

図2 測位システムモデル. 移動体タグの座標は未知.  $m$  個のノードの位置は既知.  
Fig.2 Positioning system model. The location of mobile tag is unknown. The locations of  $m$  nodes are known.

る. 本論文で想定する測位システムモデルを図2に示す. センサとしては, あらかじめ位置の分かっているセンサノードと, 位置の分からないセンサタグを定義する. これらのセンサを以後は“ノード”及び“タグ”とそれぞれ呼ぶこととする. 複数のノード  $P_i[x_i, y_i]$ ,  $i = 1, \dots, m$  においてタグからの信号を受信し, 受信時刻の差を利用してタグの座標  $P_0[x_0, y_0]$  を推定する. 各ノードでの受信時刻情報は, 外部サーバ若しくはマスタノードに転送され, 測位計算が行われる. 転送に際しての遅延や信号消失は考えないものとする. また, 本論文では位置座標として二次元座標を検討するが, 三次元であったとしても一般性は失われない.

TDOA システムでは, タグとノード間の時刻同期を必要としないことから, タグまでの距離情報は, 二つのノードでの受信時刻を比較することで得られる.

$$\Delta d_k (\equiv \Delta d_{ij}) = d_i - d_j = c(\tau_i - \tau_j), \quad k = 1, 2, \dots, K \quad (1)$$

$$i \in (1, m-1), \quad j \in (2, m), \quad i < j$$

ここで  $c$  は光速,  $d_i$  はノード # $i$  とタグとの間の距離, そして  $\tau_i = d_i/c$  はノード # $i$  での信号受信時刻である. 更に,  $m$  は基地局ノードの総数であり, 添字  $k$  は全部で  $K = {}_m C_2$  通りの組合せを有するノード組をカウントするインデックスである.

$$d_i = \sqrt{(x_i - x_0)^2 + (y_i - y_0)^2} \quad (2)$$

$$k = (j - i) + \sum_{l=0}^{i-1} (m - l)$$

$$= -\frac{i^2}{2} + \left(m - \frac{1}{2}\right)i + j - m \quad (3)$$

$$K = \binom{m}{2} \quad (4)$$

$m$  個のノードでの観測結果に基づいて得られる  $K$  個の TDOA 値は, マスタノードへ転送され, 非線形連立  $K$  次方程式を解くことで, 測位結果が算出される.

## 2.2 伝搬環境モデル

個々のノードでの観測値に誤差が含まれなければ, 三つのノードでの観測によってタグの二次元座標は正確に算出される. しかし一般には, マルチパスフェージングや NLOS 伝搬によってそのような仮定は成り立たず, 特に屋内環境や市街地では深刻な測定誤差が観測値に含まれてしまう. したがって, ノード # $i$  での信号受信時刻  $\hat{\tau}_i$  は以下のように書き表す必要がある.

$$\hat{\tau}_i = \tau_i + \tau_n^i + \tau_N^i \quad (5)$$

ここで  $\tau_n$  と  $\tau_N$  はそれぞれ AWGN 及び NLOS 伝搬に起因する測定誤差を表す. これらのうち, 特に後者の  $\tau_N$  が, 受信時刻情報に含まれる大きな誤差となる. 信号の受信時刻 (Time Of Arrival : TOA) 情報を用いる測距・測位システムのように, タグでの信号送信時刻が正確に得られるのであれば,  $\tau_N$  は真の伝搬時間  $\tau_i$  に加算された正のバイアスととらえることが可能である. しかし TDOA 型のシステムでは, 測定可能な情報は「各ノードでの信号受信時刻の差」のみであるため, 観測値に含まれる NLOS 誤差成分が, 真の TDOA 値に加算された正のバイアスととらえることはできない. 実際に観測される TDOA 値 ( $\hat{\tau}_i - \hat{\tau}_j$ ) に光速  $c$  を掛けることによって, 距離情報が以下のように算出される.

$$\Delta \hat{d}_k = c(\hat{\tau}_i - \hat{\tau}_j) = c(\tau_i - \tau_j) + c(\tau_n^i - \tau_n^j) + c(\tau_N^i - \tau_N^j) = \Delta d_k + \Delta d_n^k + \Delta d_N^k \quad (6)$$

ここで  $\Delta d_n^k$  及び  $\Delta d_N^k$  は上記の  $\tau_n$  と  $\tau_N$  に関連する項であり, それぞれ AWGN 及び NLOS 伝搬に起因する測定誤差を表す. なお, セルラ系のような規模の大きなネットワークにおいては, TDOA 情報を算出する際に, 各ノードでの受信信号の相互相関を利用する方法が知られている. 本論文では, センサネットワークにおけるハードウェア面での制約をかんがみ, TDOA 情報はノードでの受信時刻の差によってのみ算出されるものとする.

式 (6) で示されるように, 算出される距離情報  $\Delta \hat{d}_k$

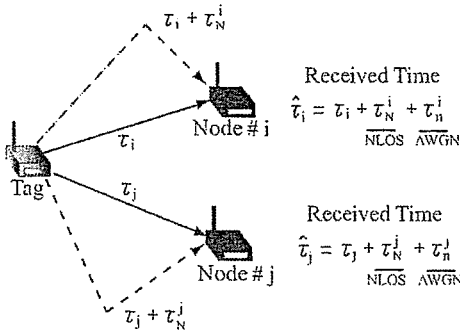


図 3 伝搬環境モデル  
Fig. 3 Propagation environment model.

は、2種類の誤差項  $\Delta d_n^k$ ,  $\Delta d_N^k$  の影響によって、真の距離情報  $\Delta d_k$  に対して大きく変動することとなる。これらの誤差項は、個々のノードでの受信時刻情報に含まれる2種類の独立した誤差成分 ( $\tau_n^i$  及び  $\tau_N^i$ ) を用いて以下のように表される。

$$\Delta d_n^k = c \cdot (\tau_n^i - \tau_n^j) \quad (7)$$

$$\Delta d_N^k = c \cdot (\tau_N^i - \tau_N^j) \quad (8)$$

式 (7) における  $c\tau_n^i$  は、受信ノードの RF 雑音やクロックオフセット等に起因する AWGN 成分であり、ガウス分布  $\mathcal{N}(0, \sigma^2)$  でモデル化する。式 (8) における  $c\tau_N^i$  は NLOS 伝搬に起因する異常値であり、指数分布  $\mathcal{E}(\lambda, \lambda^2)$  でモデル化する。その確率密度分布は次式で表される。

$$P(c\tau_N^i; \lambda, \lambda^2) = \frac{1}{\lambda} \cdot \exp\left(-\frac{c\tau_N^i}{\lambda}\right) \quad (9)$$

本論文では、測位に際しての伝搬環境を上記二つのパラメータ  $\sigma^2$  及び  $\lambda$  によって特徴づける。なお、各ノードでの観測値は互いに独立であるとする。伝搬環境モデルを図 3 に示す。従来の研究では、観測モデルは AWGN 成分のみであったり、若しくは指数分布に基づく伝搬遅延モデルが受信側で既知であったりした [4]~[6]。一方で、本研究における観測値のモデル化は、2種類の誤差成分を含めることでより実環境に即したものとなっており、位置検出は強い非線形性を有する問題となる。

### 2.3 測位・追跡のための状態空間モデル

高精度な測位を実現するためには、伝搬路環境を正確に知ることが望ましい。しかしながら、一般に伝搬路特性は時変であり、伝搬環境はタグの移動によって変化すると考えることが妥当である。

時変なシステムの状態を表す手段としては、状態空間モデルが有効である。一般に、状態空間モデルは次式で表される。

$$\mathbf{x}_t = \mathbf{F}\mathbf{x}_{t-1} + \mathbf{G}\mathbf{v}_t \quad (10)$$

$$\mathbf{y}_t = \mathbf{H}\mathbf{x}_t + \mathbf{w}_t \quad (11)$$

ここで式 (10) は状態遷移方程式であり、式 (11) は観測方程式である。式 (10) において、 $\mathbf{x}_t$  は状態量ベクトル、 $\mathbf{v}_t$  はシステムノイズベクトルである。行列  $\mathbf{F}$  及び  $\mathbf{G}$  はシステム行列である。式 (11) において、 $\mathbf{y}_t$  は観測ベクトルであり  $\mathbf{w}_t$  は観測ノイズベクトルである。行列  $\mathbf{H}$  は観測行列である。ノイズベクトルやシステム行列を、着目しているシステムに合わせて適切に設計することで、効果的な状態量推定を行うことが可能となる。

状態空間モデルによって表される状態量を推定するアルゴリズムとして、粒子フィルタが知られている [11], [15]。従来からある粒子フィルタを用いた測位アルゴリズムは、NLOS 伝搬といった実環境を考慮していなかったり、若しくは TDOA 型に不向きな状態空間モデルを用いていた [13]。本論文では、「実環境に即した TDOA 型測位を実現する」という目的のもと、粒子フィルタによる信号処理を二階層のプロセスに分離し、それぞれの階層において適切な状態空間モデルの検討を行った。アルゴリズムの詳細を次章で述べる。

## 3. 階層型粒子フィルタアルゴリズム

提案する階層型粒子フィルタは、二階層、すなわち二段階の状態量推定を行う。第一階層での推定は、NLOS 伝搬に起因する大きな誤差を観測値から取り除き、真の値への補正を行うためのプロセスである。第二階層は測位のためのプロセスである。

### 3.1 第一階層：観測値補正

#### 3.1.1 第一階層での状態空間モデル

第一階層では、 $K$  個の TDOA 観測値に基づいた距離情報  $\Delta \hat{d}_k(t)$ ,  $k = 1, \dots, K$  から誤差成分を除去し、真の値  $\Delta d_k(t)$  への補正を行うために粒子フィルタを適用する。状態量ベクトル  $\mathbf{x}_t$  の要素の一つとして、距離情報  $\Delta d_k(t)$  を与える。この、 $\Delta d_k(t)$  は、式 (1) に表されるとおり、時刻  $t$  におけるタグから二つのノードまでの距離の差を指す。本論文では、タグの移動は一定速度 ( $V = 1$  [m/s]) を保つものとする。このような仮定のもとでは、距離情報  $\Delta d_k(t)$  の時間変化も緩やかであるため次式が近似的に成立する。

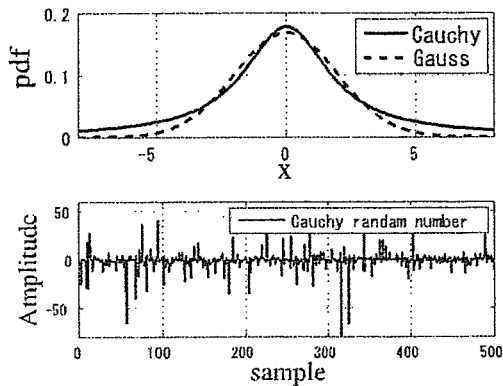


図4 (上) コーシー分布とガウス分布の比較. (下) コーシー乱数. ( $\eta^2 = 4$ : Cauchy,  $\nu^2 = 4$ : Gaussian)  
 Fig. 4 (Top) Comparison between Cauchy distribution and Gaussian Distribution. (Bottom) Cauchy random number. ( $\eta^2 = 4$  for Cauchy,  $\nu^2 = 4$  for Gaussian)

$$\Delta d_k(t+1) = 2\Delta d_k(t) - \Delta d_k(t-1) \quad (12)$$

状態量推定においては、システムノイズベクトル  $\mathbf{v}_t$  及び観測ノイズベクトル  $\mathbf{w}_t$  の適切なモデル化が重要である。本論文では、タグの移動が緩やかで急激な位置の変化がないとしているため、システムノイズとしてガウス分布  $\mathcal{N}(0, \nu^2)$  を与える。

