

厚生労働省科学研究補助金

萌芽的先端医療技術推進研究事業

ナノテクノロジーによる機能的・構造的
生体代替デバイスの開発に関する研究

平成17年度 総括研究報告書

主任研究者 杉町 勝

平成18(2006)年3月

装置化へ向けた各種素材および基盤技術の統合	97
国立成育医療センター研究所 絵野沢 伸	
機能性プロテオリポソームの開発	103
大阪大学大学院 久保井 亮一	
薬物代謝機能発現環境の最適化	111
大阪大学大学院 大政 健史	
薬剤輸送トランスポーターのメカニズム解析とバイオ人工肝開発に向けた研究	119
京都大学大学院 植田 和光	
リポソーム微細構造観察法の開発	124
独立行政法人 産業医学総合研究所 三枝 順三	
薬物トランスポーター機能発現環境の最適化	130
自治医科大学 藤村 昭夫	
装置化へ向けた各種素材および基盤技術の統合	137
広島大学大学院 黒田 章夫	
3. 刊行物一覧	144
4. 論文別刷り	156

目 次

1. 総括研究報告書	
ナノテクノロジーによる機能的・構造的生体代替デバイスの開発 国立循環器病センター研究所 杉町 勝	1
2. 分担研究報告書	
バイオニックナノデバイスの回路微小化に関する基礎研究 国立循環器病センター研究所 杉町 勝	10
バイオニック医学のための呼吸化学調節系の機能同定に関する基礎研究 国立循環器病センター研究所 高木 洋	19
圧反射系の包括的機能同定および迷走神経刺激の心筋保護に関する基礎研究 国立循環器病センター研究所 川田 徹	27
バイオニック動脈圧反射装置の臨床開発に関する研究 高知大学医学部 佐藤 隆幸	36
体内無線通信に関する研究 株式会社 日立製作所中央研究所 小久保 優	53
バイオニック医学のための鍼刺激による自律神経修飾に関する基礎研究 九州大学大学院 砂川 賢二	65
バイオニックナノインプラント・ナノペーシングシステムのための情報通信技術の研究開発 横浜国立大学大学院 河野 隆二	74
複合酵素を用いるグルコース燃料電池の開発 東北大学大学院 西澤 松彦	83
ナノ分子操作技術による血液界面代替デバイスの開発研究 国立循環器病センター研究所 妙中 義之	91

ナノテクノロジーによる機能的・構造的生体代替デバイスの開発

主任研究者 杉町 勝（国立循環器病センター研究所 部長）

研究要旨：

医学の進歩によってもなお治療が困難な疾患が数多く存在する。これまでの「原因追求型」の研究では治療の目的を達成できない難治性の疾患に対して生体の機能を代替する、または異常になってしまった生体機能を正常化するための人工の医療機器を用いる新しい治療法の実現が必要である。このいわば「機能再建型」の治療に関する研究は、高齢者の増加や疾患の重症化にともないますますその重要性を増すものと考えられる。

本研究では、①ナノテクノロジーを駆使した高機能 LSI、生体内通信、生体燃料電池による循環調節機能の植込み代替医療機器「神経制御システム」プラットフォームの開発および高機能ペースメーカ「超小型分散ペースングシステム」の基盤技術開発、②多くの循環器系植込み機器の血液界面に必要な生体のもつ抗血液凝固性をナノ分子操作技術を用いて代替し実現する方法の開発、③生体細胞の必要な機能のみを抽出し脂質膜上で代替する非細胞性ナノ生化学系の開発を行うことを目的とする。

本年度の研究では下記の成果を達成した。

①バイオニック神経制御システムの二次試作をすすめ、チタン製容への収納と外部給電による通信を両立させた。ナノデバイス開発のためにグルコース燃料電池を開発して電力確保の見込み、1~2GHz 程度の周波数による UWB による生体内通信の見通しを得た。さらに超小型ペースメーカ回路の微小化が可能であることを示した。

②ヘパリン表面固定技術 (T-NCVC コーティング) の抗血栓機序について検討を続け、血漿の低分子タンパク吸着により好中球の活性化が抑制されることを明らかにした。ヘパリン表面固定小児 ECMO では、ポンプ機能、ガス交換性能、抗血栓性に加え、血中の凝固系にも異常がないことが示された。

③血液内固定、厚切片の断層再構成によりリポソームの三次元構築が明らかになった。リポソームに組み込んだ MDR1 の輸送能は脂質のクラスター形成により変化すること、ゲル担体への固定化により凝集が抑制され活性が保持されること、透析アミロイドシスの原因 beta-2-microglobulin が生理的リガンド Megalin により特異的に除去できることが示された。

分担研究者	
杉町 勝	国立循環器病センター研究所 循環動態機能部
高木 洋	国立循環器病センター研究所

循環動態機能部	
川田 徹	国立循環器病センター研究所 循環動態機能部
砂川 賢二	九州大学大学院医学研究院 臨

	床内科部門
佐藤 隆幸	高知大学医学部 循環制御学
河野 隆二	横浜国立大学大学院工学大学院 知的構造の創生部門
小久保 優	㈱日立製作所中央研究所 情報 システム研究センタ通信システ ム研究部 699 研究ユニット
西澤 松彦	東北大学大学院工学研究科
妙中 義之	国立循環器病センター研究所 人工臓器部
絵野沢 伸	国立成育医療センター研究所 移植・外科部門
久保井 亮一	大阪大学大学院基礎工学研究科 化学系専攻
大政 健史	大阪大学大学院工学研究科 応 用生物工学専攻
藤村 昭夫	自治医科大学 臨床薬理学
三枝 順三	(独)産業医学総合研究所 人間 工学特性研究部
植田 和光	京都大学大学院 農学研究科 応 用生命科学専攻
黒田 章夫	広島大学大学院 先端物質科学 研究科

A.研究目的

現代医学は多くの疾患に有効な治療法を提供してきたが、なお治療が困難な疾患も数多く存在する。これまでに確立した治療法は、明らかになった疾患の原因を早期に排除するにより行われてきた(原因追求型)。しかしながら原因が特定できない場合や、多数の原因が複雑に絡む場合、原因を特定してもその排除ができない場合、疾患が完成して後遺症が残ってしまう場合にはこれまでの方法では治療の目的を達成できないことがある。

このような難治性の疾患に対して生体の機能を代替する、または異常になってしまった生体機能を正常化する「機能再建型」の治療の開発が必要である。今後、高齢者の増加や

疾患の重症化にともない「機能再建型」の治療はますますその重要性を増すものと考えられる。

本研究では、①ナノテクノロジーを駆使した高機能 LSI、生体内通信、生体燃料電池による循環調節機能の植込み代替医療機器「神経制御システム」プラットフォームの開発および高機能ペースメーカー「超小型分散ペースングシステム」の基盤技術開発、②多くの循環器系植込み機器の血液界面に必要な生体のもつ抗血液凝固性や種々の特性をナノ分子操作技術を用いて代替し実現する方法の開発、③生体細胞の必要な機能のみを抽出し脂質膜上で代替する非細胞性ナノ生化学系の開発を行うことを目的とする。

A-1.バイオニックナノメディスンによる循環器調節機能デバイスの開発研究

重症心不全は高度な現代医療をもってしてもなお予後の不良な疾患である。近年の調査によれば、重症心不全の5年生存率はこの40年間にわずか10%しか改善していないことが報告されており、心不全患者の治療にはさらに画期的な治療法が必要である。心不全は心臓だけの病気ではなく、循環器系の調節系にも大きな変化がもたされていることが明らかになっている。この循環調節系の異常は心不全の病態の維持、重症化に関与していることも次第に明らかになっており、循環調節系に人工的に介入することで心不全の進行や重症化を阻止できるのではないかと考えられる。

すでにバイオニック迷走神経刺激による心不全治療によって、重症心筋梗塞後ラットの心臓リモデリングが抑制、心機能低下が抑制され、生存率の劇的な改善が見られることが明らかになった。

