NHA の遊走を制御した例を示す。ここで使用した基板は MPC ポリマー塗布基板である。まず、フェムト秒レーザーアブレーションで 12 箇所 の $50 \times 50 \mu\text{m}$ と $100 \times 2000 \mu\text{m}$ の細胞接着領域を作成し、NHA を播種し、余分な細胞を除去した後、追加のチャンネルを作成する (図 17A)。チャンネルは $50 \times 50 \mu\text{m}$ の正方形細胞接着領域から伸ばし、 $100 \times 2000 \mu\text{m}$ の短冊型細胞接着領域の手前 $22 \mu\text{m}$ で途切れている。すなわちチャンネルと短冊型細胞接着領域には $22 \mu\text{m}$ のギャップがある。12 箇所の正方形領域のうち 8 箇所と短冊領域に細胞が接着した。チャンネル作成当初は細胞は各領域にとどまっているが、そのうちに 8 箇所全てで細胞がチャンネル内に浸潤した (図 17B)。

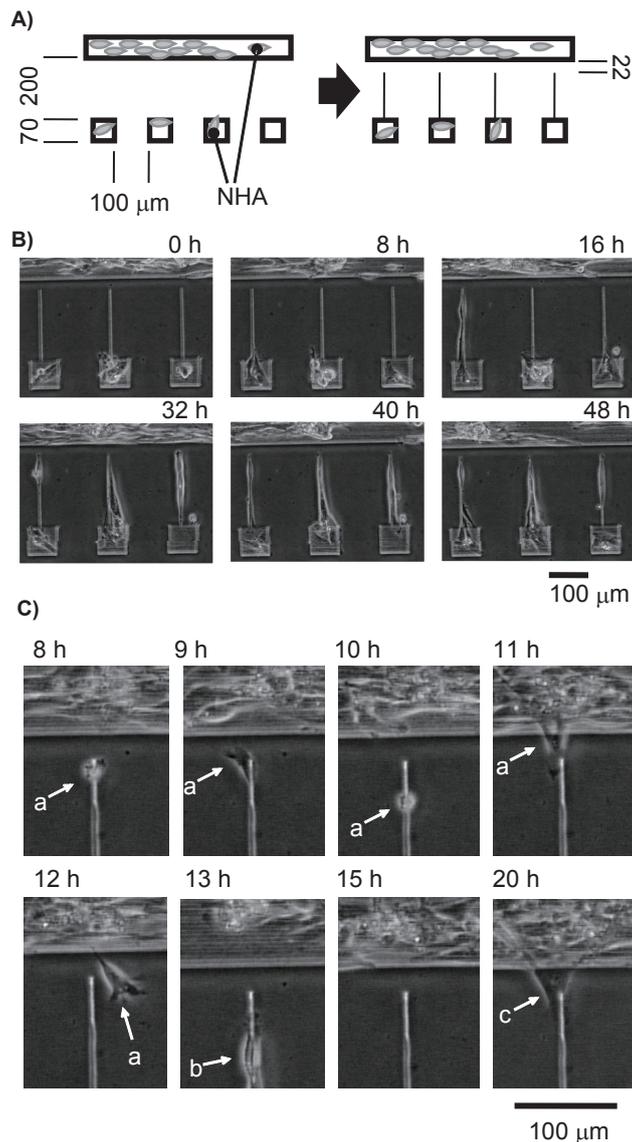


図 17 フェムト秒レーザーによる表面改質を用いたチャンネル作成による NHA 遊走の制御。A) 作成したパターンの模式図。最初に左のようなパターンを作成して NHA を播種した後、右のチャンネルパターンを培養中に追加工した。B) NHA がチャンネルに浸潤の様子。NHA はチャンネル内にとどまっている。C) NHA がギャップを通り抜ける様子。まず細胞 a が繰り返しアタックした後にギャップを乗り越えたが、続く細胞 b は不成功であった。細胞 c はギャップの乗り越えに成功した。

もし、細胞播種前にチャンネルを作成しておく、細胞がチャンネル上にも接着してしまうので、逐次的な表面加工はこのような実験には欠かせない。さらに培養を続けると、6 箇所では細胞がギャップを通り越すことができずチャンネルと正方形領域内にとどまっていたが (図 17B)、2 箇所では細胞のフィロポディアが MPC ポリマー表面からなるギャップに浸潤することを繰り返し、ついにはギャップを乗り越えて短冊領域に移動する現象が見られた (図 17C)。正方形領域間は 100 μm であるが、これは細胞が乗り越えることがなかった。おそらくフィロポディアは 20 μm 程度の領域で足場を探索することができるものと思われる。