一方、観測誤差を適切にモデル化することは容易ではない。式(6)~(8)で表されるように、TDOA測定値は2種類の誤差成分  $\mathcal{N}(0, \sigma^2)$  及び  $\mathcal{E}(\lambda, \lambda^2)$  によってひずんだものとなる。このような誤差成分を正確に推定することは困難であるため、第一階層では観測ノイズとしてコーシー分布  $\mathcal{C}(0, \eta^2)$  を適用する。コーシー分布  $\mathcal{C}(0, \eta^2)$  の確率密度分布は次式で与えられる。

$$r(x; 0, \eta^2) = \frac{\eta}{\pi(x^2 + \eta^2)} \quad (13)$$

図4より、コーシー分布  $\mathcal{C}(0, \eta^2)$  は裾の広がった非ガウス分布であり、高い確率で出現する観測ノイズと、低い確率で出現する異常値をともに表現することが可能であると分かる。一般に、劣悪な伝搬環境においては、NLOS伝搬に起因した異常値が観測値に不定期に現れてしまう。このような異常値を検出・訂正するための観測ノイズのモデルとして、コーシー分布は適しているといえる。

状態量推定に二つのノイズモデル(システムノイズ  $\mathcal{N}(0, \nu^2)$  及び観測ノイズ  $\mathcal{C}(0, \eta^2)$ )を用いるにあたって、それらのパラメータ(すなわち  $\nu^2$  及び  $\eta^2$ )を決定しなければならない。しかしながら、これらの

ノイズモデルが実際の伝搬環境と一致するとは限らないため、そのパラメータについても適切な値を事前に把握することは難しい。また、伝搬環境が時間によって変動することも容易に想定できるため、これらのパラメータを随時、適切な値に変えることが望ましい。したがって、本論文では、ノイズモデルのパラメータの時間変動も考慮に入れ、その遷移を状態空間モデルに組み入れている。モデルパラメータの遷移方程式は次式で与えられる。

$$\nu^2(t) = \nu^2(t-1) + v_{\nu^2}(t) \quad (14)$$

$$\eta^2(t) = \eta^2(t-1) + v_{\eta^2}(t) \quad (15)$$

ここで  $v_{\nu^2}(t)$  及び  $v_{\eta^2}(t)$  は、二つのパラメータ  $\nu^2(t)$  及び  $\eta^2(t)$  を随時修正するための補正量を表す。これらの遷移モデルを組み込むことで、状態空間モデルで用いるシステムノイズと観測ノイズのパラメータを随時適応的に補正していくことが可能となる。したがって、状態量推定の際に与える初期パラメータが実際の伝搬環境から大幅にずれていたとしても、推定プロセスを経て徐々に真の値へと修正されていくこととなる。本論文では、二つの伝搬環境パラメータ  $\sigma^2$  及び  $\lambda$  が時間や場所によらず一定とみなしているが、これらの値が変動するような環境においては、提案方式の状態空間モデルの有効性がより強固なものとなる。

以上の議論により、第一階層での状態空間モデルの全要素は以下ようになる。

$$\mathbf{x}_t = [\Delta d(t), \Delta d(t-1), \eta^2(t), \nu^2(t)]^T \quad (16)$$

$$F = \begin{bmatrix} 2 & -1 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (17)$$

$$G = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (18)$$

$$H = [1 \ 0 \ 0 \ 0] \quad (19)$$

$$\mathbf{v}_t = [v_d(t), v_{\eta^2}(t), v_{\nu^2}(t)]^T \quad (20)$$

$$\mathbf{w}_t = w_d(t) \quad (21)$$

上記状態空間モデルは、個々の距離情報  $\mathbf{y}_t = \hat{\Delta d}_k(t)$ ,  $k = 1, \dots, K$  それぞれに適用される。ここで  $K$  は TDOA 観測値の総数であり、式(4)のように表され

る。式 (16), (20), (21) 及び以後の議論においては、簡易のため添字  $k$  を省略する。観測値  $y_t$  を用いて未知の状態ベクトル  $x_t$  を逐次的に推定する手段として、粒子フィルタを適用したアルゴリズムを次節で示す。

### 3.1.2 第一階層における粒子フィルタを用いた状態量推定

粒子フィルタは、モンテカルロ法に基づく統計的信号処理を逐次的に実行するための実装アルゴリズムの一つである [15]。非線形性・非ガウス性を有するモデルに対しても、効果的に状態量推定を行えるという特徴を有する。したがって、従来のカルマンフィルタでは用いることのできなかつた非ガウスモデルを観測ノイズとして適用することができる。また、モデルパラメータの時間遷移を組み入れた非線形な状態空間モデルに適用することも可能である。

時刻  $t$  における観測値ベクトルを  $Y_t = \{y_0, \dots, y_t\}$  と表すとき、状態量推定の目的は、事後確率分布  $p(x_t|Y_t)$  を算出することにある。粒子フィルタはこの分布を  $N$  個の粒子を用いて近似的に実現する。この状態量推定は、一期先予測とフィルタリングのプロセスを以下のように繰り返すことで実行される。このプロセスは  $K$  個の観測値のそれぞれに対して行われ、その結果、個々の距離情報  $y_t = \Delta \hat{d}_k$ ,  $k = 1, \dots, K$  が修正される。なお、ここでの「観測値」とは、ノードでの観測によって得られた TDOA 値に光速を乗算した距離情報  $\Delta \hat{d}_k$  を指す。

- STEP1: 初期分布に従う粒子の生成

初期分布  $p_0(x) = \mathcal{N}(\Delta \hat{d}(1), \nu^2(0))$  に基づいて、 $N$  個の粒子、すなわち  $N$  個のランダムベクトルを生成する。個々の粒子の初期状態は以下のような状態ベクトルで表される。

$$f_0^{(i)} = [p_0(x), p_0(x), \eta^2(0), \nu^2(0)]^T, \quad (i = 1, \dots, N) \quad (22)$$

- STEP2: 以下のフィルタリングのプロセスを繰り返す

- STEP2-1: システムノイズに従う粒子の生成  
更に別の  $N$  個の粒子を生成する。これらの粒子群は、次式で表されるシステムノイズベクトルを表現する。

$$v_t^{(i)} = [v_d^{(i)}(t), v_{\eta^2}^{(i)}(t), v_{\nu^2}^{(i)}(t)], \quad i = 1, \dots, N \quad (23)$$

ここで、システムノイズとしてはガウス分布を仮定する。したがって

$$v_t^{(i)} = [\mathcal{N}(0, \nu^2(t-1)), \mathcal{N}(0, \rho^2), \mathcal{N}(0, \xi^2)] \quad (24)$$

ここで  $\rho$  及び  $\xi$  は  $v_{\eta^2}(t)$  と  $v_{\nu^2}(t)$  の標準偏差である。

- STEP2-2: 一期先予測

式 (25) で表される状態遷移方程式を用いて、事後分布  $p(x_t|Y_{t-1})$  に従う粒子群  $p_t^{(i)}$  を算出する。

$$p_t^{(i)} = Ff_{t-1}^{(i)} + Gv_t^{(i)}, \quad i = 1, \dots, N \quad (25)$$

- STEP2-3: 粒子  $p_t^{(i)}$  のゆう度の算出

観測値  $y_t$  及び観測ノイズ分布を用いて、個々の粒子  $p_t^{(i)}$  のゆう度  $\alpha_t^{(i)}$  を算出する。

$$\alpha_t^{(i)} = r(y_t - Hp_t^{(i)}; 0, \eta^2(t)), \quad i = 1, \dots, N \quad (26)$$

ここで  $r(x; 0, \eta^2(t))$  は式 (13) で表されるコーシー分布の確率密度分布である。なお、第一階層では観測値  $y_t = \Delta \hat{d}_k$ ,  $k = 1, \dots, K$  の一つひとつに対して状態量推定を行うため、観測ベクトル  $y_t$  は、サイズが  $(1 \times 1)$  のスカラー量となる。

- STEP2-4: フィルタ分布の算出

式 (27) で表される確率に従って、粒子  $p_t^{(i)}$  をリサンプルする。この結果、一期先の状態量を表現する粒子群  $f_{t+1}^{(i)}$  を得る。

$$\Pr(f_{t+1}^{(i)} = p_t^{(i)}) = \frac{\alpha_t^{(i)}}{\alpha_t^{(1)} + \dots + \alpha_t^{(N)}}, \quad i = 1, \dots, N \quad (27)$$

## 3.2 第二階層での測位

### 3.2.1 第二階層における状態空間モデル

第一階層を通して、見通し外伝搬に起因した誤差成分は軽減され、 $K$  個の距離情報  $\Delta \hat{d}_k(t)$ ,  $k = 1, \dots, K$  は随時適切な値に修正されることとなる。その結果、第二階層では、簡潔かつ静的な測位処理を行うことが許される。ここでの状態量推定では、タグの二次元座標が、推定されるべき「状態量」として定義される。粒子の一つひとつが状態量を有し、その状態量が収束するまでフィルタリング及びリサンプリングのプロセスを繰り返す。ここで、繰返し数をカウントするための新たなパラメータ  $n$  を導入し、状態空間モデルを以下のように修正する。

$$x_n = x_{n-1} \quad (28)$$

$$y_n = Hx_n + w_n \quad (29)$$

第二階層では、状態ベクトルは二次元座標そのもので

ある:  $\mathbf{x}_n = \{x(n), y(n)\}$ . 観測ベクトル  $\mathbf{y}_n$  は, 第一階層を通して補正された  $K$  個の距離情報を要素にもつ:  $\mathbf{y}_n = [\Delta \hat{d}_1, \dots, \Delta \hat{d}_K]^T$ . 観測値に含まれている異常値は, 第一階層を通して軽減されているため, 第二階層では観測ノイズとしてコーシー分布ではなくガウス分布  $\mathcal{N}(0, \mu^2)$  を与える. したがって, 観測ノイズベクトルに含まれる全要素  $\mathbf{w}_n = [w_1, \dots, w_K]^T$  は,  $\mathcal{N}(0, \mu^2)$  に従うとする. 式 (29) において, 観測行列  $\mathbf{H}$  は, 二次元座標  $\mathbf{x}_n$  を距離情報に置き換える演算処理を表す. 行列  $\mathbf{H}$  のサイズは  $(K \times 1)$  であり, 新たな関数  $h_{ij}(X, Y)$  によって次式のように表される.

$$\mathbf{H} = \begin{bmatrix} h_{1,1}(X, Y) \\ \vdots \\ h_{i,j}(X, Y) \\ \vdots \\ h_{m-1,m}(X, Y) \end{bmatrix} \quad (30)$$

ここで  $h_{ij}(X, Y)$  は, 次の演算を実行する関数である.

$$h_{i,j}(X, Y) \cdot \mathbf{x}_n = \frac{\sqrt{(x_i - x(n))^2 + (y_i - y(n))^2} - \sqrt{(x_j - x(n))^2 + (y_j - y(n))^2}}{2} \quad (31)$$

### 3.2.2 第二階層における粒子フィルタを用いた測位アルゴリズム

第二階層における, タグの位置推定プロセスは以下のとおりである.

- STEP1: 初期分布に従う粒子の生成

状態量ベクトルとして  $\mathbf{x}_1^{(i)} = \{x^{(i)}(1), y^{(i)}(1)\}$ , ( $i = 1, \dots, N'$ ) を有する  $N'$  個の粒子を生成する. ここで,  $x^{(i)}(1)$  及び  $y^{(i)}(1)$  は一様分布  $\mathcal{U}(0, 100)$  に従うものとする. なお, 測位フィールドは以下の二次元平面を想定する: ( $0 \leq x[m] \leq 100, 0 \leq y[m] \leq 100$ )

- STEP2: 推定位置  $\hat{\mathbf{x}}_n$  が十分に収束するまで以降の処理を繰り返す:  $n = 1, 2, \dots$

- STEP2-1:  $\mathbf{x}_n^{(i)}$  のゆう度の算出

観測ベクトル  $\mathbf{y}_n$  及び観測ノイズ分布を用いて, 粒子  $\mathbf{x}_n^{(i)}$  のゆう度  $\alpha_n^{(i)}$  を算出する.

$$\alpha_n^{(i)} = r(\|\mathbf{y}_n - \mathbf{H}\mathbf{x}_n^{(i)}\|; 0, \mu^2), \quad i = 1, \dots, N' \quad (32)$$

ここで  $r(x; 0, \mu^2) = \mathcal{N}(0, \mu^2)$  であり, 記号  $\|\cdot\|$  はベクトルのノルムを表す. 算出されたゆう度は, 次式により正規化される,  $\alpha_n^{(i)} = \alpha_n^{(i)} / (\sum_i \alpha_n^{(i)})$ .