本年度は、昨年度開発したバイオニック心不全治療のための植込み治療機器の一次試作に関して機能確認を行い、抽出した問題点を改良した二次試作を開発した。それとともに

バイオニック迷走神経刺激による心不全治療の機序をさらに検討し、大動物への展開、副作用への対応の検討を行った。また超小型分散型ペースメーカーに必要な体内通信とバイオ燃料電池の開発を行った。

A-2. ナノ分子操作技術による血液界面代替デバイスの開発研究

循環器系組織は常に血液にさらされているため、それらの機能を代替するデバイスの長期維持は、血液凝固の回避能に大きく依存している。血液適合性はデバイスのナノメートルレベルでの極最表面層の物性と構造で決定される。予め精緻に構造設計されたナノ構造体をデバイス表面にカセット化する To Surface テクノロジ（表面へのナノ操作）を最大限に利用することにより、既存技術では不可能であった長期使用可能な高機能治療デバイスが実現可能となり、高度先端医療の推進が加速されると考えられる。

A-3. ナノ生化学系による非細胞性代謝機能代替デバイスの開発研究

血液濾過透析や血漿交換を組み合わせた血液浄化法は中空糸カラムの出現により急速に発展し、現在も劇症肝炎をはじめ様々な疾患に対する治療法の基幹をなしている。しかしながら、ひとりの患者に対し大量の血漿が必要であることや亜急性劇症肝炎では昏睡からの一時的な覚醒効果はみられるものの最終的な救命率の向上は得られないなど問題点も多い。このような現行の血液浄化法の限界の背景には、中空糸カラムによる血中物質の除去が単に膜の孔径にのみ依存し、生体にとって要不要の別なく排除してしまうという原因が考えられる。

工学的手法を補う目的で肝細胞あるいは腎細胞を利用したバイオ人工肝・人工腎の開発がなされているが、生細胞を用いる場合、医療機器としての品質管理や安全性確保が難し

い。そこで細胞全体から、バイオ人工臓器の構成に必要な機能だけを選択・抽出し、ナノメートルスケールの人工膜上に生理機能を構築するという戦略が考えられる。細胞表面に存在し、細胞内外の物質輸送を行うチャンネルタンパク分子を人工膜に固定化するという新規な発想による血液浄化システムを開発する。こうして再構成された人工合成膜により生きた細胞のように統合した選択的・能動輸送を実現させることが目標である。

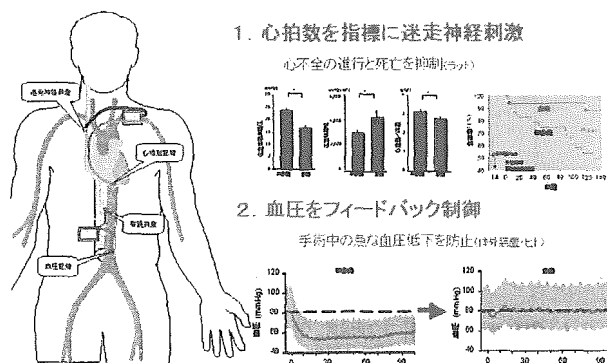
B. 研究結果、C. 研究結果および D. 考察

BCD-1. バイオニックナノメディスンによる循環器調節機能デバイスの開発研究

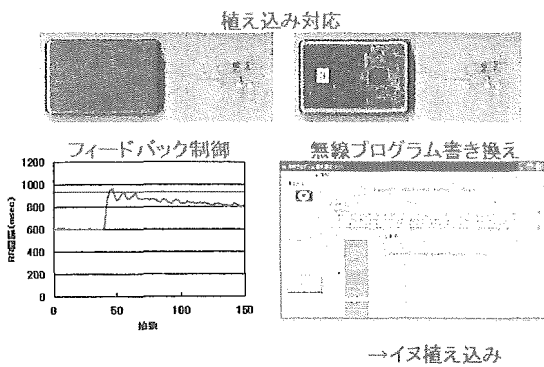
BCD-1-1. バイオニック神経制御システム試作改良

すでに二次試作をすすめており、本年度はチタン製金属容器への収納と無線通信への干渉についてさらに検討を加えた。無線通信は省電力化のために内部電源を用いずに外部より電波を用いて給電する方法を採用している。そのために比較的大きなアンテナを必要とする。アンテナを金属容器内に入れての通信は不可能であるので回路のみを容器内に収納しアンテナはポリマーにより防水する方法を用いた。防水試験、通信実験を行いその性能を確認した。

ナノ化すべきデバイス：循環治療バイオニックデバイス



循環治療バイオニックデバイス開発



BCD-1-2. ナノデバイス開発のための生体燃料電池開発

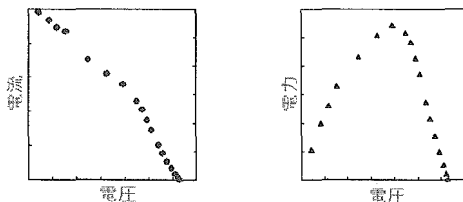
ナノデバイス開発に欠かせない電源の微小化のために、グルコース燃料電池を開発している。アノード、カソードの上に必要な酵素群や補酵素、電子授受体、導電性添加物をすべて高分子ポリマーにより固定化することにより、ボタン電池相当の電力を得ることができた。品質液を血漿や血液に替えた発電実

生体燃料電池

東北大学 西澤研究室

- ・ 生体触媒(酵素)を使用しており、温和な生理的環境下で反応
- ・ 燃料や材料を生体に無害な物質で構成でき、医用電源デバイスに求められる安全性に優れる
- ・ 電解質を収納する空間が不要であり、電極の容積のみでサイズが決まる(小型化が容易)
- ・ 電力は電極面積を増やすことで増加でき、電極の容積あたりの面積を増やすことが重要となる

発電実験



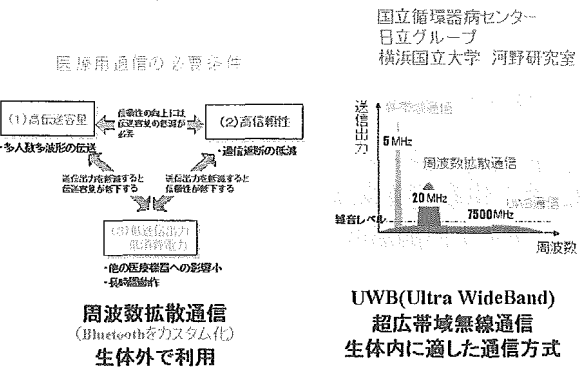
1. 電極面積を確保できれば、電力は確保できる
2. 起電力は必要電圧に比し低い
3. 内部抵抗は比較的大きい(電極を大きいほど低下)
4. 長期安定性は要検討

験では電力は減少するものの発電が可能であった。

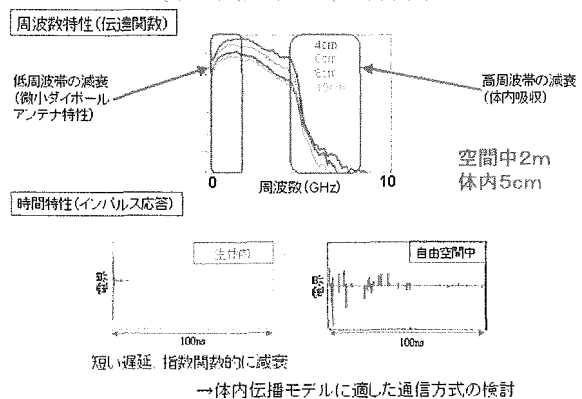
BCD-1-3. ナノデバイス開発のための生体内通信開発

ヒトのトルソを模擬した FDTD 法によるシミュレーションおよびファントムを用いた実験の結果はよく一致し、1~2GHz の電波に生体内通信のゲインのピークがあり、それ以下の周波数ではアンテナの効率が悪く、それ以上の周波数では生体による減衰が大きいため通信に不適である。一方、生体内多重反射の影響は比較的少なかった。これらのことから比較的低い周波数(1~2GHz)の電波を用いた UWB 通信により生体内通信が可能である見通しがたった。