(4) 細胞からの非侵襲情報取得

細胞回路からの情報を非侵襲で得るために、細胞内メタボリックと細胞形状変化に着目した。神経系細胞においても細胞内呼吸に関連する NADH を 2 光子励起蛍光寿命イメージング法 (Fluorescence Lifetime Imaging: FLIM) で追跡する方法と、FAD を自家蛍光イメージングで追跡するのが有効である可能性を見出した。本研究では、試料として培養ヒトアストロサイトをを用いた。これは、将来、実際に脳を構成するニューロン、アストロサイト、血管系細胞のネットワークを前記したフェムト秒レーザーアブレーションによるパターン作成技術を用いて作成した場合のテーマとして、アストロサイトの機能記述が重要と考えたからである。アストロサイトはニューロンを「養っている」との表現があるが、最近ではニューロンやそのほかの細胞と頻りに相互作用していることが明らかになりつつあるからである。例えば、脳血液関門の制御や血管収縮の制御を直接行っている可能性が指摘される。前記したとおり、従来の電気生理的な手法では長時間の細胞解析がむづかしいし、ヒストケミストリーは細胞を固定するので連続的な解析はできない。最近流行りの Green Fluorescence Protei (GFP) とその誘導体やルシフェラーゼの類、Fluorescence Resonance Energy Trasfer (FRET)、などの新手法が使われ、成果を上げているが、巨大分子を細胞内で発現させることの影響の問題があり、外的物質導入によらない細胞モニタリング方法が望まれる。そこで、細胞の自家蛍光を利用することの可能性を検討した。自家蛍光のほとんどは、ミトコンドリアに存在する NADH と FAD に由来する。以下これらを実際のヒトアストロサイトでその状態識別に使用した結果を述べる。

1) ヒトアストロサイトの線形及び非線形励起蛍光イメージング

ヒトアストロサイトの 488 nm 励起 1 光子蛍光像、780 nm 励起の 2 光子励起蛍光像、散乱光像、ミトコンドリア特異的色素であるミトトラッカーで染色した蛍光像を、それぞれ図 18a、b、c、d に示す。ミトトラッカー染色像は細胞内のミトコンドリアを主に示しているが、内因性蛍光である 1 光子励起蛍光像と 2 光子励起蛍光像は、ともにミトトラッカー染色とは異なる位置での蛍光スポットが数多く検出された。

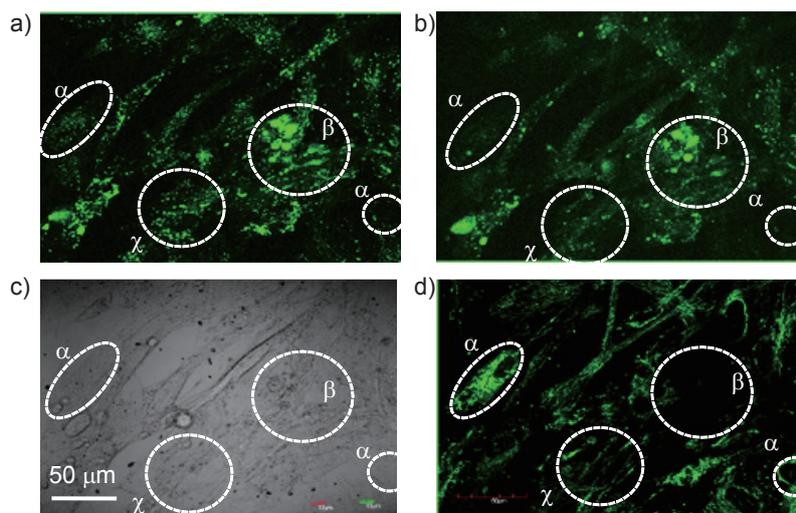


図 18 アストロサイト細胞群の顕微像。a) 488 nm 励起 1 光子蛍光像、b) 780 nm 励起 2 光子蛍光像、c) 散乱光像、d) ミトトラッカー染色蛍光像。

このうちミトトラッカー染色による蛍光検出位置で1光子励起蛍光像や2光子励起蛍光像で蛍光検出されない部分(図中 α)は、活動休止中のミトコンドリアと解釈できるが、ミトトラッカーで染色されないあるいは蛍光が弱い位置で、1光子や2光子励起で強い蛍光を発するスポット(図中 β)が何であるかは不明で、検討を要する。また、1光子と2光子励起蛍光像でもかなり異なり、2光子励起蛍光像では全体的にサイトゾルからの発光が強い。図中 γ では2光子励起では発光していないが1光子励起では発光している点がある。1光子励起蛍光像(488 nmまたは473 nm励起)ではFAD、2光子励起蛍光像(360 nmに吸収がある物質が発光)では広帯域フィルターを用いたのでFADとNADHの両方を検出しているが、1光子励起でのみ光っている点があることは、周囲の発光点とはNADHとFADの量比が異なることを意味し、細胞内ではミトコンドリア毎に活動状況が異なることが示唆される。

別途1光子473 nm励起での蛍光スポットの蛍光スペクトルを測定したところ、図19のようにいずれも最大蛍光波長570 nmのブロードな蛍光スペクトルが得られ、480 nm近傍における1光子励起での蛍光スポットがFAD由来であると結論した。すなわち、生きた細胞内の個別ミトコンドリア由来の電子伝達系蛍光色素であるFADを遺伝子導入や試薬の添加なしでモニターできる。