- STEP2-2: 推定座標の算出

タグ座標の推定値を次式のように算出する.

$$\hat{\mathbf{x}}_n = \sum_{j=1}^{N'} \alpha_n^{(j)} \mathbf{x}_n^{(j)} \quad (33)$$

- STEP2-3: 粒子群のリサンプリング

式 (34) で表される確率に基づいて, 粒子群  $\mathbf{x}_n^{(i)}$  をリサンプリングし, 次の繰返しに用いる.

$$\Pr(\mathbf{x}_{n+1}^{(i)} = \mathbf{x}_n^{(i)}) = \alpha_n^{(i)}, \quad i = 1, \dots, N' \quad (34)$$

- STEP2-4: 粒子の分散

リサンプリングの後, 粒子の状態量ベクトルが初期分布で与えた座標のみに収束してしまうのを避けるため, 粒子の状態量ベクトルを次式に基づいて限定的に拡散させる.

$$\mathbf{x}_{n+1}^{(i)} = \mathbf{x}_n^{(i)} + \mathbf{w} \quad (35)$$

ここで  $\mathbf{w} = \{w_x, w_y\}$  は  $\mathcal{N}(0, \mu^2/n)$  に従うものとする.

## 4. (数値) シミュレーション結果

本章では, 提案システムを用いた場合の測位・トラッキング特性を計算機シミュレーションによって示し, 従来方式との比較を行う. 上述のとおり, タグの存在範囲は 100 [m] 四方の二次元平面に限定し, 基地局ノードの総数は  $m = 4$  とした. ノードの座標は既知であり,  $[x, y] = [25, 25], [25, 75], [75, 25], [75, 75]$  に設置する. すべてのノードがタグからの信号を消失なしに受信するものとし, タグの移動状況を随時推定する. 伝搬環境は, AWGN 成分  $\mathcal{N}(0, \sigma^2)$  と NLOS 成分  $\mathcal{E}(\lambda, \lambda^2)$  によって決まり, 二つのパラメータ  $\sigma^2$  及び  $\lambda$  によって特徴づけられるものとする. 本論文では, 観測値に加わるガウスノイズは平均 0, 分散  $\sigma^2 = 5$  で一定とする. NLOS 伝搬に起因する影響を検討するため, パラメータ  $\lambda$  による特性変化に着目する. タグの移動軌跡としては, 屋内環境で廊下に沿って直進ないし 90 度のターンを繰り返しながら, 一定速度 ( $V = 1$  [m/s]) で 160 [m] 移動する軌跡を与える. タグの軌跡は図 5, 図 6, 図 7 において実線で示されている. これらの三つの図では, 3 種類の測位アルゴリズムによって推定されたトラッキング結果がドットで示されている. なお, 伝搬環境はいずれの場合も  $\sigma^2 = 5, \lambda = 2$  としている. それぞれの図における測位アルゴリズムは以下のように分類される.

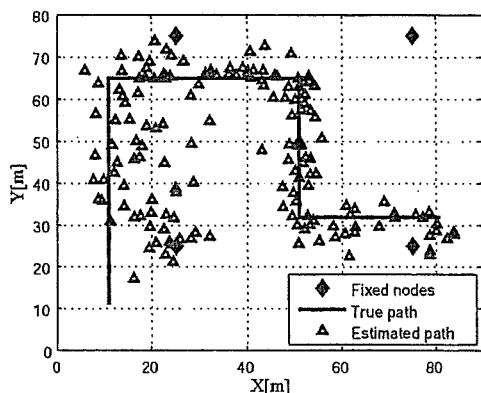


図 5 タグのトラッキング (Case 1): ニュートン法  
Fig. 5 Path Estimation (Case 1): Conventional Newton algorithm. ( $\sigma^2 = 5, \lambda = 2$ )

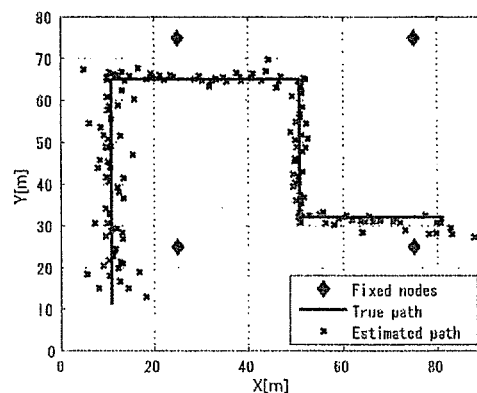


図 7 タグのトラッキング (Case 3): 提案する階層型粒子フィルタ  
Fig. 7 Path Estimation (Case 3): Proposed Layered Particle Filter algorithm. ( $\sigma^2 = 5, \lambda = 2$ )

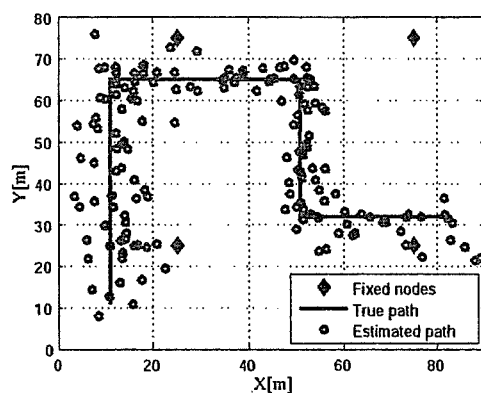


図 6 タグのトラッキング (Case 2): 観測値補正を行わない従来の粒子フィルタ  
Fig. 6 Path Estimation (Case 2): Particle Filter without no measurements modification. ( $\sigma^2 = 5, \lambda = 2$ )

- Case1 (図 5)

従来のニュートン法による測位結果. 初期推定値は  $[x, y] = [50, 50]$ .

- Case2 (図 6)

第二階層のみの粒子フィルタを用いた測位結果. 従来の粒子フィルタによる測位方式に相当. 粒子数は  $N' = 50$ , 観測ノイズのパラメータは  $\mu^2 = 10$ .

- Case3 (図 7)

提案する階層型粒子フィルタによる測位結果. 粒子数は第一階層が  $N = 1000$ , 第二階層が  $N' = 50$ . 状態空間モデルにおける初期状態パラメータは  $\nu^2(0) = 3, \eta^2(0) = 0.5, \rho^2 = 0.2, \xi^2 = 0.2, \mu^2 = 10$ .

図 5 より, 従来の線形探索アルゴリズムであるニュートン法では, 伝搬環境に起因した測定誤差によって大

きく測位精度が劣化してしまっていることが分かる. 一般にニュートン法は, 初期推定値を適切に与えなければ推定値が正しく収束しない. 図 5 では, 初期推定値としてノードに囲まれた中心点である  $[x, y] = [50, 50]$  を与えているため, ノードに囲まれていないエリアでは特に測位精度が悪くなり, タグの追跡ができていない. 図 6 は, 第一階層を省いて第二階層での状態推定のみを利用した測位結果であり, 図 5 と比べて測位精度に改善が見られる. エリア内に複数の粒子を一様に分散させた上で, 繰返しゆう度計算を行っているため, ニュートン法のように初期推定値によって大きく精度が変動する心配がない. 一般にセンサネットワークにおける測位特性は, 初期推定値の与え方に大きく依存する. これは, 伝搬環境や測位アルゴリズムの非線形性に起因するものである. 第二階層での粒子フィルタを用いたマルチ探索手法は, このような非線形性による影響を軽減する効果がある. しかしながら, 第二階層のみの位置推定では, マルチパスや NLOS 伝搬に起因した測定誤差を全く考慮に入れていないことから, 依然として大きな測位誤差が見られる. 図 7 は, 提案する階層型粒子フィルタを用いた場合の測位結果である. 第一階層での観測値の補正によって, 最終的に得られる測位精度が大幅に改善していることが確認できる. また, 粒子数として第一階層では  $N = 1000$ , 第二階層では  $N = 50$  と設定したが, これは経験的に定めたものであり, 実験環境や想定ノード数によって最適な粒子数は変化する. 一般に粒子数を増やすほど特性が改善されるが, それに伴って演算量も増大し, 特

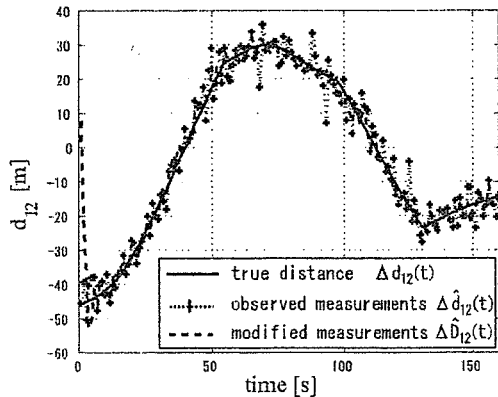


図 8 距離情報の時間変化 (タグからノード #1, ノード #2 までの距離の差の変化): 真の距離, 測定距離, 提案方式による誤差補正をした後の測定距離  
 Fig. 8 Time change of distance information (The range difference between the tag and the nodes #1 and #2.): True distance, Measured distance and Modified distance.

に第二階層では粒子数の増大に伴う演算量への影響が大きい。本論文では、粒子数増大による特性改善効果が緩やかになる数値として前述の値を設定しており、最適な粒子数の理論的導出が今後の検討課題といえる。

第一階層での誤差補正の効果を示す評価として、ノード #1:  $[x, y] = [25, 25]$  及びノード #2:  $[x, y] = [25, 75]$  からのタグまでの距離の差  $\Delta d_{12}(t)$  の実測値  $\Delta \hat{d}_{12}(t)$  が、トラッキングの過程でどのように変化しているかを図 8 に示した。伝搬環境は、 $\sigma^2 = 5$ ,  $\lambda = 2$  の NLOS 環境である。図 5, 図 6, 図 7 で示した移動経路と同じ経路を考え、タグが 1 [m] 進むごとにノード #1, #2 で距離測定を行った場合の  $\Delta \hat{d}_{12}(t)$  の時間変化をサンプルした。ノード #1 と #2 は同じ  $x$  座標であることから、タグが  $Y$  座標に沿って移動する場合 ( $time = 1 \sim 55$  [s],  $96 \sim 130$  [s]) では真の距離の差  $\Delta d_{12}$  が大きく変動し、 $X$  座標に沿って移動する場合 ( $time = 56 \sim 95$  [s],  $131 \sim 160$  [s]) では距離の差  $\Delta d_{12}$  は緩やかに変動している。点線 (+印) で示した従来方式は、NLOS 補償を行わないために、大きな異常値を頻繁に生じている。一方、破線で示した提案方式では、第一階層での NLOS 補償の効果で、大きな異常値にひっぱられることなく、真の距離情報とほぼ同じ観測値が得られていることが分かる。しかし、トラッキングの初期 ( $time = 1 \sim 5$  [s]) の段階では、状態空間モデルの初期推定値からのずれを修正して追従しているために誤差が大きくなってし

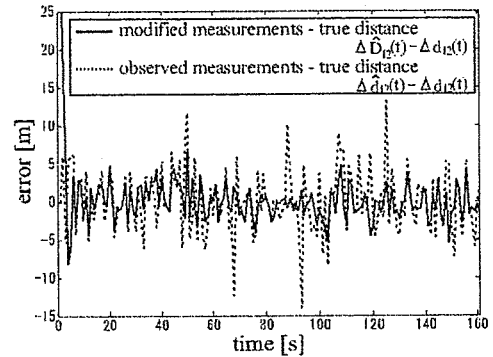


図 9 距離情報の誤差の時間変化 (タグからノード #1, ノード #2 までの距離の差を観測した際の誤差特性): 破線は測定値と真値との差, 実線は提案方式による修正値と真値との差を表す。  
 Fig. 9 Time change of distance information error. (The error characteristics of range difference between the tag and the nodes #1 and #2.)

