

平成 22 年 5 月 25 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007 ～ 2009

課題番号：19591785

研究課題名 (和文) エバネッセント蛍光を利用した血中微量物質定量法の開発

研究課題名 (英文) Estimation of intra-blood substance concentration using evanescent wave fluorescence

研究代表者

土井 松幸 (DOI MATSUYUKI)

浜松医科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：10155616

研究成果の概要 (和文)：(1) エバネッセント蛍光測定法に適した血液内物質を検索し、プロポフォール、リボフラビン、インドシアニングリーンの蛍光を検出した。(2) エバネッセント蛍光測定用血管内カテーテルのプロトタイプモデルを試作した。リボフラビン水溶液にて 530 nm の蛍光が発生していることを観察できたが、コアから蛍光を検出することはできなかった。蛍光強度が微弱であるので、モデルの改良と検出器の感度増強が必要との結論に達した。

研究成果の概要 (英文)：(1) We sought intra-blood substances suitable for measurement using evanescent wave fluorescence. We detected the fluorescence of propofol, riboflavin and indocyanine green. (2) We produced prototype models of intra-vascular catheter for evanescent wave fluorescence measurement. We detected 530 nm of fluorescence on the surface of the catheter immersed in riboflavin water solution. But we could not detect the fluorescence from core of the catheter. We concluded that shape of the catheter should be improved, and that the detector must have much higher sensitivity.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2008 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード：光テクノロジー，血管内カテーテル，血中濃度測定

1. 研究開始当初の背景

近年光テクノロジーの発達はめざましく、生体内微量物質の定量や細胞内レベルでのイオンの移動など医学分野の最先端の研究に利用されている。しかし臨床の医療における光テクノロジーの応用は限定されており、生体内物質の定量に関してはヘモグロビンや注入色素など高濃度の光吸収物質の測定に利用されているのみである。また血管内に留置できる光ファイバー内蔵のカテーテルが臨床使用可能であるが、これの利用方法も血液中のヘモグロビン分画比の測定に留まっている。そこで光ファイバー内蔵血管内カテーテルと最新の光テクノロジーを組み合わせることによって、さまざまな血液中微量物質を連続的に定量できる装置の開発が可能であることを着想した。

2. 研究の目的

これまでの研究で、臨床用のアボット社製光ファイバー内蔵血管内カテーテルを実験動物の大静脈に留置し、血液中の蛍光物質や吸光物質を検出することが可能となった。しかし、現行の測定システムには以下に列挙する制約があることも明らかになった。

- (1) 血液中に大量に存在するヘモグロビンにより 650 nm より短い波長の可視光は、ほぼ完全に吸収されてしまうため 400 nm から 650 nm の可視光を利用できない。
- (2) 血中物質を吸光により検出する測定系では、血液内に入射した光の反射光の強さは、血液内物質の吸光のみでなく光路長により影響を受けるが、現行の測定系では光路長を特定できず、吸光物質の定量が困難である。
- (3) 血中物質に特定の励起光をあてて蛍光強度より濃度を定量する測定法では、励起光の到達距離を制御する必要があるが、現行の測定系では励起光の到達距離は上記の吸光測定系よりはばらつきが小さいものの正確な制御は困難である。
- (4) 900 nm から 1200 nm までの近赤外域の光は臨床使用上極めて有用であるが、臨床用のアボット社製血管内カテーテルに内蔵されている光ファイバーは、900 nm より波長が長い近赤外光を伝達できない。

これまでの研究成果を発展させ本測定法を臨床使用可能な技術として完成させるために、エバネッセント蛍光測定法を応用して上記の問題点を克服することを着想した。エバネッセント光は、屈折率が異なる境界面に光を全反射する臨界角よりも大きな角度で入光させた場合に、境界面から100 nm程度の限定された範囲にわずかにしみ出す光である。エバネッセント光は光学面のごく近傍のみを照射するので、赤血球膜やヘモグロビンによる影響を受けずに光学面表面の物質の情報を取り出すことが可能であり、上記1)の問題点を解決できる。また通常の光に比べて、エバネッセント光の到達できる距離は極めて短く安定しているため、上記3)の問題点である励起光の到達範囲の制御が高い精度で可能となる。さらに上記4)の問題点である1200 nmまでの近赤外光の利用は、光学系の材質を吟味することで解決できる。ただし、上記2)に挙げた吸光測定系の光路長に関する問題はエバネッセント蛍光法では解決できない。

以上のように、エバネッセント蛍光法により蛍光測定系の能力を大きく向上させることが期待できる。そこで以下の研究項目を計画した。

(1) エバネッセント蛍光測定法に適した血液内物質の検索

エバネッセント蛍光を定量化できるエバネッセント蛍光顕微鏡を用いて、本測定法にて定量可能な血液内物質を検索し、測定条件を明らかにする。

(2) エバネッセント蛍光測定用血管内カテーテルの開発

カテーテル表面にエバネッセント光を発現させる光学面を持ち、発生した蛍光を検出器に導くことができる血管内カテーテルを設計し試作する。

(3) 光源と蛍光検出器の作成

エバネッセント蛍光を発生させるためには、強力な単一波長の励起光をカテーテルに供

給する必要がある。強力な光源を、カテーテルに接続させるためのライトガイド、カプラーを作成する。強い励起光に相対して、蛍光は極めて微弱であるので、励起光と蛍光の波長を弁別する高性能のフィルターと高感度の蛍光検出器を備えた装置を作成する。