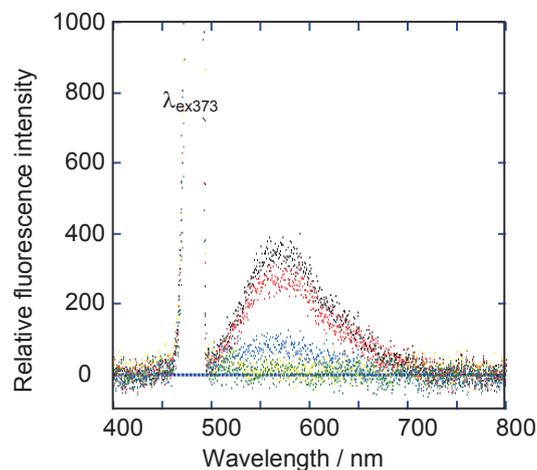


図 19

2) NMDA 刺激における細胞内因性蛍光の強度変化

アストロサイト表面に NMDA 型グルタミン酸受容体が発現していることを利用したアゴニストによる受容体活性化時の検討を、レーザー波長 488 nm 励起の 1 光子励起蛍光検出を用いた細胞内 FAD イメージングで行なった。NMDA 型グルタミン酸受容体はイオンチャネル共役型と呼ばれ、アゴニストとの結合により Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} を通すイオンチャネルが開く。細胞死を引き起こすに十分な濃度 (50 μM) の NMDA を培養中のアストロサイトに添加した結果を図 20 に示す。添加後の 30 秒間以内に蛍光強度が検出限界以下に低下する部分が広範囲にみられた。2 分間後にはほぼ投与前の状態に戻った。また、全体的に細胞質流動が活発化し、矢印の部分は NMDA 添加 6 分間後に一時的に厚みや幅が少なくなり、約 24 分間後に元に戻った。NMDA の投与は、 Na^+ 、 Ca^{2+} の細胞内への流入を促し、細胞膜の脱分極や細胞内 Ca^{2+} 濃度増加による多くのシグナル伝達系の活性化を引き起こす。同様な現象は、肝臓組織スライスを用いた実験で、一時的に虚血状態を作ると FAD 由来の蛍光が瞬時に消光し、血液還流を再開すると蛍光強度が戻る現象が報告されている (Ian Liao, 湾第 17 回生物物理検討会, 2012 年 5 月, Academic Sinica, Taipei)。今回の結果は、NMDA に対するレスポンスであるが、細胞内因性蛍光の検出による

FAD イメージングが細胞の呼吸系状態をよく反映していることがわかった。低下した ATP を補うために TCA サイクルが反応して FAD 濃度が低下し、一時的に蛍光強度が低下したと予想される。またこのような急激な脱分極時には、細胞骨格や細胞表面の状態が変化することが考えられるが、観察された細胞質流動はこのような構造的変化を反映しているのかもしれない。

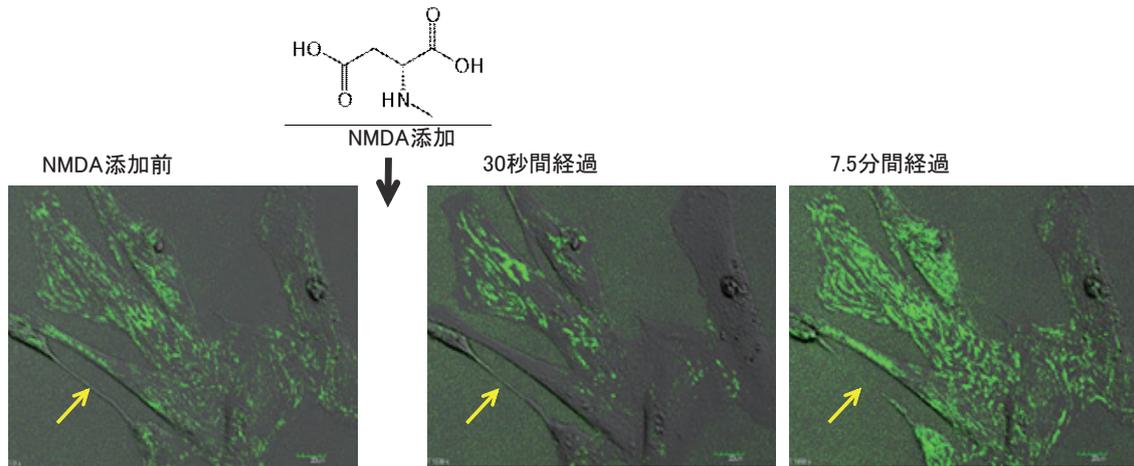


図 20 NMDA 添加によるアストロサイトの内因性蛍光と形状の変化： ヒトアストロサイトに NMDA (図中の構造式) を最終濃度 50 μM の過剰量添加して、励起波長 488 nm で 505~570 nm の蛍光の経時変化像を得た。黄矢印はアストロサイトの形状変化位置を示す。

3) NMDA 刺激におけるヒトアストロサイトの 2 光子 FLIM 解析

図 21 に同様に NMDA を 50 μM の終濃度で添加した時の典型的な FLIM 画像を示す。NMDA 添加直後に平均蛍光寿命が急激に短くなり、その後回復することはなかった。また、経時的に各細胞が孤立して丸くなり始めている。この状態になると、NMDA を洗浄除去しても細胞は 1~2 日で死滅する。アポトーシスが誘導されたものと推測される。使用したレーザーは 740 nm なので 2 光子励起条件では 370 nm に吸収がある物質を励起することができる。