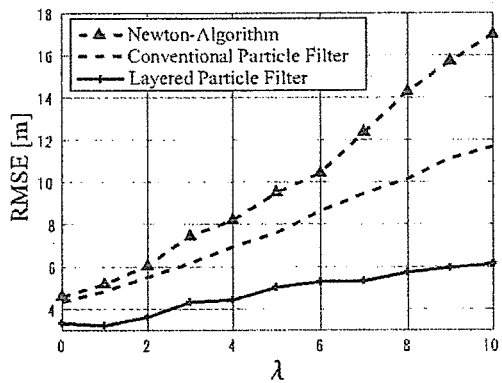


図 10 伝搬路特性を変化させたときの平均測位誤差特性  
 Fig. 10 Positioning Error Characteristics via channel parameter. ( $\sigma^2 = 5$ ,  $\lambda \in (0, 10)$ )

まっている。また、図 8 における真値との誤差特性を図 9 に示す。従来方式における観測値と真値との差  $\Delta \hat{d}_{12}(t) - \Delta d_{12}(t)$  は、全体的に誤差が大きく、頻繁に異常値が現れている。一方、提案方式によって修正した観測値と真値との差  $\Delta \hat{D}_{12}(t) - \Delta d_{12}(t)$  は、観測初期に大きな誤差が現れているものの、すぐに誤差が小さく抑えられている様子が分かる。

伝搬路を特徴づける二つのパラメータのうち、NLOS 伝搬による影響を表す  $\lambda$  を変化させた場合の二乗平均平方根誤差 (Root Mean Square Error: RMSE) 特性を図 10 に示す。ここでは、図 5, 図 6, 図 7 で示した経路に沿ってタグが移動したときの RMSE 特性を算出した。 $\lambda$  が大きくなるほど、劣悪な伝搬路環境

となり、いずれの方式も測位精度が劣化している。しかし、提案する階層型粒子フィルタは、その劣化の度合いが非常に小さく済んでいる。これは、第一階層でのマルチパス補償によるものである。特に、状態量ベクトルに伝搬路パラメータの時間遷移を組み込んだことにより、実際の伝搬環境と推定初期値とのずれを逐次補正していく効果が現れている。したがって、提案方式は環境変化に対して非常にロバストなアルゴリズムであるといえる。

## 5. むすび

本論文では、TDOA 型センサネットワークにおける新しい位置推定法として、階層型粒子フィルタを利用したアルゴリズムを提案し、その特性解析を行った。提案方式は、マルチパスや見通し外伝搬といった実環境に即した伝搬環境において、ロバストで高精度な測位を実現できることを示した。

今後の課題としては、従来方式との演算量比較や、複数タグの位置検出法の検討等が挙げられる。

謝辞 本研究の一部は、総務省戦略的情報通信研究開発推進精度 (SCOPE) 「UWB インテリジェント測位センサーネットワークの研究開発と医療・ホーム・オフィスへの応用」からの委託研究で実施したものである。関係各位に深謝申し上げます。

## 文 献

- [1] I.F. Akyildiz, W. Su, Y. Sankarasubramaniam, and E. Cayirci, "A survey on sensor networks," *IEEE Commun. Mag.*, vol.40, no.8, pp.102-114, Aug. 2002.
- [2] N. Patwari, J.N. Ash, S. Kyperountas, A.O. Hero, R.L. Moses, and N.S. Correal, "Locating the Nodes," *IEEE Signal Process. Mag.*, vol.22, no.4, pp.12-23, July 2005.
- [3] N. Patwari, A.O. Hero, M. Perkins, N.S. Correal, and R.J. O'Dea, "Relative location estimation in wireless sensor networks," *IEEE Trans. Signal Process.*, vol.51, no.8, pp.2137-2148, Aug. 2003.
- [4] H. Kong, Y. Kwon, and T. Sung, "Comparisons of TDOA triangulation solutions for indoor positioning," *Proc. International Symposium on GNSS*, Dec. 2004.
- [5] F. Gustafsson and F. Gunnarsson, "Positioning using time-difference of arrival measurements," *Proc. ICASSP'03*, vol.6, pp.VI-553-6, April 2003.
- [6] 川端 学, 朝生雅人, 斎川貴彦, 服部 武, "セルラーシステムにおける最尤推定法に基づく TDOA システムの位置検出性能評価," *信学論 (B)*, vol.J87-B, no.2, pp.285-291, Feb. 2004.
- [7] 谷口健太郎, 河野隆二, "粒子フィルタを利用した TDOA 型室内位置推定に関する一検討," *信学技報*, RCS2005-

227, March 2006.

- [8] K. Taniguchi and R. Kohno, "Positioning and tracking algorithm using layered particle filter in wireless sensor networks," *Proc. GSN'06*, Boston, USA, Oct. 2006.
  - [9] A.H. Sayed, A. Tarighat, and N. Khajehnouri, "Network-based wireless location," *IEEE Signal Process. Mag.*, vol.22, no.4, pp.24-40, July 2005.
  - [10] W.H. Foy, "Position-location solutions by Taylor-series estimation," *IEEE Trans. Aerosp. Electron. Syst.*, vol.AES-12, no.2, pp.187-193, 1976.
  - [11] S.J. Godsill, A. Doucet, and M. West, "Monte Carlo smoothing for nonlinear time series," *J. Amer. Stat. Assoc.*, vol.99, no.465, pp.156-168, 2004.
  - [12] P. Nordlund, F. Gunnarsson, and F. Gustafsson, "Particle filters for positioning in wireless networks," *Proc. EUSIPCO'02*, pp.311-314, Toulouse, France, Sept. 2002.
  - [13] D.B. Jourdan, J.J. Deyst, M.Z. Win, and N. Roy, "Monte Carlo localization in dense multipath environments using UWB ranging," *Proc. ICU'05*, pp.314-319, May 2005.
  - [14] M.P. Wylie and J. Holtzman, "The non-line of sight problem in mobile location estimation," *IEEE Int. Conf. Univ. Pers. Commun.*, vol.2, pp.827-831, Sept. 1996.
  - [15] A. Doucet, N. de Freitas, and N. Gordon, *Sequential Monte Carlo Methods in Practice*, Springer-Verlag, New York, 2001.
  - [16] N. Ichimura and N. Ikoma, "Filtering and smoothing for motion trajectory of feature point using non-Gaussian state space model," *IEICE Trans. Inf. & Syst.*, vol.E84-D, no.6, pp.755-759, June 2001.
- (平成 18 年 3 月 27 日受付, 6 月 20 日最終原稿受付)

## 谷口健太郎 (学生員)



平 17 横浜国立大学大学院博士課程前期了。現在、同大学院博士課程後期在学中。UWB, センサネットワーク, 情報理論に関する研究に従事。IEEE 学生員。





河野 隆二 (正員:フェロー)

昭 54 横浜国大・工・情報卒. 昭 59 東大大学院博士課程了. 工博. 同年東洋大・工・講師. 昭 61 同大学・工・電気助教授, 昭 63 横浜国大・工・電子情報助教授を経て, 平 10 より同教授. 昭 59~60 カナダ, トロント大客員研究員. 情報通信システム, 情報理論, 符号理論, デジタル信号処理, スペクトル拡散通信 (CDMA), 移動通信, 高度交通システム (ITS), アレーアンテナによる時空間信号処理, ソフトウェア無線 (SDR), UWB 無線の研究に従事. 平 10~14 ソニーコンピュータサイエンス研究所先端情報通信研究室室長兼業, 平 14 より (独) 情報通信研究機構 UWB 結集型特別グループリーダー併任, 文部科学省 21 世紀 COE プログラム「横浜国立大学: 情報通信技術に基づく未来社会基盤創生」拠点リーダー. 本会スペクトル拡散研究専門委員会委員長, 同 ITS 研究専門委員会委員長, 同ソフトウェア無線時限研究専門委員会委員長, IEEE Transactions on Communications 及び Transactions on Information Theory の Editor, IEEE Information Theory Society 理事などを歴任, 平 11 年度本会業績賞受賞「スペクトル拡散通信に関する先駆的研究」, 平 15 年度第 1 回ドコモモバイルサイエンス賞先端技術優秀賞受賞.



## An enzyme-based microfluidic biofuel cell using vitamin K<sub>3</sub>-mediated glucose oxidation

Makoto Togo, Akimasa Takamura, Tatsuya Asai,  
Hirokazu Kaji, Matsuhiko Nishizawa\*

*Department of Bioengineering and Robotics, Graduate School of Engineering, Tohoku University,  
Aoba 6-6-01, Aramaki, Aoba-ku, Sendai 980-8579, Japan*

Received 12 December 2006; received in revised form 15 January 2007; accepted 29 January 2007

### Abstract

Vitamin K<sub>3</sub>-modified poly-L-lysine (PLL-VK<sub>3</sub>) was synthesized and used as the electron transfer mediator during catalytic oxidation of NADH by diaphorase (Dp) at the anode of biofuel cell. PLL-VK<sub>3</sub> and Dp were co-immobilized on an electrode and then coated with NAD<sup>+</sup>-dependent glucose dehydrogenase (GDH). The resulting enzymatic bilayer (abbreviated PLL-VK<sub>3</sub>/Dp/GDH) catalyzed glucose oxidation. Addition of carbon black (Ketjenblack, KB) into the bilayer enlarged the effective surface area of the electrode and consequentially increased the catalytic activity. An oxidation current of ca. 2 mA cm<sup>-2</sup> was observed when the electrochemical cell contained a stirred 30 mM glucose, 1.0 mM NAD<sup>+</sup>, pH 7.0 phosphate-buffered electrolyte solution. The performance of glucose/O<sub>2</sub> biofuel cells, constructed as fluidic chips with controllable fuel flow and containing a KB/PLL-VK<sub>3</sub>/Dp/GDH-coated anode and an Ag/AgCl or a polydimethylsiloxane-coated Pt cathode, were evaluated. The open circuit voltage of the cell with the PDMS-coated Pt cathode was 0.55 V and its maximum power density was 32 μW cm<sup>-2</sup> at 0.29 V when a pH 7.0-buffered fuel containing 5.0 mM glucose and 1.0 mM NAD<sup>+</sup> was introduced into the cell at a flow rate of 1.0 mL min<sup>-1</sup>. The cell's output increased as the flow rate increased. During 18 h of continuous operation of the cell with a load of 100 kΩ, the output current density declined by ca. 50%, probably due to swelling of the enzyme bilayer.

© 2007 Elsevier Ltd. All rights reserved.

*Keywords:* Biofuel cell; Vitamin K<sub>3</sub>; Diaphorase; Glucose dehydrogenase; Microfluidics

### 1. Introduction

Enzymatic biofuel cells that generate electric power from the oxidation of carbohydrates such as glucose [1–10] or alcohol [11–13] have recently attracted attention because such cells can have a simple structural design (non-compartmentalized) and can operate under mild conditions. The basic characteristics of enzymatic biofuel cells are generally dictated by the enzyme and the electron transfer mediator used [14–16]. Although, based on recent reports, mediator-free electrocatalysis may soon be possible [17,18]. Mediator molecules, when situated at the anode, must have a negative redox potential. They must also be environmentally inert so that they can be easily disposed of (with the spent cell) and/or implanted as part of a medical device with-

out harming the patient. Therefore, 2-methyl-1,4-naphthoquinone (vitamin K<sub>3</sub>, VK<sub>3</sub>) is potentially a most promising mediators of diaphorase (Dp), which oxidizes nicotinamide-adenine dinucleotide (NADH) to NAD<sup>+</sup> [19,20]. NAD<sup>+</sup> is a cosubstrate for dehydrogenase, which comprise the largest group of redox enzymes known and includes NAD<sup>+</sup>-dependent glucose dehydrogenase (GDH). Sato et al. immobilized poly-L-lysine that had been modified with a VK<sub>3</sub> derivative and Dp on an electrode surface. This system exhibits diffusion-controlled NADH oxidation [19]. Recently, we constructed an electrode that could be used for glucose oxidation by coating it with a Dp/GDH enzyme bilayer. The inner Dp layer was co-immobilization with VK<sub>3</sub>-modified polyallylamine (PAA) [10].