生体内通信: UWB通信



生体内吸収と多重反射

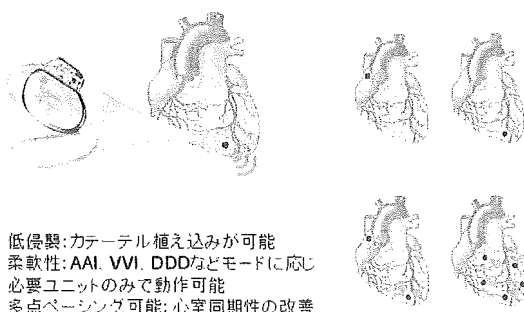


BCD-1-4. 超小型分散ペーシングシステムの開発

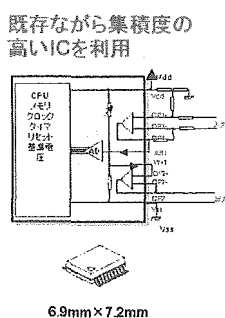
超小型ペースメーカー開発のために、既存半

導体による微小化を検討した。近年の半導体技術の進展により、CPUのみならず入出力回路やクロック、タイマ、基準電圧、メモリなどを含む高い集積度のLSIが開発されている。ペースメーカーの設計を行ったところ、約7mm角の回路によりペースメーカー機能が実現できる見通しができたため現在詳細設計とソフトウェアの開発を行っている。

ナノデバイス化:微小ペースメーカー



ナノデバイス化の試作



BCD-2.ナノ分子操作技術による血液界面代替デバイスの開発研究

BCD-2-1. ナノ分子アーキテクチャー表面処理技術の効果発現メカニズムに関する研究

本年度の研究として、T-NCVCコーティングを行った高分子材料に吸着する血漿中タンパク質が、好中球に及ぼす影響について検討を行った。好中球は、血液細胞のなかでも液性炎症に関連する様々なメディエータの分泌を行う重要な細胞とされ、高分子素材に対す

る好中球の反応は、その素材の生体適合性を決める要因の一つである。本研究は、血漿タンパクを吸着させたT-NCVCコーティングプレート（ポリスチレン製）および無処理プレートを用い顆粒球分画を1時間インキュベーションし、その間に好中球内から遊離したラクトフェリンを測定することにより、器材表面での好中球の異物に対する活性化について検討した。実験において、生体での使用条件に近似した血漿・HBSS混液に懸濁した顆粒球を各種プレート中でインキュベーションしたとき、好中球から遊離したラクトフェリンの割合は約2-4%であり、器材表面に対する好中球の活性化は軽度であった。しかし、血漿成分を含まずHBSS液のみに懸濁した顆粒球を各種プレート中でインキュベーションして好中球の活性を検討したところ、好中球から遊離したラクトフェリンの割合は無処理プレートで $6.6 \pm 0.5\%$ 、1%T-NCVCコーティングプレートで $13.9 \pm 2.5\%$ 、3%T-NCVCコーティングプレートで $22.4 \pm 4.2\%$ であり、いずれのプレートにおいても血漿成分を含んだ培養液を使用した群と比較し器材面に対する好中球活性の亢進が認められ、特にT-NCVCコーティングプレートについては、有意に高値を示していた。以上より、T-NCVCコーティングについては、培養液中にタンパク質を含んでいない状態では、好中球が活性化されやすく、本来の生体適合性を発揮できない状態にあることが示された。従って、T-NCVCコーティングがその生体適合性能を十分に発揮するためには、血漿タンパク質の介在が重要であり、ナノ単位レベルで制御されたコーティング表面の分子構造とタンパク質との相互に作用し、より生体膜に類似した状態に変化するため、好中球の異物に対する活性化を抑制していると考えられた。

BCD-2-2.高信頼性人工心臓の開発

本年度の研究では、昨年度より引き続き特

殊ポリオレフィン製中空糸膜からなる小児用人工肺の血液接触面に本表面処理技術を適用し、より優れた抗血栓性および生体適合性を寄与した新規小児用人工肺を開発し、その長期にわたる性能安定性を検討することを目的とした。実験では、本 T-NCVC コーティングを施した小児用 ECMO システムを用いて、長期動物実験にて、システムのガス交換性能、抗血栓性、耐久性について検討を行った。長期動物実験は 2 例行われ、1 例目 67 日間、2 例目 50 日間にわたり小児用試験人工肺および遠心ポンプの交換を要することなく小児用 ECMO システムによる静動脈バイパスを維持することが可能であった。2 例とも全灌流期間を通して全身状態の異常は一切認められず、小児用 ECMO システムによるバイパス血流量は 1.5 L/min を維持することが可能であった。血中ヘパリン濃度は、全測定スケジュールにおいて 0.04 I.U./mL 以下を示していた。全血凝固時間(ACT)は 111-167 sec, 活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)は 39.9-72.5 sec と全測定スケジュールを通して生理的な範囲内で推移した。また、血小板数は 1 例目で ECMO 開始 24 時間後 76.2×10^4 /mL から 9 週間後 82.93×10^4 /mL, 2 例目で ECMO 開始 24 時間後 61.0×10^4 /mL から 7 週間後 55.3×10^4 /mL とほぼ正常範囲内に収まっていた。両実験において小児用試験人工肺にも明らかな血漿漏出はみられなかった。試験人工肺の酸素移動量は 1 例目で 67.3-81.3 mL/min, 2 例目で 58.9-73.5 mL/min, 炭酸ガス移動量は 1 例目で 15.9-65.0 mL/min, 2 例目で 24.4-57.6 mL/min の範囲で維持する事が可能であった。いずれの小児用試験人工肺も、24 時間に一回 10min 程度ガス流量を上げて乾燥を行うことにより、ガス交換性能の著しい低下は認められず、全測定スケジュールを通して十分な性能を示していた。以上より、本小児 ECMO システムは高い抗血栓性、長期耐久性を保持したままさらに小型・低充

填量化を達成しており、臨床応用にあたっては小児領域における重症呼吸・循環不全症例の救命に寄与するものと思われた。

BCD-3. ナノ生化学系による非細胞性代謝機能代替デバイスの開発研究

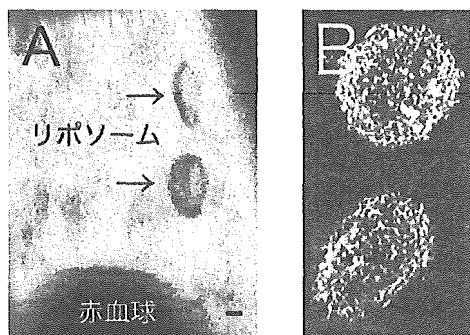
BCD-3-1. ナノスケール微細構造の視覚化に関する研究

顕微鏡観察で重要なことは、いかに自然の状態を保持した固定を行うかである。顕微鏡観察用試料の作成には多くのステップを要し、その多くが力学的な応力負荷を伴い、検体構造を歪めることになる。本研究開始にあたり、リポソームの電子顕微鏡写真の文献を多く調べたが、ほとんどが走査電顕写真で、少数の透過電顕像は我々が要求する微細構造の観察に適したものではなかった。そこで固定法を種々検討した結果、リポソーム懸濁液を血管内に封入し、血液とともに固定する方法が優れることがわかった。この発想の元は、生体組織は非常に微細な部分まで固定化でき、透過電顕像が得られるということからであった。実際、昨年までに報告したように、血管内封入固定法によると、きれいな脂質膜構造が確認でき、本グループで調製、使用しているリポソームは概ね 6 層程度の脂質膜であった。