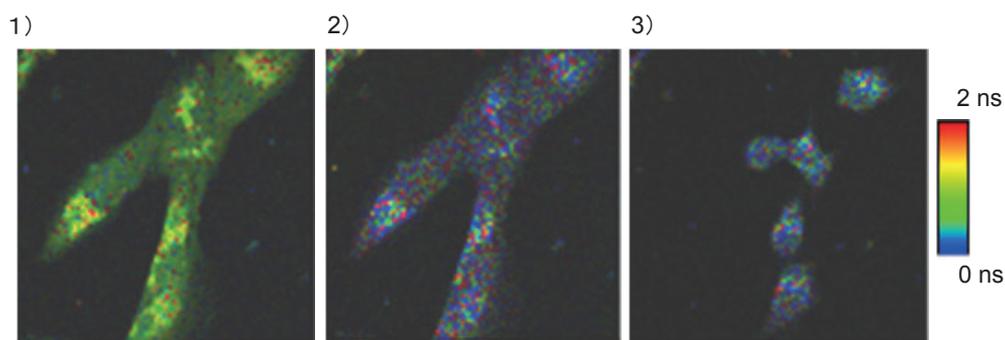


図 21 FLIM による細胞状態計測例： 1) NMDA 添加前、2) NMDA (50 μM) 添加数分後、3) 1 時間後の FLIM 像。カラーバーは蛍光寿命を表す。一般に、細胞呼吸のエネルギー代謝に係る NADH の蛍光寿命はミトコンドリア膜酵素に結合すると 0.4 ns から 2.8 ns 前後に遅延する。図では、非結合型 NADH が増え、細胞代謝が低下して細胞死が誘導されたことがわかる。

この実験では、発する蛍光を 447 \pm 40 nm のバンドパスフィルターを通して光子カウントしており、

生細胞においては実質的に NADH 由来の蛍光を検出することになる。細胞内では多くの NADH がミトコンドリア内にローカライズしているが、写真を見る限りサイトゾルからも発光しているように見える。1 光子励起による FAD を追跡した図 20 では、NMDA 添加直後に蛍光消光が見られたが、NADH の追跡では、見られなかった。FLIM ではイメージングに 6 分間かかるので、急激な変動は検出できないのである。図 20 の条件では FAD の量的な変動をおっている。FAD は蛍光を発するが、FADH₂ は発しないので、NMDA 添加により膜内の FAD が FADH₂ に変化し、その後 FAD が補われて蛍光強度が戻ったと考えられる。NADH の FLIM 解析ではミトコンドリア膜での結合と乖離の比率を見ている。もちろん NADH が NAD⁺ に変化すると消光するが、本測定においては消光していない。NMDA 添加により電子伝達系のどこかがブロックされ、酵素群に NADH が結合できない状態が起きている可能性がある。この場合、NADH そのものは消費されないことになるので説明がつく。あるいは NADH は水素イオン濃度に敏感で、NMDA 添加で単にミトコンドリア内の水素イオン濃度が低下して蛍光寿命が短くなったのかもしれない。

4) 2 光子 FLIM 画像の 1 時間連続追跡

脂質メディエーターの影響を調べるには、1) 電気生理学で用いるパッチクランプのように、速い応答を見る、2) 数 10 分間の比較的長い応答を見る系が考えられる。FLIM では、ホトンが時系列的に分散するので、アストロサイトの場合では画像の取得に 6~10 分間程度の計測時間が必要となる。現状では時間分解能がこの程度で 1 時間程度のゆっくりした変動を見ることになる。前記したとおり、補酵素である NADH はミトコンドリア内にフリーの状態と、ミトコンドリア膜の電子伝達系酵素群に結合した状態が存在する。2 つの状態では蛍光寿命が異なり、フリーの状態では蛍光寿命 τ_1 は 400 ps 前後、酵素結合状態の蛍光寿命 τ_2 は 2200~3000 ps で、それぞれの蛍光ホトンの頻度を a_1 、 a_2 で表す。一般に a_1/a_2 、すなわち電子伝達系酵素群に結合した状態の NADH に対してフリーの NADH の分子数に関連する関数として表すことが多い。図 22 に形状の異なるヒトアストロサイトの a_1/a_2 を培養条件下で追跡した例を示す。細胞は前日にパッセージしたものをそのままの状態での測定している。計測中は 37°C で 5% CO₂ 混合空気を水中にバブルしたものを顕微鏡用チャンバーに常時フローした雰囲気で行なった。時間列を無視したすべての a_1/a_2 の平均は 2.66、標準偏差 0.41 であった。計測から 20 分間程度のところには山があり、その後は各細胞毎に a_1/a_2 が分散する傾向が見られる。