The physical design of an enzymatic biofuel cell is an important aspect of biofuel cell research. Since these fuel cells would power independent power-on-chips and micro-electro-mechanical-systems, they must be micro-miniature power sources [14]. Additionally, an implanted device [2–5,7,14], such

\* Corresponding author. Tel.: +81 22 795 7003; fax: +81 22 795 7003.  
E-mail address: [nishizawa@biomems.mech.tohoku.ac.jp](mailto:nishizawa@biomems.mech.tohoku.ac.jp) (M. Nishizawa).

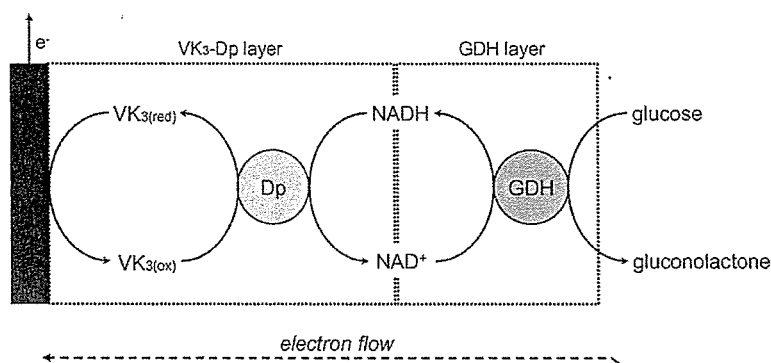


Fig. 1. The presumptive electron-relay/glucose oxidation system catalyzed by PLL-VK<sub>3</sub>/Dp/GDH.

as one that regulates blood flow, would need a microfluidic-type biofuel cell as a power source. Therefore advanced microfabrication techniques, such as those used in the construction of primary batteries [21,22], fuel cells [23–25] will also probably be used to build the microfluidic components of enzymatic biofuel cells.

For the work reported herein, we first characterized the VK<sub>3</sub>-modified poly-L-lysine (PLL-VK<sub>3</sub>) as a mediator of Dp and then tested PLL-VK<sub>3</sub>/Dp/GDH bilayer-coated anodes (with and without Ketjenblack (KB) present) for their abilities to oxidize glucose (presumably in the manner outlined in Fig. 1.) The electrochemical properties of a KB/PLL-VK<sub>3</sub>/Dp/GDH-coated anode were evaluated using a conventional electrochemical cell and a microfabricated fluidic cell. The performance and stability of a biofuel cell containing a KB/PLL-VK<sub>3</sub>/Dp/GDH-coated anode, a polydimethylsiloxane (PDMS)-coated Pt cathode, and air-saturated glucose fuel were studied at various fuel flow rates.

## 2. Experimental

### 2.1. Reagents

To synthesize VK<sub>3</sub>-modified poly-L-lysine (PLL-VK<sub>3</sub>) a procedure similar to one previously described [10] was used. 2-(3-Carboxypropyl)-3-methyl-1,4-naphthoquinone was activated by *N*-hydroxy-succinimide and then reacted with poly-L-lysine hydrochloride ( $M_w$  ca. 80,000, SIGMA) so as to modify ca. 40% of the backbone amide nitrogens. The *Bacillus stearothermophilus* diaphorase (EC 1.6.99; 1090 U/mg) was purchased from Unitika. NAD<sup>+</sup>-dependent glucose dehydrogenase (EC 1.1.1.47; 250 U/mg) was donated by TOYOBO. Ketjenblack (EC-600JD) was supplied by Ketjen Black International, Inc. PDMS (SYLPOT 184 W/C) was purchased from Dow Corning Toray. NADH and NAD<sup>+</sup> were used as received from Oriental Yeast Co.

### 2.2. Electrodes and electrochemical measurements

Descriptions of the preparations of PLL-VK<sub>3</sub>/Dp/GDH-coated electrodes follow. An 8  $\mu$ L PLL-VK<sub>3</sub> solution (4.83 mM VK<sub>3</sub>) was mixed with a 2  $\mu$ L Dp solution (14  $\mu$ g  $\mu$ L<sup>-1</sup> in 50 mM phosphate, pH 7.0). A 4  $\mu$ L portion of the resulting solution was

put onto a glassy carbon (GC) electrode (surface area, 0.07 cm<sup>2</sup>) and left to dry for 2 h. When KB was to be part of the system, first, 10  $\mu$ L of the PLL-VK<sub>3</sub>/Dp solution (described above) was mixed with 1  $\mu$ L of KB that was dispersed in water (ca. 13 mg mL<sup>-1</sup>). Then, a GC electrode was coated with a 4.4  $\mu$ L portion of this mixture. To create the enzymatic bilayer, the surface of a PLL-VK<sub>3</sub>/Dp-coated electrode (with or without KB present) was coated with 4  $\mu$ L of a solution composed of equal volumes of a 16  $\mu$ g  $\mu$ L<sup>-1</sup> GDH, 50 mM phosphate, pH 7.0 solution and a 16 mg mL<sup>-1</sup> PLL solution. Because the isoelectric points are 4.7 for Dp, 4.5 for GDH, and 9.74 for lysine, electrostatic interactions between the enzymes and PLL cause an insoluble catalytic bilayer to form at pH 7.0.

The Pt cathode's PDMS coating was constructed by placing a 2 mg mL<sup>-1</sup> aqueous PDMS emulsion (Toray Dow Corning Silicone, DC 85 ADDITIVE) onto a Pt plate electrode (66.7  $\mu$ L of the emulsion per cm<sup>2</sup>) and then drying the coated electrode for 3 h at room temperature [26].

All electrochemical measurements were performed in 50 mM phosphate, 0.1 M NaCl (pH 7.0) at 37 °C. The electrochemical properties of the two experimental electrodes (with and without KB present) were characterized using a three electrode system (Hokuto Denko HSV-100 electrochemical analyzer) containing an experimentally modified GC-disc electrode (3 mm in diameter) as the working electrode, an Ag|AgCl (saturated KCl) reference electrode, and a platinum wire counter electrode.

### 2.3. Microfluidic biofuel cell

To evaluate the performance of the KB/PLL-VK<sub>3</sub>/Dp/GDH-coated electrode as an anode of a fuel cell, we constructed microfluidic fuel cells of the type shown in Fig. 2. Electrodes were patterned on the surfaces of glass slides by photolithography and sputtering, which is a lift-off process. The anode's electrode was an enzyme-modified gold disc (2 mm in diameter). The cathode's electrode was either PDMS-coated platinum (3 mm  $\times$  10 mm) or a Ag|AgCl half-cell (2 mm in diameter). The Ag|AgCl cathode was fabricated by coating a Pt disc with Ag|AgCl ink (BAS Inc.) that was then cured at 80 °C for 2 h. The fluidic channel was fabricated from PDMS film. The channel height was 1 mm and its width was 3 mm. The fuel cell performance was evaluated by measuring the cell volt-

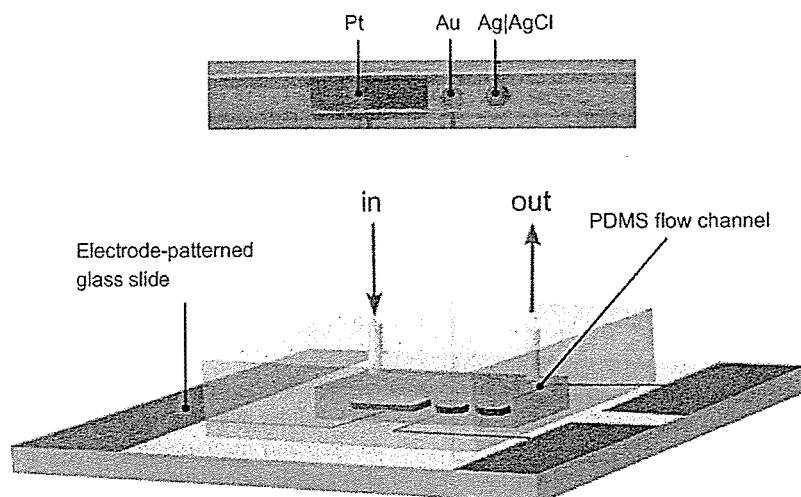


Fig. 2. The structure of the microfluidic biofuel cell used in this study.

age while varying the external resistance between 1 k $\Omega$  and 3 M $\Omega$ .

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Electrochemical properties of the PLL-VK<sub>3</sub>/Dp/GDH-modified and the KB/PLL-VK<sub>3</sub>/Dp/GDH-modified electrodes

The PLL-VK<sub>3</sub>/Dp/GDH-modified electrode exhibited a reversible voltammetric waves that have the mid-peak potential of  $-0.27$  V which is similar to that found for dissolved aqueous VK<sub>3</sub> ( $-0.19$  V, pH 7.0). The separation between the oxidation and reduction peak potentials is 50 mV, while the separation increases slightly as the scan rate increases. The peak currents increased linearly as the scan rate increases, which is typical for a cell with an electrode that has redox molecules adsorbed on its surface.

As shown in Fig. 4, a catalytic oxidation current appeared on addition of 3.0 mM NADH (Fig. 3b, dashed curve) and was 50 times larger than we reported previously for the PAA-VK<sub>3</sub> system [10]. The longer side chains of PLL should increase the flexibility and the reach of the attached VK<sub>3</sub> molecules, which should, in turn, increase the frequency and productivity of collisions with the redox centers of Dp molecules. When both 3.0 mM glucose and 1.0 mM NAD<sup>+</sup> were present, glucose-oxidizing catalytic currents resulted (Fig. 3c); the cell's voltammogram was similar to the one obtained when 3.0 mM NADH was present (Fig. 3b), suggesting that the presumptive electron-relay system diagramed in Fig. 1 functioned in the enzyme bilayer. It is worth noting that other NAD<sup>+</sup>-dependent dehydrogenases, such as alcohol dehydrogenase, could replace GDH.

We have shown that addition of KB to a PAA-VK<sub>3</sub>-modified electrode greatly increases the electrochemical activity of that electrode [10]. Fig. 4 shows that the addition of KB to the PLL-VK<sub>3</sub>/Dp/GDH-modified electrode produced approximately 10-fold larger current waves than that those found when KB was omitted (Compare the Y-axes of Figs. 3 and 4). Fig. 4

insert shows the current density dependence on glucose concentration at 0.4 V in the presence of 1.0 mM NAD<sup>+</sup>. The effective surface area of the KB-modified electrode was estimated using the non-faradic current at  $-0.5$  V and was found to be ca. 46-fold larger than that of an unmodified GC electrode surface. The interactions between all components, i.e., the enzymes, the mediator, and the substrates, were not inhibited by the three-dimensional KB matrix. Although the shapes of the CVs suggest that an enzymatic reaction controlled the value of the catalytic current density, it could be further increased as high as 2 mA cm<sup>-2</sup> when the electrolyte solution was stirred (Fig. 4d). The mesoporous structure of the KB system would cause these complicating CV features.

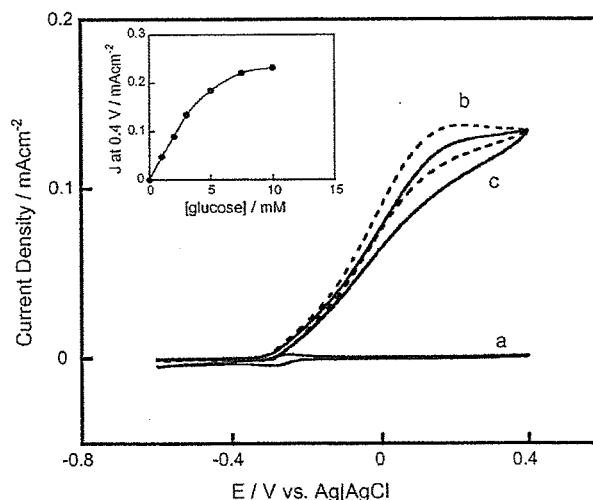


Fig. 3. (a) Cyclic voltammograms for an electrochemical cell containing a PLL-VK<sub>3</sub>/Dp/GDH-modified GC electrode with a N<sub>2</sub>-saturated pH 7.0 phosphate-buffered electrolyte solution at 37 °C. (b and c) Voltammograms for cells similar to that of Fig. 4(a) but with 3.0 mM NADH (b) or 3.0 mM glucose and 1.0 mM NAD<sup>+</sup> (c) added to the electrolyte solutions. In all cases, the scan rate was 5 mV s<sup>-1</sup>. The inset is a plot of the current density at 0.4 V vs. the glucose concentration.