本年度、切片の厚さを調整し、コンピュータ断層撮影技術を組み合わせることでさらに情報量の多い観察が可能となった。凍結固定と異なり、血管内封入固定法の場合、切片の厚さを自由に変えられる。今まではなるべく薄い標本を得ようとしていたが、逆に、ある程度厚みのある標本を作り、近年発展した断層撮影と組み合わせることによって、三次元画像観察が得られた。半球に近い立体を観察できるため、仮にリポソーム 1 分子当たりの MDR タンパク数が数個であっても、観察が可能である。

視覚化の目的は、MDR1 などのトランスポーターを組み込んだプロテオリポソームにお

けるタンパク質配向性の確認である。タンパク配向性については、すでに久保井分担者がリポソーム化前後の活性値の比較から85-86%が内向き輸送能を示すとのデータを出している。この数値を確認し、さらにリポソーム当たりの組み込みタンパク分子数を視覚的に計数したいと考えている。これらを電顕で追認するには、リコンビナントタンパクである MDR1 が有する人工配列の Histidine-Tag (6分子の連続ヒスチジン配列) 部分を認識する抗体を用いた免疫電顕を用いる。今までその手法の障害になっていたのは1個のリポソームに取り込まれるMDR1分子数である。仮に数個であった場合、薄切部分にその分子が存在する可能性は極めて少なく、観察はほぼ不能であった。それが本年度の研究によって克服できた。また、他の多くの微細構造物の観察にも応用できるものと考えられる。

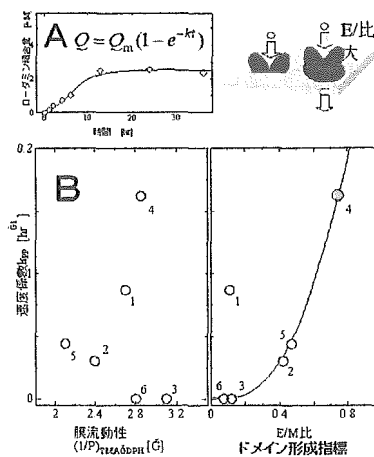


BCD-3-2. MDR1 の活性に対するナノスケール膜環境の解析

MDR1 を薬物排出ポンプとして用いるために、周囲環境における最適な脂質組成を決定する必要がある。従来、MDR1 の機能は基質結合速度で評価されている。そこで、基質としてのローダミン結合量の経時変化をもとに検討したところ、図Aのように、一次速度論的に反応が進むことから、みかけの結合速度係数 k を求め、反応の指標とすることにした。

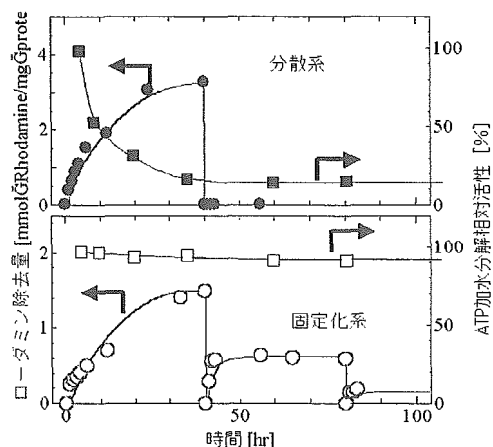
多くの研究で、リポソームの機能は膜流動性や不均一構造に依存することが指摘されて

いる。そこで、種々の脂質組成で形成したプロテオリポソームについて速度係数 k を求めた。これと、それぞれのリポソームの膜流動性およびクラスター形成指標 E/M 比についてプロットした (図B)。ここで言う膜流動状態とは、大まかにゲル相、液晶相に分類される。これらは、蛍光プローブの異方性解析から求められるので、今回、疎水性蛍光プローブ TMA-DPH を用いて評価した。一方、クラスター形成指標の E/M 比 (eximer/monomer 比) は、ピレンなどの一部の蛍光プローブが二量体 (eximer) を形成すると量子収率が向上し、monomer 状態に比べて蛍光強度が大きくなることから求められる。E/M 比が大きくなるほど、二量体を形成する環境であることが示唆される。そこで、一般的に E/M 比は脂質膜上でのクラスター形成指標と考えられている。今回は、脂質混合成分の一方に溶解しやすいピレン誘導体を選択し、その E/M 比を測定した。図Bで明らかなように、速度係数 k は膜流動性ではなく、E/M 比との相関性が認められた。すなわち、MDR1 の機能は脂質膜の不均一構造あるいはクラスター構造によって制御が可能であることがわかった。特に、DOPC (Dioleoyl phosphatidyl choline) / DOPE (Dioleoyl phosphatidyl ethanol amine) が作るクラスターが MDR1 にとって最も適することが示唆された。もう一つの機能評価指標として、MDR1 による最大排出量を評価したところ、この DOPC/DOPE リポソームは、排出



量、ATPase 活性ともに良い成績を示すことがわかった (データ省略)。

次に、プロテオリポソームの活性保持条件を検討した。リポソーム懸濁系では、ほぼ 2 日で活性が完全に消失し、対象基質の結合も失われるため、繰り返し使用が不可能だった (図上)。これは膜タンパク質の凝集が原因であることを突き止めたので、凝集抑制を期待して、リポソームをゲル担体に固定化した。すると、予想通り 100 時間以上経過しても活性が保たれた。また、40 時間ごとに繰り返し使用を行った結果、最低 2 回は連続で繰り返し使用が可能だった (図下)。今後、ゲル担体固定を機軸に医療機器としてのマクロ構造を検討したい。

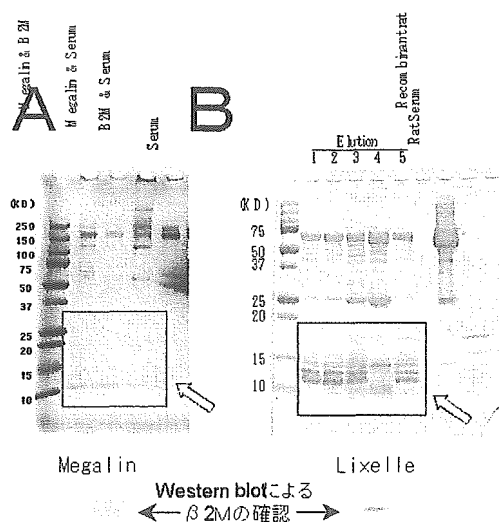


BCD-3-3.透析アミロイドーシス原因物質の生体リガンドによる除去

生体高分子を医療機器に利用する目的で、透析アミロイドーシスの原因物質である beta-2-microglobulin を生理的リガンドである Megalin を利用することを検討している。現在、同様な目的に、セチルアミン (ヘキサデシルアミン) 分子を用いたカラム (商品名リクセル、Lixelle) が用いられている。セチルアミンは基本的に疎水性タンパク全般にアフィニティーを有するもので、リクセルは担体の入口径を狭めることにより分子量 3 万以下のタンパク分子のみが吸着されるように設計されている。しかしながら、その分画で多

くの血清タンパクが吸着されると考えられている。実際、今回我々はリクセルに充填されているビーズを取り出して、ラット血液と接触させたところ、非常に多くのタンパクが吸着されることがわかった (図 B 枠内)。そこで、前年度に確立したリコンビナント Megalin cluster II 部位を反応させたところ、このような非特異的吸着は起きなかった (図 A 枠内)。さらに、Western blotting によれば、リクセルと同様に明らかに beta-2-microglobulin は吸着されていた。

リクセルは工学的にはよく設計された吸着カラムであるが、今回の研究で明らかになったように、やはり生理的リガンドは、生体機能の本態である特異性に優れることがわかった。Megalin そのものは、巨大分子であるが、今回用いたのは beta-2-microglobulin にアフィニティーがあるとされる Cluster II 部分 (分子量 2 万余) である。現在、さらにそのアフィニティー決定部位を調べ、工業的応用が容易になるような中小ペプチド鎖にまで、限定化することを試みている。