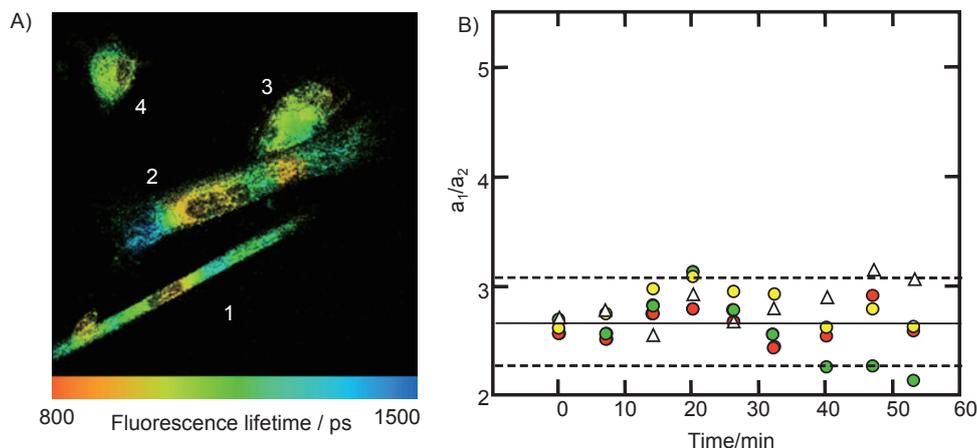


図 22 ヒトアストロサイトの 1 時間クラスの FLIM 経時追跡： A) FLIM 顕微写真、B) a_1/a_2 の時間変動を表す図で、赤丸、黄丸、緑丸、白三角、はそれぞれ写真中の 1~4 の細胞からの FLIM 信号から計算した。図中実線は全データの平均値、破線は $\pm\sigma$ を表す。

5) プロスタグランジン D₂ とプロスタグランジン J₂ の影響

脂質メディエーターとして、プロスタグランジン D₂ と J₂ をそれぞれ培養中に添加し、 a_1/a_2 を追跡した (図 23、図 24)。プロスタグランジン D₂ では、添加直後からすべての細胞の a_1/a_2 が上昇している。特に細胞 1 と 2 では、通常の細胞状態 $a_1/a_2 = 2.66 \pm 0.41$ の範囲を超えているので急激な細胞状態の変化があったと考えられる。蛍光寿命が電子伝達系酵素への NADH 結合状態を反映するなら、細胞呼吸が不活化してフリーの NADH の比率が上昇したと解釈できる。細胞 3 と 4 では添加後 30 分間で最大値となりその後低下している。その他の細胞では概ね a_1/a_2 が上昇し続けている。

プロスタグランジン J₂ ではプロット数が 2 点しかないが、 a_1/a_2 が上昇し続けることはなかった。図 23 の細胞では、試薬添加前より、 a_1/a_2 が高目で、試薬添加により、低下する傾向があった。プロスタグランジン J₂ は D₂ の代謝産物であるが、FLIM で見る限り、アストロサイトでは異なる挙動を示している可能性がある。今回の研究では測定細胞数が少なく、引き続き検討が必要である。また、図 22 ~24 で共通して言えることであるが、測定開始直後にはほぼ一定の値を示していた a_1/a_2 が時間とともに分散幅が広がっている。細胞そのものの活動周期なのか、レーザーを長時間当て続けることの影響なのかは、現状不明である。

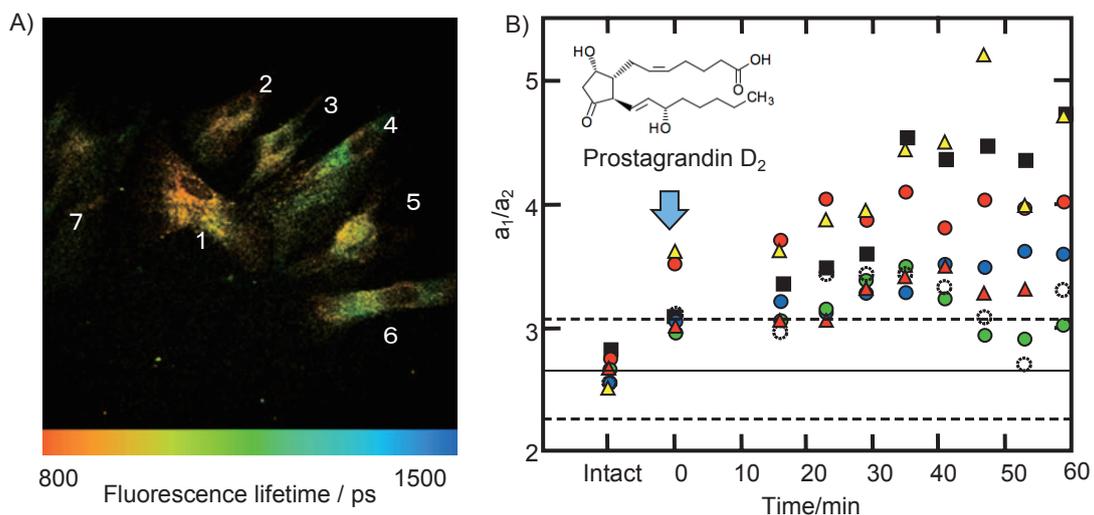


図 23 プロスタグランジン D₂ 添加によるヒトアストロサイト由来 a_1/a_2 の変動： A) FLIM 顕微鏡像、B) a_1/a_2 の時間変動を表す図。矢印はプロスタグランジン D₂ の添加時を示す。計測時間は 6 分間。赤丸、黄三角、緑丸、白丸、黒四角、青丸、赤三角はそれぞれ細胞 1~7 で得た値を示す。図中実線は図 8 で得た未刺激細胞での a_1/a_2 の平均値、破線は $\pm\sigma$ を表す。