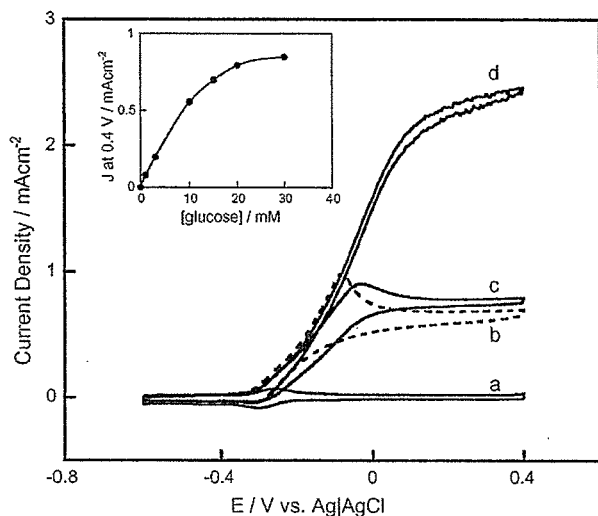


Fig. 4. (a) A cyclic voltammogram for a KB/PLL-VK<sub>3</sub>/Dp/GDH-modified GC electrode in a N<sub>2</sub>-saturated pH 7.0 phosphate-buffered electrolyte solution at 37 °C. (b–d) Cyclic voltammograms in the solution described in the legend of Fig. 4(a) but with 20 mM NADH (b), or 20 mM glucose, 1.0 mM NAD<sup>+</sup> (c), or 30 mM glucose, 1.0 mM NAD<sup>+</sup> (d). For (d), the electrolyte solution was stirred at 1000 rpm. In all cases the scan rate was 5 mV s<sup>-1</sup>. The inset shows a plot of the current density at 0.4 V vs. glucose concentration.

We evaluated the effects of pH and temperature on the glucose oxidation performance of KB/PLL-VK<sub>3</sub>/Dp/GDH-modified electrode (data not shown). The electrode functioned between pH 4.8 and 8.5 and showed maximal activity near pH 7. The electrode's performance improved with increasing temperature until reaching about 45 °C and then declined rapidly at higher temperatures. These results seem to directly reflect the enzymatic activity [27].

The stability of the modified-electrode when stored in a dry condition was evaluated daily by measuring the current density at 0 V (Fig. 5a). The electrode retained over 80% of its

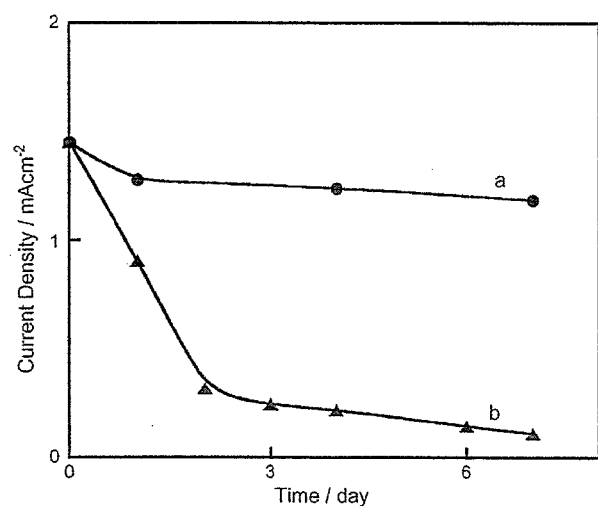


Fig. 5. Plots of the current density measured daily at 0 V in a N<sub>2</sub>-saturated, 5.0 mM glucose, 1.0 mM NAD<sup>+</sup> pH 7 phosphate-buffered electrolyte solution. The KB/PLL-VK<sub>3</sub>/Dp/GDH-modified electrode that when not in use was (a) stored in air or (b) stored in the buffer solution (b).

initial activity at day 7. However, when stored in a phosphate buffer at room temperature (Fig. 5b), the initial current density of 1.5 mA cm<sup>-2</sup> decreased to 0.3 mA cm<sup>-2</sup> within 2 days and then decreased more gradually during the next 5 days. Possibly, the electrode activity decay was caused by both enzyme deactivation and spatial disruption of the electron relay system (Fig. 1) that could, in turn, be caused by a swelling of the bilayer. Also a gradual desorption of mediators and enzymes from the swelled bilayer would cause the decay of electrode performance.

### 3.2. Cell performance in a fluidic channel

Enzyme-based biofuel cells would be formatted into microfluidic systems as power sources for independent power-on-chip and implantable devices [2–5,7,14]. Such systems are also useful when evaluating the electrochemical stability of an experimental biofuel cell that is operating continuously, because the fuel flow rate, which can affect the cell's performance, can be regulated. We, therefore, constructed microfluidic-type cells (Fig. 2) containing an enzyme-modified Au anode and a PDMS-coated Pt or a Ag|AgCl cathode.

Fig. 6 depicts the current–voltage profiles (A) and the power–voltage profiles (B) of these cells when fueled with 5.0 mM glucose and 1.0 mM NAD<sup>+</sup> at a flow rate of 1.0 mL min<sup>-1</sup>. Whether the fuel was N<sub>2</sub>- (□) or air-saturated (Δ), a cell with a Ag|AgCl cathode, had a maximum current density of 0.13 mA cm<sup>-2</sup> and a maximum power density of 20 μW cm<sup>-2</sup> at 0.2 V. However, the open circuit voltage (OCV) was somewhat greater for the cell with N<sub>2</sub>-saturated fuel (0.37 V) than for the cell with air-saturated fuel (0.31 V). The dissolved oxygen will oxidize VK<sub>3</sub> and the enzymes [28], which, in turn, decreases the OCV value. Even so, dissolved oxygen seems not to have a decisive and detrimental effect on the redox reactions of Fig. 1. The glucose/O<sub>2</sub> biofuel cell's performance was evaluated when equipped with a KB/PLL-VK<sub>3</sub>/Dp/GDH anode and a PDMS-coated Pt cathode (Fig. 6, ○). PDMS emulsion-coated electrodes selectively reduce oxygen [26]. To evaluate only the anode's performance, the area of the Pt cathode was ca. 10 times larger than that of the anode. The Pt cathode was placed upstream of the anode, to minimize the presence of contaminating O<sub>2</sub> in the anode's vicinity. For this system, the OCV is 0.55 V and the maximum power density was 32 μW cm<sup>-2</sup> at 0.29 V. The maximum current density was again around 0.13 mA cm<sup>-2</sup>, indicating that the cell's performance was limited by reactions at the anode.

The cell's performance was affected by the flow rate of the fuel (Fig. 7). At a 100 kΩ load, the discharge current density increased as the flow rate increased, which correlates with an increased delivery of fuel at the anode's surface. However, the direct relationship between the discharge current density and the flow rate could also be caused, in part or in whole, by a build-up of O<sub>2</sub> depletion layer in the anode's vicinity, which could occur effectively at lower flow rates. This possibility is supported by a numerical simulation that shows a growing O<sub>2</sub> depletion layer during pre-electrolysis of O<sub>2</sub> at a Pt cathode (data not shown). We are preparing a 3D microstructured cathode within the fluidic channel for effective pre-electrolysis elimination of O<sub>2</sub>.

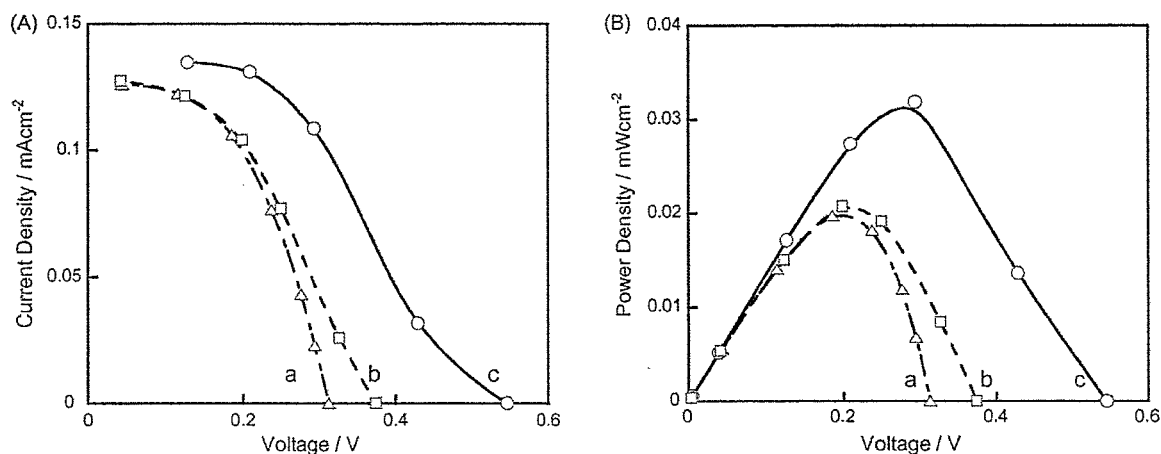


Fig. 6. (A) Current–voltage profiles and (B) power–voltage profiles for a fuel cell operating with a fuel flow rate of  $1 \text{ mL min}^{-1}$  at  $37^\circ\text{C}$ . The fuel was a pH 7 phosphate buffer containing  $5.0 \text{ mM}$  glucose and  $1.0 \text{ mM}$   $\text{NAD}^+$ . The anode was a KB/PLL-VK<sub>3</sub>/Dp/GDH-coated Au electrode and the cathode was (a) a Ag|AgCl electrode ( $\text{N}_2$ -saturated fuel), (b) a Ag|AgCl electrode (air-saturated fuel) or (c) a PDMS-coated Pt (air-saturated fuel).

We tested the stabilities of the biofuel cells (each with one of the two cathodes) by continuously operating them with a flow rate of  $1.0 \text{ mL min}^{-1}$  and a  $100 \text{ k}\Omega$  load (Fig. 8). The values found for the discharge current densities at any given time for the two cells were essentially the same, indicating that reactions at the anodes controlled the cells' stabilities. During the first few hours of operation, the current increased, probably because the fuel penetrated into entire the bilayer. After peaking, the discharge current slowly decreased. After 18 h of continuous operation, for both cells, the discharge current density was ca.  $0.05 \text{ mA cm}^{-2}$ , which was still larger than half of the initial value. As mentioned previously to explain the results of Fig. 5, both gradual desorption of the enzymes and VK<sub>3</sub> and a partial functional degradation of the electron-relay system owing to bilayer swelling could cause the decrease in the discharge current densities. The cells' stabilities may be improved by optimizing the cross-linking of the PLL polymer and inhibiting swelling

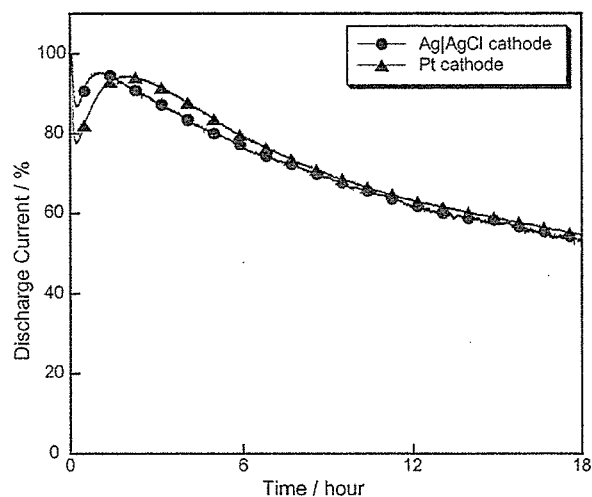


Fig. 8. Plots of the discharge current density ( $R = 100 \text{ k}\Omega$ ) vs. time of operation for biofuel cells containing a KB/PLL-VK<sub>3</sub>/Dp/GDH anode and a Ag|AgCl cathode (●) or a PDMS-coated Pt cathode (▲), and an air-saturated pH 7.0 phosphate-buffered fuel containing  $1.0 \text{ mM}$   $\text{NAD}^+$  and  $5.0 \text{ mM}$  glucose. Both cells were run at  $37^\circ\text{C}$ , with a flow rate of  $1.0 \text{ mL min}^{-1}$ .