E. 結論

バイオニック神経制御システムの二次試作をすすめ、チタン製容への収納と外部給電による通信を両立させた。ナノデバイス開発の

ためにグルコース燃料電池を開発して電力確保の見込み、1~2GHz 程度の周波数による UWB による生体内通信の見通しを得た。さらに超小型ペースメーカー回路の微小化が可能であることを示した。

ヘパリン表面固定技術 (T-NCVC コーティング) の抗血栓機序について検討を続け、血漿の低分子タンパク吸着により好中球の活性化が抑制されることを明らかにした。ヘパリン表面固定小児 ECMO では、ポンプ機能、ガス交換性能、抗血栓性に加え、血中の凝固系にも異常がないことが示された。

血液内固定、厚切片の断層再構成によりリポソームの三次元構築が明らかになった。リポソームに組み込んだ MDR1 の輸送能は脂質のクラスター形成により変化すること、ゲル担体への固定化により凝集が抑制され活性が保持されること、透析アミロイドーシスの原因 beta-2-microglobulin が生理的リガンド Megalin により特異的に除去できることが示された。

F.健康危険情報

G.研究発表

H.知的所有権の取得状況

各分担報告書参照

ナノテクノロジーによる機能的・構造的生体代替デバイスの開発
バイオニックナノメディスンによる循環調節機能代替デバイスの開発研究
バイオニックナノデバイスの回路微小化に関する基礎研究

分担研究者 杉町 勝（国立循環器病センター研究所 部長）

研究要旨：

バイオニック治療機器のナノデバイス化は体内からの連続的な自律治療により新しい治療論理を実現できる。バイオニック治療機器のナノデバイス化には、電源の微小化、生体内通信、複雑な論理回路の小型化、省電力化、センサや電極の長寿命化などの課題をひとつひとつ克服する必要がある。本年度は回路の小型化を検討し、集積度の高いワンチップマイコンを用いることで、ナノペースメーカー程度の治療論理は実現できることが明らかになった。既存のチップでも7mm角程度であり、電源の微小化、生体内通信が実現した際にはすぐにでもナノペースメーカーが実現できると考えられた。

A. 研究目的

私たちは、生体の神経系と治療機器がインターフェイスし生体による機能調節を修飾することにより、生体と植え込み治療機器が融合して生体を正常な状態に近づけるように行うバイオニック治療を開発した。生体の調節機能が損失した場合にはこれを補い、異常化した場合には正常化することにより種々の疾患が治療できると考えられる。バイオニック治療を実現するために、治療機器の開発とその微小化（ナノデバイス化）を行っている。

バイオニック治療機器のナノデバイス化実現のためには私たちは以下のような各項目の開発が必要であると考えます。

- ① 微小化すべきデバイス
- ② 微小化のための基盤技術
 - a. 電源の微小化（微小化が困難）
 - b. 生体内での通信の確保（微小化に必要）
- ③ 電子回路の微小化と省電力化

① 微小化すべきデバイス

私たちのこれまでの研究により、バイオニック治療機器の中で、臨床応用上有用でありかつ微小化に適したバイオニック機器を選定した。その結果、バイオニック血圧制御機器およびバイオニック心不全治療機器を選択した。

バイオニック血圧制御による血圧安定化は、血圧測定値をもとに脊髄などを用いて交感神経を刺激するものである。治療は生体興奮膜を利用した神経刺激で効率的に実現することができナノデバイス化に適しているが、血圧センサの小型化・長寿命化などが今後必要である。

バイオニック心不全治療は、異常化した循環調節を是正する治療論理により慢性心不全の進行や致死率を抑制するものである。心拍数のモニタや迷走神経刺激は電子回路によりいずれも効率的に行うことができ、ナノデバイス化に適した治療装置と考えられる。

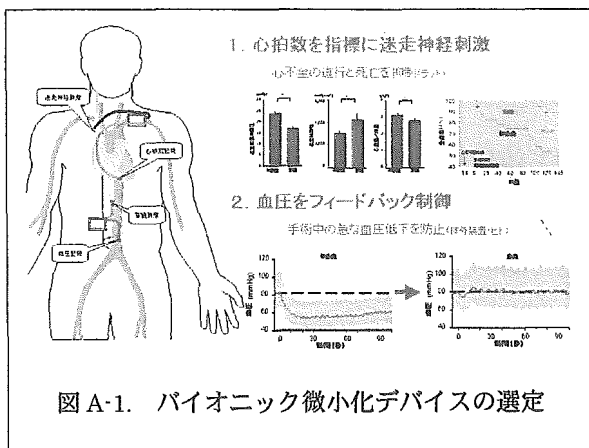


図 A-1. バイオニック微小化デバイスの選定

②a. 電源の微小化

生体への植え込み機器を格段に微小化するためには電源の微小化が必要である。私たちは生体液そのものを燃料とする生体燃料電池の開発をすすめている。

生体燃料電池では、電池の電解質を格納する空間が不要で、電池の容積は陽極、陰極の占める容積のみとなり大幅な微小化が可能となる。また発電のための燃料は体内からほぼ無限に提供されるため、原理的には半永久的に動作可能である。生体酵素の基質特異性のために燃料の改質も不要となる。さらに電極上に固定する酵素や電子媒介物質も生体に固有のものを用いることで安全性の確保が容易となり、生体内という温和な条件での動作が担保される。

これまでの本プロジェクトの分担研究（東北大学、西澤研究室）により、生体燃料電池によりボタン電池程度の電力が発電可能であることが明らかになった。

②b. 生体内での通信の確保

植え込み機器を微小化した場合、各機器は植え込まれた局所の情報を集めるセンサやその部位に刺激を与えるアクチュエータとして作用する。しかしながら適切な治療を実現するためには必ずしもセンサとアクチュエータは同一の部位に作用するので十分とは限らない。これらが連携して動作するために、生体

内での高速でセキュアな低電力通信を開発する必要がある。

私たちは、高速、セキュア、低電力の3条件を同時に満たす超広帯域UWB通信による生体内通信を開発している。これまでの本プロジェクト分担研究（横浜国立大学、河野研究室）により1～2GHz付近の周波数帯域を用いたUWB通信により体内での5cm程度の通信が可能であり、体内での多重反射による通信への影響も大きくないことが明らかになった。

③ 電子回路の微小化と省電力化

電子回路はこれまでに半導体技術の革新により大幅な微小化が計られてきた。また微小化は同時に低消費電力化を意味するため、電源の小型化にも寄与してきた。

しかしながら今後、治療論理の複雑化や組合せ、治療論理を自由に変更する必要などからより汎用的な電子回路による植え込み装置の実現が求められている。治療論理の個人ごとや病態の変化に応じた適応的な変化では電子回路を作動させるプログラム自体を書き換える必要があり、そのための回路が必要となり電力消費も増えることが予想される。

上記のように本プロジェクトの各分担研究により微小化すべきデバイスが選定され、電源の微小化や生体内での通信の確保が現実的となってきた。これらの結果を受け、本年度の本研究では電子回路の微小化の基礎検討を行った。

B. 研究方法

B-1. 電子回路微小化のためのハードウェアに関する基礎研究

電子回路微小化の検討のために、比較的治療論理が単純である心臓ペースメーカーをとりあげて検討した。電子回路の微小化を行っておけば電源や通信の問題が解決すれば、ナノ

デバイス化が比較的容易に達成できるからである。

ナノデバイス化ペースメーカはカテーテルや内視鏡による心内膜、心外膜への植え込みが可能であることから侵襲が低く、ペースメーカを必要とする患者の QOL を格段に向上させる (図 B-1)。

