

平成24年度課題解決型医療機器等開発事業

「水晶体弾性度測定による老視(老眼)の定量的診断機器の開発」

研究成果報告書(要約版)

平成25年 2月

委託者 経済産業省

委託先 独立行政法人理化学研究所

目次

第1章 研究開発の概要

1-1 研究開発の背景・研究目的及び目標

1-2 研究体制

1-3 成果概要

1-4 当該研究開発の連絡窓口

第2章 本論

2-1 実験室レベルの定量的老視診断装置の開発・試作(独立行政法人理化学研究所)

2-2 実験室レベルの水晶体の光弾性計測(学校法人慶應義塾 慶應義塾大学 医学部)

2-3 光弾性波の計測とその解析(学校法人慶應義塾 慶應義塾大学 SFC研究所)

2-4 定量的老視診断装置のプロトタイプの開発・試作(株式会社コーナン・メディカル)

最終章 全体総括

第1章 研究開発の概要

1-1 研究開発の背景・研究目的及び目標

1-1-1 研究開発の背景・研究目的

老視(老眼)は加齢により水晶体の弾性が失われる病態であり、世界的に高齢化が進む現在でも老視の定量的測定機器は存在しない。その為、様々な治療等の効果測定が困難となり治療法確立が遅れていた。本研究では、光干渉技術を用いた弾力測定方法により水晶体の弾性度を定量的に測定する事を可能とする、世界初の老視の定量的診断機器を開発する。成果は日本発検査機器として、検診領域、老化防止薬剤の開発等への活用が期待される。

1-1-2 研究開発の目標

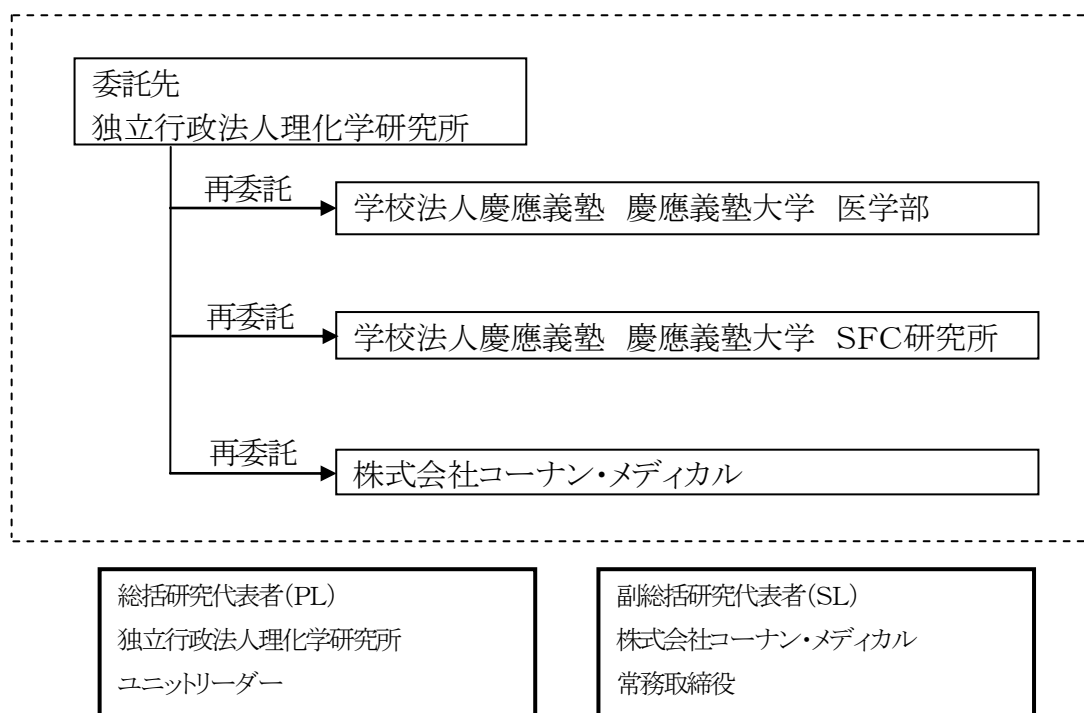
老視は、水晶体を構成するたんぱく質が変性し弾性が失われることにより発生するといわれている。本研究は、微弱なパルスレーザーを水晶体に照射し、発生する光弾性波を利用して水晶体の状態を計測しようというものである。光弾性波による物質の弾性の計測は、すでに工業用途には利用されており、本研究は、この方式を目の診断に適用しようというものである。