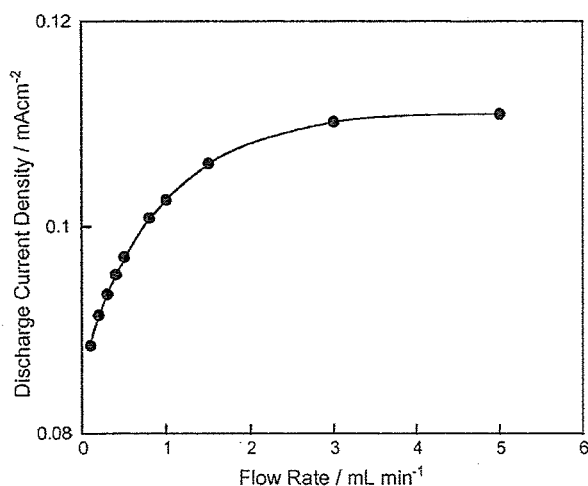


Fig. 7. A plot of the discharge current density vs. the fuel flow rate at  $37^\circ\text{C}$  for a biofuel cell containing a KB/PLL-VK<sub>3</sub>/Dp/GDH-modified anode and a PDMS-coated Pt cathode. The load was  $100 \text{ k}\Omega$ . The fuel was an air-saturated pH 7.0 phosphate-buffered  $1.0 \text{ mM}$   $\text{NAD}^+$ ,  $5.0 \text{ mM}$  glucose solution.

of the bilayer by physical means; e.g., lamination of the outer bilayer surface with an electrolyte-permeable film.

#### 4. Conclusions

PLL-VK<sub>3</sub> was a mediator of Dp/GDH-catalyzed glucose oxidation. Other enzyme bilayers could be developed that would accommodate a different  $\text{NAD}^+$ -dependent enzymes, and, thus, when any one such bilayer is a part of an anode in a biofuel cell, the cell could use a different fuel. We used fluidic cells with controlled fuel flow rates to evaluate the properties (e.g., stability) of a KB/PLL-VK<sub>3</sub>/Dp/GDH electrode. The observed decay of electrode activity during the continuous operation of the cells is probably partially caused by swelling of the bilayer. Lamination with an electrolyte-permeable film might prevent excessive swelling. Oxidative degradation of the enzymes and

the mediator would be a serious problem during longer periods of operation. Therefore, to eliminate O<sub>2</sub> from vicinity of the anode, we set the cathode upstream of the anode. Construction of a 3D microstructured cathode is in progress and it should more effectively eliminate O<sub>2</sub> from the vicinity of the anode.

### Acknowledgements

The authors express their appreciation to Dr. Kosuge and Dr. Fukasaku (Daiichi Pure Chemicals Co., Ltd.) for the synthesis of the VK<sub>3</sub> derivative, and to Prof. Kano and Prof. Tsujimura (Kyoto Univ.) for their kind advises concerning our research. This work was supported by a Health and Labor Sciences Research Grant from the Ministry of Health, Labor, and Welfare of Japan. Glucose dehydrogenase was donated by TOYOBO.

### References

- [1] B. Willner, I. Willner, in: I. Willner, E. Katz (Eds.), *Bioelectronics*, Wiley–VCH, Weinheim, 2005, Chapter 3.
- [2] N. Mano, F. Mao, A. Heller, *J. Am. Chem. Soc.* 125 (2003) 6588.
- [3] A. Heller, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 6 (2004) 209.
- [4] A. Heller, *AIChE J.* 51 (2005) 1054.
- [5] A. Heller, *Anal. Bioanal. Chem.* 385 (2006) 469.
- [6] E. Katz, B. Filanovsky, I. Willner, *New J. Chem.* (1999) 481.
- [7] E. Katz, A.F. Buckmann, I. Willner, *J. Am. Chem. Soc.* 123 (2001) 10752.
- [8] T. Tamaki, T. Yamaguchi, *Int. Eng. Chem. Res.* 45 (2006) 3050.
- [9] S. Tsujimura, K. Kano, T. Ikeda, *Electrochemistry* 70 (2002) 940.
- [10] F. Sato, M. Togo, M.K. Islam, T. Matsue, J. Kosuge, N. Fukasaku, S. Kurosawa, M. Nishizawa, *Electrochem. Commun.* 7 (2005) 643.
- [11] N.L. Akers, C.M. Moore, S.D. Minteer, *Electrochim. Acta* 50 (2005) 2521.
- [12] C.M. Moore, S.D. Minteer, R.S. Martin, *Lab. Chip* 5 (2005) 218.
- [13] G.T.R. Palmore, H. Bertschy, S.H. Bergens, G.M. Whitesides, *J. Electroanal. Chem.* 443 (1998) 155.
- [14] S.C. Barton, J. Gallaway, P. Atanassov, *Chem. Rev.* 104 (2004) 4867.
- [15] K. Kano, T. Ikeda, *Anal. Sci.* 16 (2000) 1013.
- [16] K. Kano, T. Ikeda, *Electrochemistry* 71 (2003) 86.
- [17] S. Tsujimura, K. Kano, T. Ikeda, *J. Electroanal. Chem.* 576 (2005) 113.
- [18] S. Tsujimura, T. Nakagawa, K. Kano, T. Ikeda, *Electrochemistry* 72 (2004) 437.
- [19] A. Sato, K. Kano, T. Ikeda, *Chem. Lett.* 32 (2003) 880.
- [20] Y. Ogino, K. Takagi, K. Kano, T. Ikeda, *J. Electroanal. Chem.* 396 (1995) 517.
- [21] F. Sammoura, K.B. Lee, L. Lin, *Sens. Actuators A* 111 (2004) 79.
- [22] K.B. Lee, *J. Micromech. Microeng.* 15 (2005) S210.
- [23] R. Ferrigno, A.D. Strook, T.D. Clark, M. Mayer, G.M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* 124 (2002) 12930.
- [24] E.R. Choban, L.J. Markoski, A. Wieckowski, P.J.A. Kenis, *J. Power Sources* 128 (2004) 54.
- [25] R.S. Jayashree, L. Gancs, E.R. Choban, A. Primak, D. Natarajan, L.J. Markoski, P.J.A. Kenis, *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005) 16758.
- [26] F. Mizutani, Y. Sato, Y. Hirata, S. Iijima, *Anal. Chim. Acta* 441 (2001) 175.
- [27] <http://www.toyobo.co.jp/e/seihin/xr/enzyme/product.html>.
- [28] H. Tatsumi, H. Nakase, K. Kano, T. Ikeda, *J. Electroanal. Chem.* 443 (1998) 236.

# 分子心血管病

別刷



# ナノサーフェステクノロジーによる新規生体適合性表面処理 Toyobo-NCVC コーティングの開発と補助人工心臓および膜型人工肺への応用

水野敏秀<sup>\*1</sup>, 西中知博<sup>\*1</sup>, 片桐伸将<sup>\*1</sup>, 佐藤正喜<sup>\*2</sup>, 田中秀典<sup>\*2</sup>, 柏原 進<sup>\*2</sup>  
酒井一成<sup>\*3</sup>, 松田智昌<sup>\*3</sup>, 築谷朋典<sup>\*1</sup>, 本間章彦<sup>\*1</sup>, 巽 英介<sup>\*1</sup>, 妙中義之<sup>\*1</sup>

MIZUNO Toshihide, NISHINAKA Tomohiro, KATAGIRI Nobumasa, SATO Masaki, TANAKA Hidenori, KASHIBARA Susumu  
SAKAI Kazunari, MATSUDA Tomomasa, TSUKIYA Tomonori, HOMMA Akihiko, TATSUMI Eisuke, TAENAKA Yoshiyuki

<sup>\*1</sup>国立循環器病センター研究所 <sup>\*2</sup>東洋紡績株式会社 <sup>\*3</sup>大日本インキ化学工業株式会社

## SUMMARY

われわれは、従来から開発をおこなってきたナノサーフェステクノロジーを応用し、コーティング剤の分子構造をナノ単位で制御し、血液適合性への最適化を図ることにより、血液界面における長期間の血液凝固防止作用の維持を可能とした、新しいコンセプトの Toyobo-NCVC コーティングを開発しえた。本技術は、既存の人工心臓（国立循環器病センター型空気駆動式補助人工心臓、東洋紡績社製）および膜型人工肺（Platinum Cube NCVC シリーズ、大日本インキ社製）に採用され、その長期的な抗血栓性を飛躍的に向上させ、その長期使用における安全性の維持に大きく貢献すると考えられた。

## POINTS

- Toyobo-NCVC コーティングは、すぐれた血液適合性と長期耐久性を実現する新規表面処理法である。
- Toyobo-NCVC コーティングは、人工心臓や膜型人工肺の安全性の向上に寄与する新技術である。
- 次世代型人工臓器開発には、より高性能で安定した生体適合性をもつ表面処理技術の開発が必要である。

## KEY WORDS

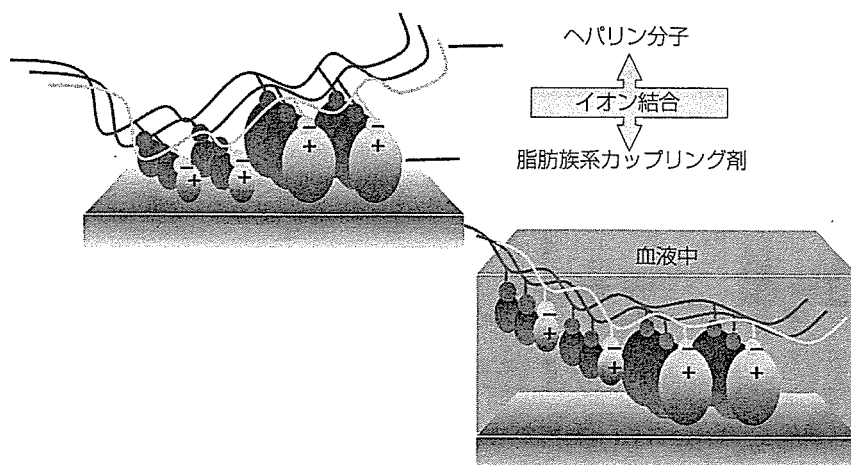
ナノサーフェステクノロジー, 生体適合性表面処理技術, 人工臓器, 抗血栓性素材

## はじめに

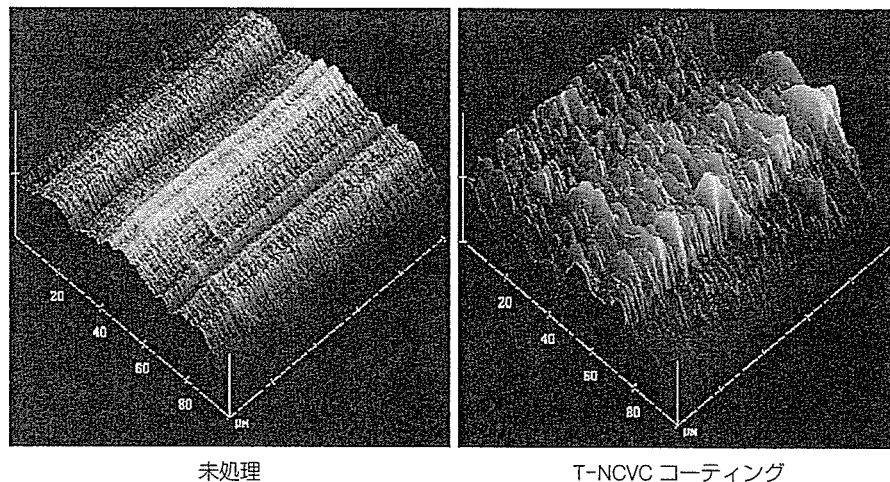
近年、人工心臓および人工肺などの循環器系人工臓器では、血液と接する器材の表面に血栓形成を抑制する種々の血液適合化処理をおこなうことが一般的になっている。従来の研究では、器材表面での血栓形成を防止するための理論的手法として、器材表面の均一化（平滑化）、器材表面への血漿蛋白質吸着の防止（材料表面の性質の制御による抗血栓性の賦与）、器材表面に血液凝固防止剤（ヘパリンなど）を固定化する方法（抗血栓物質の利用）