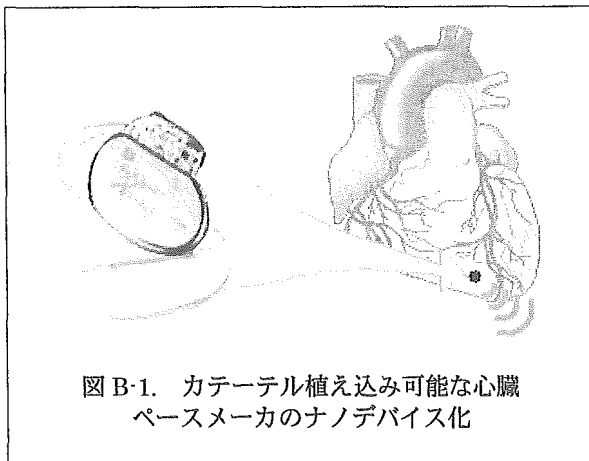
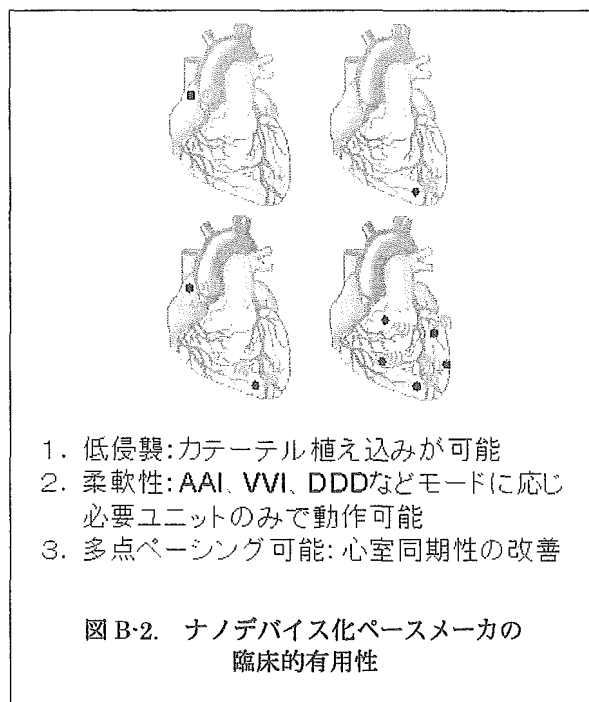


図 B-1. カテーテル植え込み可能な心臓ペースメーカのナノデバイス化

またナノデバイス化ペースメーカは AAI、VVI、DDD といったペーシングのほかにも心室再同期ペーシングに用いることができる。必要な部位に必要な数のペーシングユニットを



1. 低侵襲:カテーテル植え込みが可能
2. 柔軟性:AAI、VVI、DDDなどモードに応じ必要ユニットのみで動作可能
3. 多点ペーシング可能:心室同期性の改善

図 B-2. ナノデバイス化ペースメーカの臨床的有用性

用いることができるので、現在の冠静脈洞からのペーシングでは効果が少ない症例に対しても最適な部位、最適な数のユニットによるペーシングを行うことができる (図 B-2)。

超小型ペースメーカ開発のために、既存半導体による微小化を検討した。バイオニック治療機器は基本的には入出力回路を有する CPU であるので、該当する既存 CPU の中でいわゆるワンチップマイコンと呼ばれるチップの集積度を調査した。またバイオニック治療機器として必要な機能単位が回路として集積されているかどうか検討した。

B-2. 電子回路微小化のためのソフトウェアに関する基礎研究

後述のように、微小ペースメーカ実現のためには、機能単位の集積度が高い PIC マイコンを用いることが必須であるため、PIC マイコンの開発環境において VVI ペーシング同等の機能を実現するようにソフトウェアを設計した。実装されているプログラブルタイマと割り込み処理の機能を用い、VVI ペーシング機能を作成した。

C. 研究結果

C-1. 電子回路微小化のためのハードウェアに関する基礎研究

図 C-1 はバイオニック治療機器に要求される基本構成を機能単位ごとに示したブロック

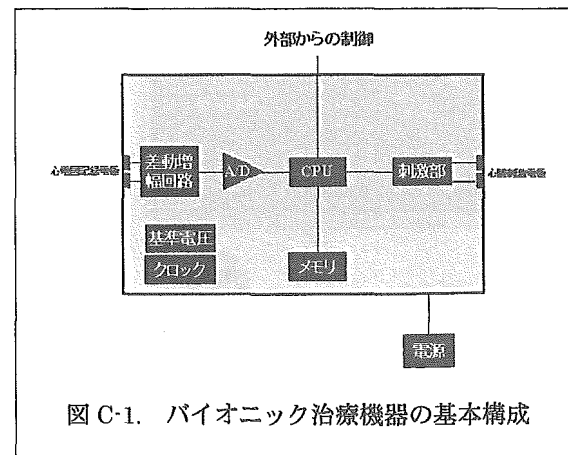
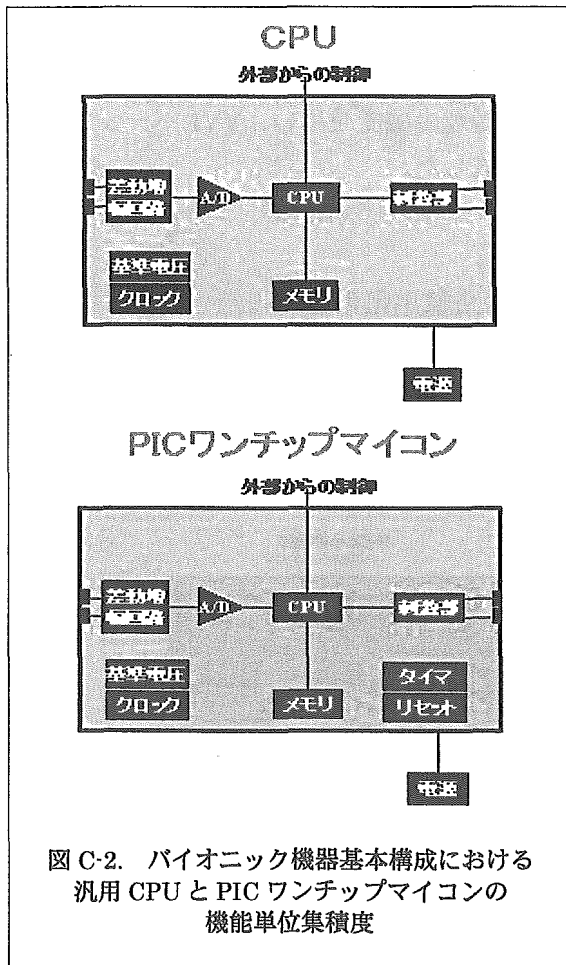


図 C-1. バイオニック治療機器の基本構成

図である。生体信号を入力するための電極、差動増幅回路およびアナログ信号量子化 (AD 決め決められた制御手順 (プログラム) を記憶するメモリ、外部からプログラムや制御パラ変換) 装置、生体に制御信号を送るための制御部 (DA 変換装置、TTL 出力など) および刺激電極、予メタを変更するための (無線) 通信、クロック、基準電圧などが、実際に制御を行う CPU のほかに必要である。

図 C-2 は PC など に用いられる汎用 CPU と今回使用を検討している PIC ワンチップマイコンの機能単位ごとの集積度を比較したものである。汎用 CPU は高性能であるがバイオニック治療機器を構成するために必要な種々の機能単位は通常チップ外に別途、実装される。そのために汎用 CPU を用いた微小化は困難である。



一方の PIC ワンチップマイコンでは CPU の性能は限られているが、図に示すように多くの機能単位を CPU と同一チップ上にすでに実装されている。図 C-2 下図において赤色で示す機能単位はほぼ全部の PIC マイコンで実装されており、褐色で示す機能単位は一部の PIC マイコンで実装されている。このことから PIC マイコンの機種を適切に選択すればバイオニック治療機器の微小化が比較的容易に行うことができるものと期待される。