初年度(平成24年度)は、2年目以降の製品試作機を開発するための基礎データの計測を中心に開発を進める。発生する弾性波の大きさ、緩和時間の年齢に応じた概算値を計測する。また、水晶体への弾性波の励起に適した光の波長を選択する。発生した弾性波の計測には、水晶体の界面から得られる反射光を利用し、干渉計により計測する。更に、眼底の像のひずみの変化による計測も並行して行う。これらの計測系の構築を並行して推進し、実験室レベルの試作器を完成させる。

1-2 研究体制

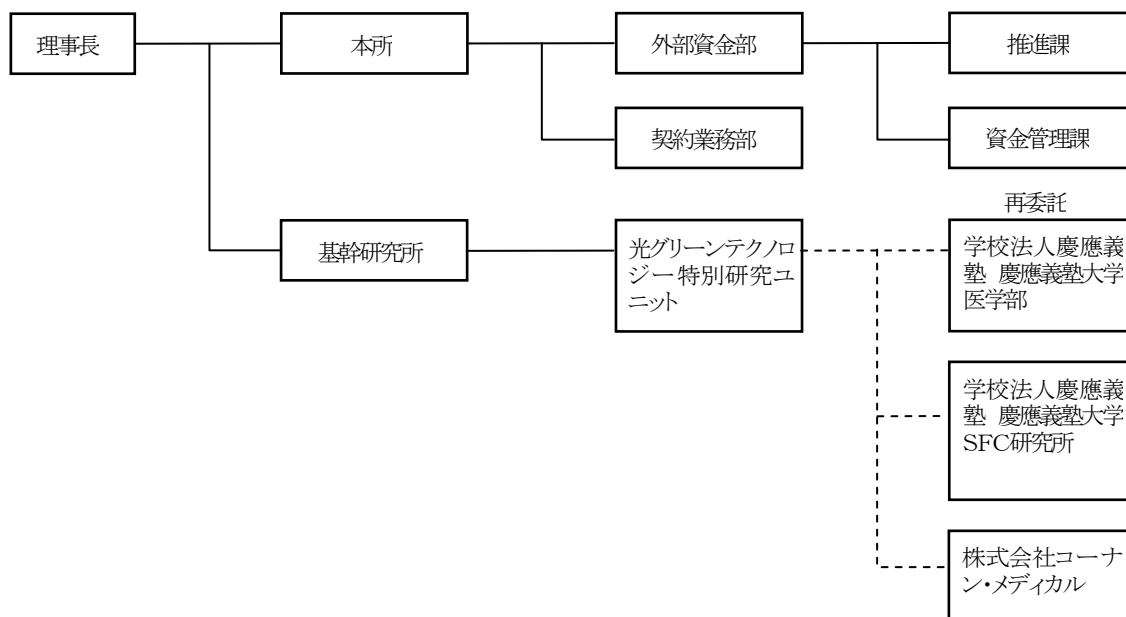
1-2-1 研究組織及び管理体制

(1) 研究組織



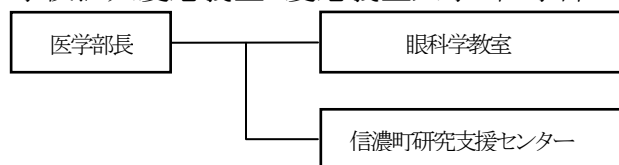
(2)管理体制

①事業管理機関[独立行政法人理化学研究所]