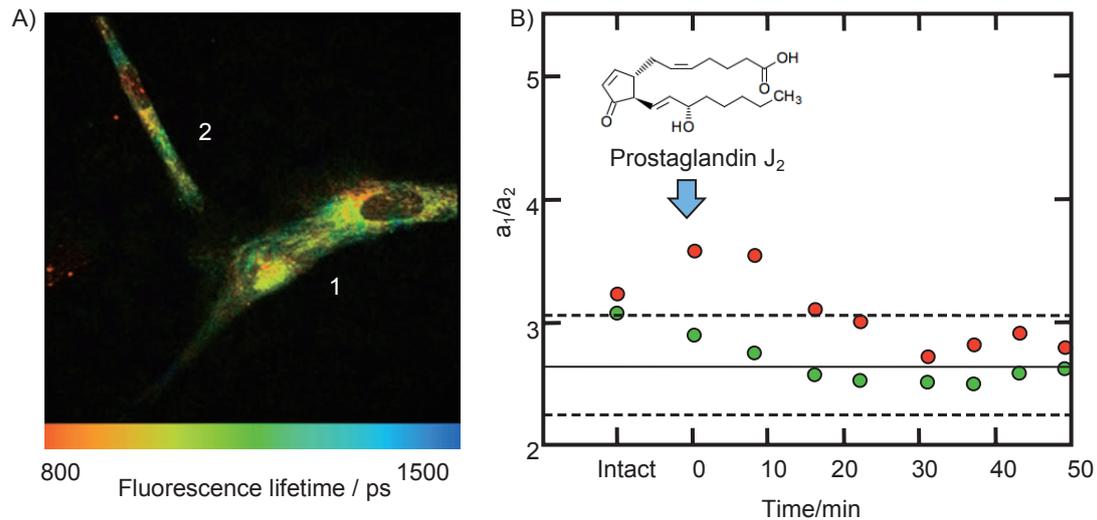


図 24 プロスタグランジン J₂ 添加によるヒトアストロサイト由来 a₁/a₂ の変動： A) FLIM 顕微鏡像、B) a₁/a₂ の時間変動を表す図で、赤丸と緑丸はそれぞれ写真中の細胞 1 と 2 の FLIM 信号から計算した。矢印はプロスタグランジン J₂ の添加時を示す。計測時間は 6 分間。図中実線は図 8 で得た未刺激細胞での a₁/a₂ の平均値、破線は±σ を表す。横軸に対するプロットが一定間隔ではないのは、毎回のデータ保存操作がマニュアル操作のためである。

5. まとめ

以上述べてきたように、高エネルギーのフェムト秒レーザーを用いることで、細胞培養中に基板表面に新たな細胞接着領域やチャンネルを作成し、細胞接着や神経突起の空間的・時間的制御の下に誘導することができる方法を世界に先駆けて開発した。本技術開発により、異種細胞の逐次配列に道を開くことができた。また、任意の細胞間ネットワーク形成を培養中の任意の時刻に行うことが可能になった。細胞を基板の上に配置し細胞間のチャンネルを形成することに成功したが、機能を持った神経様回路を模倣したものをプラットフォーム上に構築するには、実際のニューロン・アストロサイト・血管細胞等の多数の細胞の配置に関するアーキテクチャーを明らかにする必要がある。

非侵襲的細胞状態解析においては、細胞内代謝に関する NADH や FAD の蛍光強度が細胞状態に依存することを確かめることができた。同様な結果は FLIM 解析でも可能で、本研究により神経系細胞の細胞内因性自家蛍光イメージングや FLIM が細胞内呼吸を標識なしで非侵襲的に追跡できることがわかった。しかし、FLIM では、高強度のレーザーパルス光を試料に当て続けるので、長時間のタイムラプス計測を行うと蛍光体のホトブリーチングが無視できない問題が残る。試料が細胞の場合、ホトン数を稼ごうとしてレーザー光強度を強くすると、おそらくは熱の影響で、細胞がネクロシスを起こす現象が見られた（データ非表示）。フェムト秒レーザーは熱の影響が少ないと言われているが、サイトロロジー応用では細胞へのダメージをあらかじめ考慮する必要がある。レーザー強度を上げることができない場合、総ホトンが時間軸に分散する FLIM でタイムラプス計測を行うには、十分なホトン数を得るために空間分散型の計測モードが必要であることを本研究を通じて感じている。