など多くの研究がなされている<sup>1)</sup>。しかし、いずれの方法においても、その効果を長期的に維持することは困難であり、いまだに十分な技術の確立がなされていない。

われわれは、かかる問題に対し従来から研究をおこなっているコーティング材の分子構造制御法（ナノサーフェステクノロジー）により、血液と接する材料表面の生体適合性能を最適化し、長期間の血液凝固防止作用の維持を可能とした Toyobo-NCVC (T-NCVC) コーティングを開発しえた<sup>2)</sup>。本技術は、ナノサーフェステクノロジーにより分子単位で制御された長鎖ジアルキル



図① T-NCVC コーティングの概念図  
(西中知博ら, 2002<sup>4)</sup>より改変引用)



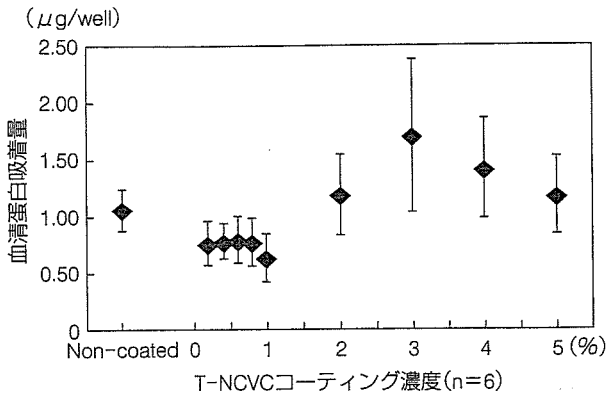
図② T-NCVC コーティングのナノ表面構造  
T-NCVC コーティングの超微細構造は、未処理のポリスチレン平面と比較し、顆粒状の表面を有する。

基を有する脂肪酸系カップリング剤とヘパリンの複合体からなる新たな血液適合化処理技術であり、従来技術では短期の抗血栓効果しか望めなかったイオンコーティング法の欠点を克服し、長期の抗血栓効果を保持することを可能とした。また、類似するほかのヘパリンコーティング法と比較しても、処理工程が簡便で、比較的安価で提供できることを特徴としている。T-NCVC コーティングは、すでに製品化されている人工心臓（国立循環器病センター型空気圧駆動式補助人工心臓、東洋紡績社製）および膜型人工肺（Platinum Cube NCVC シリーズ、大日本インキ社製）に採用され、その長期的な抗血栓性を

飛躍的に向上させることにより、その長期使用における安全性の維持に大きく貢献している<sup>3)4)</sup>。

## ■ 1. T-NCVC コーティングのナノ表面性状と抗血栓性機序

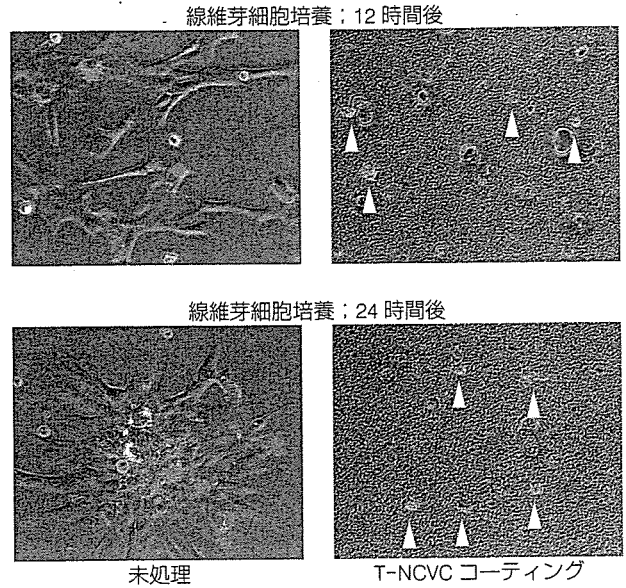
われわれが東洋紡績社と共同開発をおこなった T-NCVC コーティングは、複数の長鎖ジアルキル基を有する脂肪酸系カップリング剤とヘパリンのイオン結合型複合体で、ナノサーフェステクノロジー技術を応用し、その分子構造にナノ単位のアレンジを加え、血液界面に



図③ T-NCVC コーティング各濃度における血漿蛋白吸着の変化  
高濃度の T-NCVC コーティング処理後には、無処理ポリスチレン表面にくらべ、血漿中の蛋白が吸着しやすい性質になっている。

対するコーティング材の最適化をおこなうことにより、血液に対する適合性を向上させた新規表面処理技術である(図①)。T-NCVC コーティングは、その表面超微細構造が200~500 nmの凹凸をくり返す顆粒状構造で(図②)、器材への血漿蛋白の吸着性についても、コーティング材表面に多量の蛋白を吸着させる傾向を有し(図③)、従来法とは異なった独自のコンセプトで設計されている。さらに T-NCVC コーティングは、非常にすぐれた細胞接着阻害能を特徴とし、本コーティングに対する培養線維芽細胞の接着実験では、静置培養24時間後においても、コーティングを施した培養皿底面への線維芽細胞の接着や仮足の伸展などは認められず、細胞は球形のまま培養維持が可能であることが示された(図④)。また、T-NCVC コーティングの細胞接着阻害能は、培養液中にフィブロネクチンないしビトロネクチンを添加し、細胞の接着作用を促進させた状態においても、その阻害効果が低下することはなく、非常に安定的であることが認められている。

一般的に、ヘパリン化材料を含む人工材料表面は、固相化されたヘパリンの徐放による血液凝固阻止作用を主な抗血栓性機序として設計されている<sup>5)</sup>。したがって、イオンコーティング法によるヘパリン化材料については、使用に伴う固相化ヘパリン量の減少と血漿蛋白の吸着により抗血栓性能が低下していくため、長期的な効果を望むことは困難であった<sup>6)</sup>。しかしながら、T-NCVC コー



図④ T-NCVC コーティングの細胞接着阻害効果  
T-NCVC コーティング上では、線維芽細胞培養24時間経過後においても、培養細胞は底面に付着せず、仮足の形成もおこなわれない(矢頭)。

ティングでは、器材表面からのヘパリンの徐放過程を制御することにより長期使用時における器材表面のヘパリン残存量を増加させるとともに、器材表面の脂質成分上に高濃度の硫酸多糖類層を形成することで生体細胞膜に近い表面性状を模倣し、コーティング表面に吸着した細胞接着性蛋白の存在に左右されない安定した細胞接着阻害能を付与した。その結果、従来法の欠点を克服し、実際にすぐれた抗血栓性を長期に維持することが可能となった。さらに T-NCVC コーティング処理過程は、多種の金属および高分子医療材料に塗布するだけの簡便な手法で、その材料の抗血栓性を向上させることが可能と考えられる。したがって、本新規血液適合化表面処理技術は、その使用に際して、抗凝血療法の併用を最小限度に止めることが可能であり、また、器材からのヘパリンなど血液凝固阻害物質の徐放がきわめて微量なため、術後の出血性合併症の発生を抑制することが期待され、これからの循環器系人工臓器の長期使用時における安全性の寄与に貢献できる新技術として注目されている。

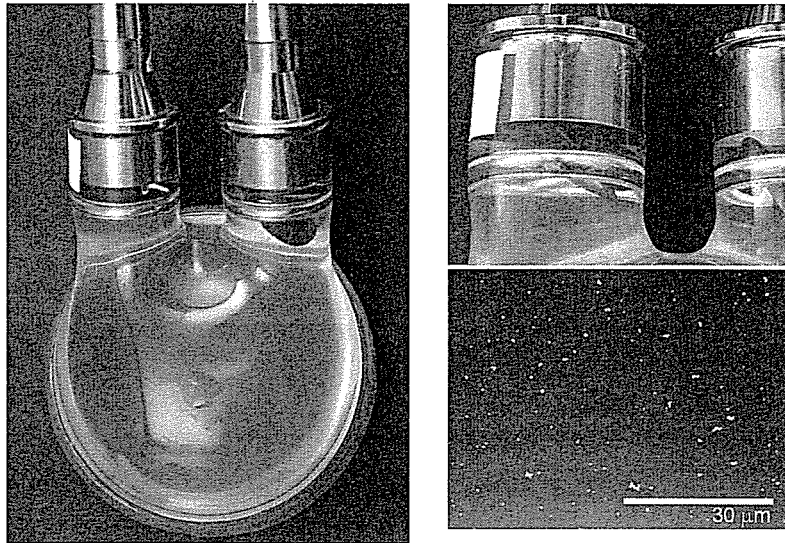


図6 T-NCVC コーティング国立循環器病センター型空気圧駆動式補助人工心臓  
91日間の長期動物実験後においても、人工心臓内に明らかな血栓形成は認められない。  
(西中知博ら, 2005<sup>3)</sup>より改変引用)

## ■ II. T-NCVC コーティング国立循環器病センター型空気圧駆動式補助人工心臓

人工心臓は、重症心不全患者の移植までのブリッジ使用 (Bridge to Transplantation) や再び心機能を回復するまでの機能補助 (Bridge to Recovery) を目的とする短、中期的な治療手段の1つとして改めて認識されている。しかし一方では、心機能の回復を見込めない症例に対する恒久的な使用を目的とした Destination Therapy に対する有用なツールとしての期待も高まっている。その結果、重症心不全患者に対する人工心臓の有用性の再認識とともに患者の QOL (quality of life) を考慮した、より安全に長期間使用できる人工心臓システムの開発が急務となっている。

このような現状において、わが国で主に使用されている国立循環器病センター型空気圧駆動式補助人工心臓 (Toyobo-NCVC VAS) を長期的かつ安全に使用するための改良は、非常に意義深いものである。そのための重要な課題の1つは、人工心臓の抗血栓性を向上させ、使用患者の血栓塞栓症の発生率を低下させることであり、欧米諸国ではすでに補助人工心臓の血液ポンプ表面にへ

パリン化処理を施し、その抗血栓性を向上させる試みがなされ、良好な結果が得られつつある。

そこで、われわれはこの Toyobo-NCVC VAS に対し、ナノサーフェステクノロジーから生み出された T-NCVC コーティングを施すことにより、Toyobo-NCVC VAS の抗血栓性を飛躍的に向上させ、長期使用への安全性を向上させることを目標に開発をおこなってきた。国立循環器病センター研究所でおこなわれた前臨床的動物実験では、この T-NCVC コーティングを施した改良型 Toyobo-NCVC VAS を、成ヤギに左心バイパス方式で装着し、最長 154 日間連続的に駆動することにより、その長期的な抗血栓性について検討をおこなった。本動物実験に際しては、ワーファリン投与など抗凝血療法は一切おこなわず、血圧モニター用ライン維持を目的としたヘパリンのきわめて微量な投与をおこなうのみであったが、実験終了後の血液ポンプ内の血栓形成状態は、弁輪周囲のわずかな部位に認められたのみであり、ポンプの血液室内に形成される血栓は顕著に抑制されていた (図6)。本研究により、T-NCVC コーティングは、血液ポンプの耐久性に関連する物理的および化学的特性に変化を与えることなく、従来と同様の耐久性を維持しながら、ポンプの抗血栓性能を顕著に向上させることが示さ