本研究では、PIC マイコンの中より上記の条件を満たすものとして、Microchip 社の PIC16F785 を選択して、微小化ペースメーカの機能設計を行った。図 C-3 に示すように PIC16F785 には図 C-2 下に示す機能単位がすべて実装されている。なお、タイマやリセット機能はバイオニック治療機器やペースメーカのソフトウェア開発のために実装されていることが望ましいが、上記機種では実装されている。PIC16F785 のうちで SSOP 型のものを用いれば約 7mm 角の回路によりペースメーカ機能が実現できると考えられた。

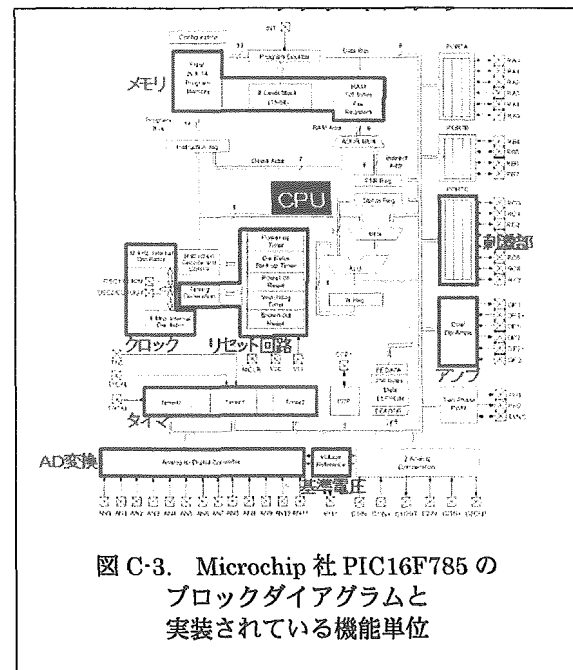


図 C-4 は PIC16F785 に VVI ペースメーカ機能を実現するための回路設計である。わずかな外付け部品（多くは抵抗素子）で機能が実現できることが明らかになった。

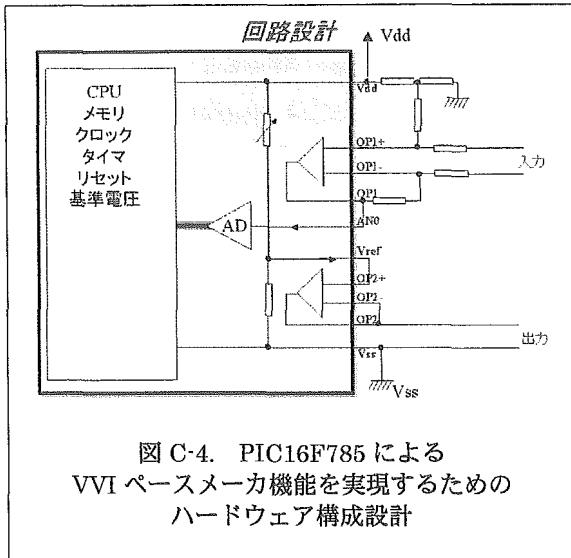


図 C-4. PIC16F785 による VVI ペースメーカ機能を実現するためのハードウェア構成設計

C-2. 電子回路微小化のためのソフトウェアに関する基礎研究

図 C-5 は PIC16F785 を VVI ペースメーカとして機能させるためのソフトウェアの概略である。豊富な機能の内蔵により非常に簡単なプログラムによって VVI ペースメーカが実現できることが明らかになった。

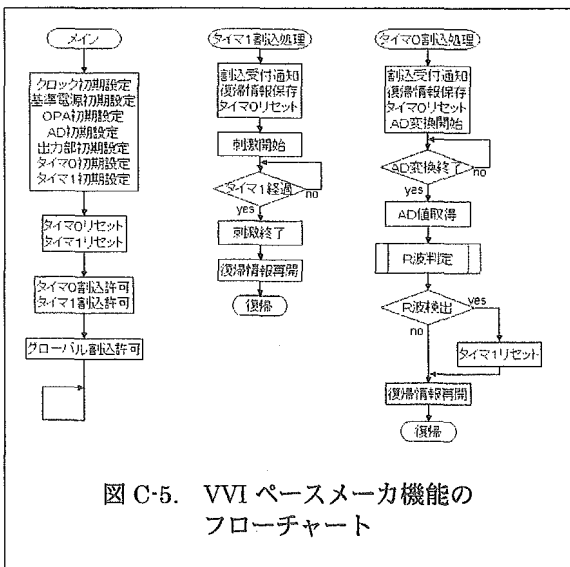


図 C-5. VVI ペースメーカ機能のフローチャート

具体的には、PIC16F785 は内部クロック 125kHz で動作させ、OPA を入力用、出力用に 1 個ずつ使用する。基準電源を設定しこれを電気刺激出力電圧として用いる。また AD 変換を 1kHz ごとに、電気刺激出力を設定 RR 時間ごとに行うためにそれぞれタイマ 0、タイマ 1 を用いる。

これらのタイマは内部クロックにより駆動し内部クロックの $1/4$ の周波数 (31kHz) でカウントする。タイマ 0 は 8 ビットのカウンタであり 1kHz ごとに割り込みが発生するように設定が可能である。またタイマ 1 は 16 ビットのカウンタであり、2 倍プレスケーラを用いることにより、 $1/16\text{m}$ 秒刻みで 4 秒までの RR 間隔設定が可能である。また電気刺激の持続時間は $1/16\text{m}$ 秒刻みで設定できる (下記)。

なお電気刺激の持続時間はタイマ 1 割り込み内でポーリングにより処理するが、その間にもタイマ 0 の割り込みは許可する。ただし不応期の設定により R 波の検出は禁止する。

タイマ 0 の割り込み内で R 波が検出された場合 (自己 R 波検出) にはタイマ 1 をリセットして再度 RR 時間が経過するまでは電気刺激を発生させないようにする。

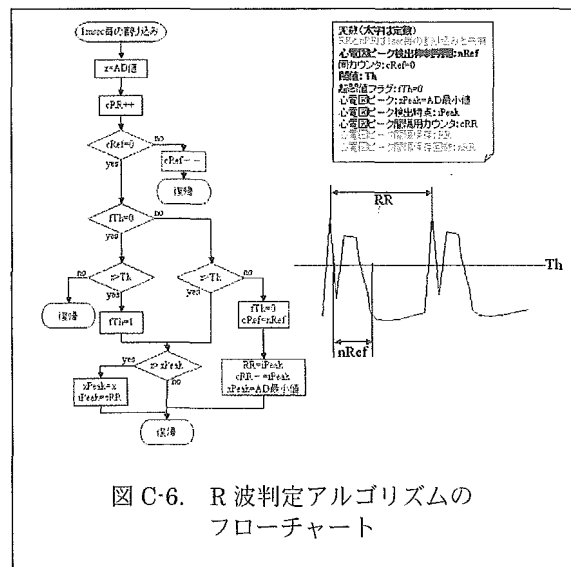


図 C-6. R 波判定アルゴリズムのフローチャート

図 C-6 は R 波判定のアルゴリズムの一例をフローチャートで示したものである。

D. 考察

本プロジェクトでは、バイオニック植え込み治療機器の低消費電力を図るために微小化（ナノデバイス化）を進めている。その具体的な戦略のなかで、微小デバイスに搭載する治療論理、具体的なアプリケーションの選択をすでに行った。また微小化に必要な基盤技術である生体を利用した電源と生体内通信の開発に取り組み、一定の成果をあげ見通しを立てることができた。

したがって本年度はこれらの成果を受け、実際の電子回路を微小化すると取り組んだ。電子回路はこれまでに半導体技術の革新により大幅な微小化が計られていた。また微小化は同時に低消費電力化を意味するため、電源の小型化にも寄与してきた。専用のカスタム LSI を製造すればさらに微小化と消費電力化を進めることは可能である。