(4) 試験管内血液中エバネッセント蛍光の測定

上記(2), (3)にて作成した血管内カテーテルと光源・蛍光検出器を用いて、試験管内の血液中に添加した蛍光物質の濃度を定量し、本測定系の精度を検討する。

(5) 実験動物の血中蛍光物質定量

開発したエバネッセント蛍光測定用血管内カテーテルを、実験動物の大静脈内に留置し、本測定系の in-vivo での精度を検討する。

以上の研究によりエバネッセント蛍光を利用した血中微量物質連続定量装置を実用化に向けて開発することを計画した。

3. 研究の方法

(1) エバネッセント蛍光測定法に適した血液内物質の検索

エバネッセント蛍光法にて定量可能な血液内物質を検索し、測定条件を明らかにした。

① 検討の対象となる薬剤

インドシアニングリーン、インジゴカルミン、カルバゾクロムスルホン酸、ブドウ糖、フラビンアデニンジヌクレオチド、プロポフォール、ミダゾラム、デクスメドミジン、フェンタニル、ジギタリス、リドカイン、各種抗生物質を検討対象とした。

② 上記薬剤の蛍光と励起光の波長を 400 nm から 1200 nm の範囲で蛍光分光計を用いて検索した。

③ 適当な波長の蛍光を持つプロポフォール、フラビンアデニンジヌクレオチド、プロポフォールを対象として、エバネッセント蛍光顕微鏡を用いてエバネッセント蛍光を検出した。励起光には半導体レーザー光を用いた。

(2) エバネッセント蛍光測定用血管内カテーテルの開発

光ファイバーは、コアと呼ばれる光を伝達

する芯と、クラッドと呼ばれる鞘の二重構造となっている。コアの材質は、400 nm から 1200 nm の光を減衰させることなく伝達できる材質を選択した。エバネッセント光を発現させる部位はコアのみでクラッドを取り除く必要があるが、クラッドがなくともコアと血液の境界面で励起光が全反射するよう臨界角を超える角度で送光する必要がある。エバネッセント光を発現させる部位の大きさ、形状は、検出対象物質が蛍光を発するのに必要な励起光をエバネッセント光として供給することが可能で、かつ発生した蛍光をコア内に取り入れ検出器まで伝達できるデザインが必要となる。これらの条件を満たすプロトタイプを試作した。

試作したプロトタイプカテーテルからエバネッセント蛍光を検出することができなかつたので、目的の(3), (4), (5) は研究期間中に実施することができなかつた。

4. 研究成果

(1) エバネッセント蛍光測定法に適した血液内物質の検索

エバネッセント顕微鏡を用いて、エバネッセント蛍光を検出する条件を検討した。静脈麻酔薬であるプロポフォールは 280 nm の励起光で 310 nm の蛍光を発し、ビタミン B2 であるフラビタンは、450 nm の励起光で 530 nm の蛍光を発することを確認した。またインドシアニングリーンは 766 nm の赤外光で励起すると、830 nm を最強点とする赤外線のエバネッセント蛍光を発した。いずれの物質も水溶液ではエバネッセント蛍光の検出が可能であったが、血漿中、血液中の条件では検出できなかった。またグルコースの蛍光検出を試みたが、280 nm から 1000 nm の波長の励起光では蛍光を検出できず、グルコースを蛍光にて直接検出することは困難との結論に達した。

(2) エバネッセント蛍光測定用血管内カテーテルの開発

エバネッセント蛍光測定用血管内カテーテルは、検出対象物質が蛍光を発するのに必要な励起光をエバネッセント光として供給することが可能で、かつ発生した蛍光をコア内に取り入れ検出器まで伝達できるデザインが必要である。この条件を満たす形状のプロ

トタイプモデルを試作した。フラビタン水溶液にプロトタイプモデルを浸けて、450 nm 波長の 30 mW 半導体レーザー光を励起光として供給する実験系を作成した。プロトタイプモデルの表面に 530 nm の蛍光が発生していることを観察できたが、コアから蛍光を検出することはできなかった。蛍光強度が微弱であるので、モデルの改良と検出器の感度増強が必要との結論に達した。

(3) 連携研究者
なし

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

Matsuyuki Doi, Evanescent wave catheter: new phototechnology in anaesthesia and intensive care. Journal of Clinical Monitoring and Computing. 査読有 21, 2007, 177-179

[学会発表] (計 2 件)

- ① Matsuyuki Doi, Estimation of intra-blood substance concentrations using clinical fibre-optic catheter. Advance in anaesthesia and intensive care. September 7, 2007, Glasgow, United Kingdom
- ② Matsuyuki Doi, Estimation of intra-blood substance concentrations using clinical fibre-optic catheter. 15th ASEAN Congress of Anesthesiologists, November 13, 2007, Thailand

6. 研究組織

(1) 研究代表者

土井 松幸 (DOI MATSUYUKI)
浜松医科大学・医学部附属病院・講師
研究者番号 : 10155616

(2) 研究分担者

山本 清二 (YAMAMOTO SEIJI)
浜松医科大学・光量子医学研究センター・
准教授
研究者番号 : 60144094

宮川 厚夫 (MIYAKAWA ATSUO)
静岡大学・工学部・学術研究員
研究者番号 : 10283376