6. 主な発表論文等

<論文>

1. Okano, K., Hosokawa, Y., Tsubokawa, H., Masuhara, H., & Kao, F.-J. (2012). Photo-dynamic conversion of solid surface from protein-phobic to protein-philic by femtosecond laser through *in situ* microfabrication. Proceedings of Micro Total Analysis Systems 2012: The 16th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, pp 1828-1830.
2. Okano, K., Yu, D., Matsui, A., Maezawa, Y., Hosokawa, Y., Kira, A., Matsubara, M., Liao, I., Tsubokawa, H., & Masuhara, H. (2011), Induction of cell-cell connections by using in-situ laser lithography on a perfluoroalkyl-coated cultivation platform. ChemBioChem, 12, 795-801.
3. 岡野和宣・松井愛・前澤安代・細川陽一郎・杉山輝樹・増原宏 (2011) . 高強度フェムト秒レーザーパルスを用いた細胞操作—培養液中での基板表面改質による細胞接着領域の作製—. 感性福祉研究所年報, 12, 179-187.
4. 岡野和宣・前澤安代・松原美恵・細川陽一郎・増原宏 (2010) . オンチップ細胞選別と一細胞培養技術の開発. 感性福祉研究所年報, 11, 157-163.
5. Okano, K., Maezawa, Y., Hosokawa, Y., Kira, A., Mastubara, M., & Masuhara, H. (2009). In-situ arrangement of living cells on a fabricated surface by femtosecond laser, Proceedings of Micro Total Analysis Systems 2009: The 13th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, 1249-1251.
6. 岡野和宣・于大衛・廖奕翰・前澤安代・松井 愛・細川 陽一郎・松原 美絵・吉良 敦史・増原 宏 (2009) . フェムト秒レーザーを用いた細胞アレイ用基板上での個別細胞配置と細胞間接続. 第10回 (社) 計測自動制御学会システムインテグレーション部門講演会論文集, 1643-1646.
7. 岡野和宣・前澤安代・細川陽一郎・松原美絵・増原 宏・吉良敦史 (2009) . フェムト秒レーザーを用いた培養液中細胞間ジャンクションの形成. The papers of Technical Meeting on Bio Micro Systems, IEE Japan, 8, 45-49.
8. 吉良敦史・不破耕・岡野和宣・細川陽一郎・内藤晶・増原宏 (2009) . 自己組織化単分子膜のパターニングで作製した基板を用いた三次元細胞培養の検討. The papers of Technical Meeting on Bio Micro Systems, IEE Japan, 8, 51-55.

<学会発表>

1. Okano, K., Matsui, A., Maezawa, Y., Matsubara, M., Hosokawa, Y., Tsubokawa, H., Kao, J.-J., Li, Y.-K., & Masuhara, H., Laser-Assisted Control of Protein Adsorption for Dynamically Arranging Viable Cells. 10th Conference on Lasers and Electro-Optics Pacific Rim, and the 18th OptoElectronics and Communications Conference / Photonics in Switching 2013 (CLEO-PR&OECC/PS 2013), Kyoto, Japan, June, 2013.
2. Okano, K., Hosokawa, Y., Tsubokawa, H., Masuhara, H., & Kao, F.-J. Photo-dynamic conversion of solid surface from protein-phobic to protein-philic by femtosecond laser through in situ microfabrication. The 16th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry

- and Life Sciences (μ TAS 2012), Naha, Japan, October– December, 2012.
3. Deka, G., Okano, K., & Fu-Jen Kao, Kao, F.-J. Cell Culture Patterning on Photo Engravable Platform by Q-switch Nd:YVO4 Laser, The 17th Biophysics Conference, Taipei, Taiwan, May, 1012.
 4. Okano, K., Matsui, A., Maezawa, Y., Hosokawa, Y., Yamamoto, H., Masuhara, H., & Tsubokawa, H. In-situ dynamic surface control of culture substrate using a laser-directed microfabrication. The 41th Annual meeting of Society for neuroscience, Washington DC, USA, November, 2011.
 5. 坪川宏・岡野和宣. 細胞間ネットワーク構築の時空間的制御が可能なプラットフォームの開発. 電気通信研究所共同プロジェクト研究会「ナノ・バイオの融合による新規バイオデバイスに関する研究」第16回情報バイオエレクトロニクス研究会, 仙台, 2011年2月. (招待講演)
 6. Okano, K. Induction of Cell-Cell Connections by Using in situ Laser Lithography and Monitoring of Cell Activities on a Solid Platform. The 3rd Workshop on Laser Bio/Nano Science, Hsinchu, Taiwan, March, 2011. (Invited)
 7. Okano, K., Maezawa, Y., Hosokawa, Y., Kira, A., Matsubara, M., & Masuhara, H. In-Situ Arrangement of Living Cells on a Fabricated Surface by Laser Micro Tsunami, The 13th Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (μ TAS 2009), Jeju, Korea, November, 2009.
 8. Okano, K., Yu, D., & Liao, I. Cell arrangement and connection of individual cells on a cell array platform by femtosecond laser, The 1st NCTU-NAIST Workshop on “Molecular/Nano Science, Hsinchu, Taiwan, November, 2009. (Invited)
 9. 岡野和宣・于大衛・廖奕翰・前澤安代・松井 愛・細川陽一郎・松原美絵・吉良敦史・増原 宏. フェムト秒レーザーを用いた細胞アレイ用基板上での個別細胞配置と細胞間接続. 第10回 (社)計測自動制御学会 システムインテグレーション部門講演会 S I 000, 東京, 2009年12月.
 10. 岡野和宣・前澤安代・細川陽一郎・松原美絵・増原 宏・吉良敦史. フェムト秒レーザーを用いた培養液中細胞間ジャンクションの形成, 2009年度電気学会センサ・マイクロマシン部門総合研究会, 八王子・東京, 2009年7月.
 11. 吉良敦史・不破耕・岡野和宣・細川陽一郎・内藤 晶・増原 宏. 自己組織化単分子膜のパターニングで作製した基板を用いた三次元細胞培養の検討, 2009年度電気学会センサ・マイクロマシン部門総合研究会, 八王子・東京, 2009年7月.