しかしながら今後、治療論理の複雑化や組み合わせ、治療論理を自由に変更する必要などからより汎用的な電子回路による植え込み装置の実現が求められている。治療論理の個人ごとや病態の変化に応じた適応的な変化では電子回路を作動させるプログラム自体を書き換える必要があり、そのための回路が必要となり電力消費も増えることが予想される。そこで今回はあくまでも既存の電子部品を使った検討を行った。その結果、集積度の高い 7mm 角程度の大きさのワンチップマイコンを用いることで、ナノペースメーカー程度の治療論理は実現できることが明らかになった。

E. 結論

バイオニック治療機器のナノデバイス化は体内からの連続的な自律治療により新しい治療論理を実現できる。バイオニック治療機器のナノデバイス化には、電源の微小化、生体

内通信、複雑な論理回路の小型化、省電力化、センサや電極の長寿命化などの課題をひとつひとつ克服する必要がある。本年度は回路の小型化を検討し、集積度の高いワンチップマイコンを用いることで、ナノペースメーカー程度の治療論理は実現できることが明らかになった。既存のチップでも 7mm 角程度であり、電源の微小化、生体内通信が実現した際にはすぐにでもナノペースメーカーが実現できると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

G-1. 論文

1. Short-term electroacupuncture at Zusanli resets the arterial baroreflex neural activity toward lower sympathetic nerve activity. Michikami D, Kamiya A, Kawada T, Inagaki M, Shishido T, Yamamoto K, Ariumi H, Iwase S, Sugenoja J, Sunagawa K, Sugimachi M. Am J Physiol Heart Circ Physiol (in press) 2006
2. Automated drug delivery system to control systemic arterial pressure, cardiac output, and left heart filling pressure in acute decompensated heart failure. Uemura K, Kamiya A, Hidaka I, Kawada T, Shimizu S, Shishido T, Yoshizawa M, Sugimachi M, Sunagawa K. J Appl Physiol 100: 1278-1286, 2006
3. Vagal stimulation suppresses ischemia-induced myocardial interstitial norepinephrine release. Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Li M, Ariumi H, Mori H, Sunagawa K,

- Sugimachi M. Life Sci 78: 882-887, 2006
4. Dynamic and static baroreflex control of muscle sympathetic nerve activity (SNA) parallels that of renal and cardiac SNA during physiological change in pressure. Kamiya A, Kawada T, Yamamoto K, Michikami D, Ariumi H, Miyamoto T, Shimizu S, Uemura K, Aiba T, Sunagawa K, Sugimachi M. Am J Physiol Heart Circ Physiol 289: H2641-H2648, 2005
 5. Low-frequency oscillation of sympathetic nerve activity decreases during development of tilt-induced syncope preceding sympathetic withdrawal and bradycardia. Kamiya A, Hayano J, Kawada T, Michikami D, Yamamoto K, Ariumi H, Shimizu S, Uemura K, Miyamoto T, Aiba T, Sunagawa K, Sugimachi M. Am J Physiol Heart Circ Physiol 289: H1758-H1769, 2005
 6. Static interaction between muscle mechanoreflex and arterial baroreflex in determining efferent sympathetic nerve activity. Yamamoto K, Kawada T, Kamiya A, Takaki H, Sugimachi M. Sunagawa K. Am J Physiol Heart Circ Physiol 289: H1604-H1609, 2005
 7. Muscle sympathetic nerve activity averaged over 1 minute parallels renal and cardiac sympathetic nerve activity in response to a forced baroreceptor pressure change. Kamiya A, Kawada T, Yamamoto K, Michikami D, Ariumi H, Miyamoto T, Uemura K, Sugimachi M. Sunagawa K. Circulation 112: 384-386, 2005
 8. Myocardial interstitial choline and glutamate levels during acute myocardial ischaemia and local ouabain administration. Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Shishido T, Mori H, Sugimachi M. Acta Physiol Scand 184: 187-193, 2005
 9. Prediction of circulatory equilibrium in response to changes in stressed blood volume. Uemura K, Kawada T, Kamiya A, Aiba T, Hidaka I, Sunagawa K, Sugimachi M. Am J Physiol Heart Circ Physiol 289: H301-307, 2005
 10. Resetting of the arterial baroreflex increases orthostatic sympathetic activation and prevents postural hypotension in rabbits. Kamiya A, Kawada T, Yamamoto K, Michikami D, Ariumi H, Uemura K, Zheng C, Shimizu S, Aiba T, Miyamoto T, Sugimachi M. Sunagawa K. J Physiol 566: 237-246, 2005
 11. Dynamic characteristics of carotid sinus pressure-nerve activity transduction in rabbits. Kawada T, Yamamoto K, Kamiya A, Ariumi H, Michikami D, Shishido T, Sunagawa K, Sugimachi M. Jpn J Physiol 55: 157-163, 2005

G-2.学会発表

1. Kamiya A, Ariumi H, Kawada T, Sugimachi M. Sunagawa K. Aortic depressor nerve stimulation markedly improved survival after acute myocardial infarction in rats.

- Experimental Biology 2005 and 35th International Congress of Physiological Sciences. The FASEB Journal 19: A1289, 2005
2. Kawada T, Miyamoto T, Kamiya A, Sugimachi M. Plasma norepinephrine does not affect dynamic heart rate regulation by the cardiac sympathetic nerve. Experimental Biology 2005 and 35th International Congress of Physiological Sciences. The FASEB Journal 19: A1303, 2005
 3. 李 梅花、鄭 燦、川田 徹、稲垣 正司、佐藤 隆幸、砂川 賢二、杉町 勝 Effects of abdominal vagal nerve activation on hemodynamics of acute myocardial infarction. 第 26 回日本循環制御医学会総会 26 (suppl 1): 50, 2005
 4. 上村 和紀、神谷 厚範、川田 徹、杉町 勝、砂川 賢二 急性非代償性心不全の循環管理を支援する、血行動態自動制御システムの開発 第 26 回日本循環制御医学会総会 26 (suppl 1): 81, 2005
 5. 神谷 厚範、川田 徹、杉町 勝 Different and complementary characteristics of muscle and skin sympathetic nerve activity in human thermoregulatory system. 第 82 回日本生理学会大会 70, 2005
 6. 川田 徹、神谷 厚範、宍戸 稔聡、杉町 勝 Plasma norepinephrine of physiological concentration does not affect dynamic heart rate regulation by the cardiac sympathetic nerve. 第 82 回日本生理学会大会 90, 2005
 7. Kawada T, Inagaki M, Zheng C, Li M, Sunagawa K, Sugimachi M. Transfer function analysis of carotid sinus baroreceptor transduction. 27th IEEE, IEEE Engineering in Medicine and Biology, 2005
 8. Kawada T, Inagaki M, Zheng C, Li M, Sunagawa K, Sugimachi M. Insignificant Effects of plasma catecholamines on dynamic heart rate regulation by the cardiac sympathetic nerve. 27th IEEE, IEEE Engineering in Medicine and Biology, 338, 2005
 9. Li M, Zheng C, Inagaki M, Kawada T, Sunagawa K, Sugimachi M. Chronic vagal stimulation decreased vasopressin secretion and sodium ingestion in heart failure rats after myocardial infarction. 27th IEEE, IEEE Engineering in Medicine and Biology, 339, 2005
 10. Zheng C, Li M, Inagaki M, Kawada T, Sunagawa K, Sugimachi M. Vagal stimulation markedly suppresses arrhythmias in conscious rats with chronic heart failure after myocardial infarction. 27th IEEE, IEEE Engineering in Medicine and Biology, 338, 2005
 11. Inagaki M, Kawada T, Li M, Zheng C, Sunagawa K, Sugimachi M. Intravascular parasympathetic cardiac nerve stimulation prevents ventricular arrhythmias during acute myocardial ischemia. 27th IEEE, IEEE Engineering in Medicine and Biology, 340, 2005
 12. 山元 健太、道上 大策、宍戸 稔聡、川田 徹、神谷 厚範、高木 洋、砂川 賢二、杉町 勝 交感神経調節における