<参考文献>

1. H. Yamamoto, K. Okano, T. Demura, Y. Hosokawa, H. Masuhara, T. Tanii, S. Nakamura, *Appl. Phys. Lett.* **2011**, *99*, 163701.
2. W.-S. Yeo, C.D. Hodneland, M. Mrksich, *ChemBioChem* **2001**, *7/8*, 590-593.
3. J. Robertus, W. R. Browne, B. L. Feringa, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 354-378.
4. J. Nakanishi, T. Takarada, K. Yamaguchi, M. Maeda, *Anal. Sci.* **2008**, *24*, 67-72.
5. W. He, C.R. Halberstadt, and K.E. Gonsalves, *Biomaterials* **2004**, *25*, 2055-2063.
6. D. Kleinfeld, K.H. Kahler, and P.E. Hockberger, *J. Neurosci.* **1988**, *8*, 4098-4120.

7. J.F. Mooney, A.J. Hunt, J.R. McIntosh, C.A. Liberko, D.M. Walba, C.T. Rogers, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1996**, *93*, 12287-12291.
8. S. Zhang, L. Yan, M. Altman, M. Lässle, H. Nugent, F. Frankel, D.A. Lauffenburger, G.M. Whitesides, and A. Rich, *Biomaterials* **1999**, *20*, 1213-1220.
9. R.S. Kane, S. Takayama, E. Ostuni, D.E. Ingber, G.M. Whitesides, *Biomaterials* **1999**, *20*, 2363-2376.
10. D.W. Branch, B.C. Wheeler, G.J. Brewer, and D.E. Leckband, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **2000**, *47*, 290-300.
11. A.K. Vogt, G. Wrobel, W. Meyer, W. Knoll, and A. Offenhäusser, *Biomaterials* **2005**, *26*, 2549-2557.
12. N.E. Sanjana and S.B. Fuller, *J. Neurosci Methods* **2004**, *136*, 151-163.
13. W.C. Wilson Jr. and T. Boland, *Anatomi. Rec. A* **2003**, *272A*, 491-496.
14. S. S. Shah, J. Y. Lee, S. Verkhoturov, N. Tuleuova, E. A. Schweikert, E. Ramanculov, A. Revzin, *Langmuir* **2008**, *24*, 6837-6844
15. H. Kaji, K. Tsukidate, M. Hashimoto, T. Matsue, M. Nishizawa, *Langmuir* **2005**, *21*, 6966-6969
16. Y. Kikuchi, J. Nakanishi, T. Shimizu, H. Nakayama, S. Inoue, K. Yamaguchi, H. Iwai, Y. Yoshida, Y. Horiike, T. Takarada, M. Maeda, *Langmuir* **2008**, *24*, 13084-13095.
17. S. Peterson, J. M. Alonso, A. Stecht, P. Duodu, M. Goeldner, A. del Campo, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 3192-3195.
18. S. Yamaguchi, S. Yamahira, K. Kikuchi, K. Sumaru, T. Kanoamori, T. Nagamune, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 128-131.
19. G. Pasparalis, T. Manouras, A. Selimis, M. Vamvakaki, P. Argitis, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 4142-4145.
20. S. J. Todd, D. J. Scurr, J. E. Gough, M. R. Alexander, R. V. Ulijn, *Langmuir* **2009**, *25*, 7533-7539.
21. H. Moriguchi, Y. Wakamoto, Y. Sugio, K. Takahashi, I. Inoue, K. Yasuda, *Lab Chip* **2002**, *2*, 125-130.
22. Y. Tsuda, T. Shimizu, M. Yamato, A. Kikuchi, T. Sasagawa, S. Sekiya, J. Kobayashi, G. Chen, T. Okano, *Biomaterials* **2007**, *28*, 4939-4946.
23. V. V. Ghukasyan, F. J. Kao, *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 11532-11540.
24. T. Y. Buryakina, P.-T. Su, W.-J. Syu, C. A. Chang, H.-F. Fan, F.-J. Kao, *J. Biomed. Opt.* **2012**, *17*, 101503.
25. A. Kira, **K. Okano**, Y. Hosokawa, A. Naito, K. Fuwa, J. Yuyama, H. Masuhara, *Appl. Surf. Sci.* **2009**, *255*, 7647-7651.
26. J. Sibarani, M. Takai, K. Ishihara, *Colloid Surf. B-Biointerfaces* **2007**, *54*, 88-93.

謝 辞

本研究は、東北福祉大学感性福祉研究所健康科学研究センターにおける文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業（以下、本事業）（平成 20 年度～平成 24 年度）による私学助成を得て行われました。

また、本事業 4 年度目に実施した外部評価の際には、齋藤秀光先生、福田正人先生、菅村和夫先生、伊良皆啓治先生、伊藤博明先生の各外部評価委員より、多方面にわたり、建設的なご批評、有益なご示唆、また、具体的なお提案を種々いただき、本事業を推進してゆくにあたって誠に大いなるお力添えを賜りました。

外部評価委員の先生方をはじめ、本事業にご尽力賜りました研究者の皆様のご厚情に深く感謝し、御礼申し上げます。

平成 25 年 5 月吉日

東北福祉大学感性福祉研究所 所員一同