②再委託先

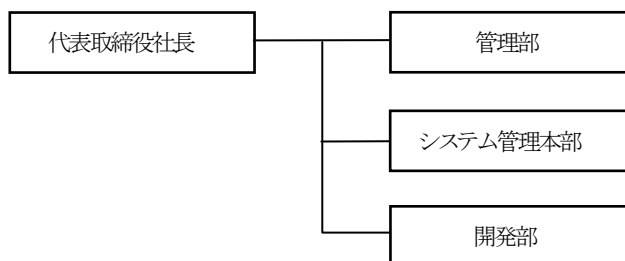
学校法人慶應義塾 慶應義塾大学 医学部



学校法人慶應義塾 慶應義塾大学 SFC研究所



株式会社コーナン・メディカル



1-2-2 管理員及び研究員

(1) 事業管理機関[独立行政法人理化学研究所]

①管理員

氏名	所属・役職
山口 晴夫	本所 外部資金部 推進課 課長
遠藤 聡	本所 外部資金部 推進課 契約事務職員

②研究員

氏名	所属・役職
和田 智之	基幹研究所 光グリーンテクノロジー特別研究ユニット ユニットリーダー
小川 貴代	基幹研究所 光グリーンテクノロジー特別研究ユニット 基礎科学特別研究員
Oleg Loutchev	基幹研究所 光グリーンテクノロジー特別研究ユニット 基幹研究所研究員
小町 祐一	基幹研究所 光グリーンテクノロジー特別研究ユニット 特別研究員
国本 幸紀	基幹研究所 光グリーンテクノロジー特別研究ユニット テクニカルスタッフ I

(2) 再委託先の研究員

①学校法人慶應義塾 慶應義塾大学 医学部

氏名	所属・役職
坪田 一男	医学部 眼科学教室 教授
根岸 一乃	医学部 眼科学教室 准教授
井出 武	医学部 眼科学教室 非常勤講師
鳥居 秀成	医学部 眼科学教室 助教
川島 素子	医学部 眼科学教室 特任講師
中村 滋	医学部 眼科学教室 共同研究員
樋口 明弘	医学部 眼科学教室 特任講師
大西 絵莉奈	医学部 眼科学教室 臨時職員

②学校法人慶應義塾 慶應義塾大学 SFC研究所

氏名	所属・役職
神成 淳司	環境情報学部 神成研究室 准教授
渡辺 光博	政策・メディア研究科 教授
工藤 正博	政策・メディア研究科 特任講師
小野 雄太郎	SFC研究所 所員(訪問)
鳥海 春樹	湘南藤沢研究支援センター臨時職員
高科 庸子	湘南藤沢研究支援センター臨時職員

③株式会社コーナン・メディカル

氏名	所属・役職
笠原 達也	常務取締役 兼 システム管理本部 本部長 兼 開発部 部長
濱田 洋一	開発部 技術顧問
隅井 康博	開発部 次長
荒木 琢磨	開発部 課長
外村 孝次	開発部 課長
加藤 忠	開発部 課長
伊藤 富康	開発部 課長
大塚 裕二	開発部 課長代理
山本 英和	開発部 主任
和田 大裕	開発部 主任

1-3 成果概要

初年度となる平成 24 年度は、2 年目以降の製品試作機を開発するための基礎データの計測を中心にして、以下の分担で事業を推進した。

独立行政法人理化学研究所…実験室レベルの定量的老視診断装置の開発・試作
学校法人慶應義塾 慶應義塾大学 医学部…実験室レベルの水晶体の光弾性計測
学校法人慶應義塾 慶應義塾大学 SFC研究所…光弾性波の計測とその解析
株式会社コーナン・メディカル…定量的老視診断装置のプロトタイプ機の開発・試作

その結果、実験室レベルの定量的老視診断装置(原理実証機)を完成させ、寒天・ゲル等の擬似水晶体及びビラットの眼球や水晶体等を用いた予備実験により、水晶体の弾性を光学的に非接触で測定する定量的老視診断装置が実現可能であることを実証した。同時に 2 年目以降に開発する製品試作機の原型となるプロトタイプ機を完成させた。また、実用化や普及に向けた課題を整理し、分析アルゴリズムを実装するに際し必要とされる項目について検討した。

以上により、1-1-2 項に示す平成 24 年度の目標を達成した。

1-4 当該研究開発の連絡窓口

独立行政法人理化学研究所
外部資金部推進課
遠藤 聡

TEL: 048-467-9642

FAX: 048-467-2634

E-mail: satoshi.endo@riken.jp

第2章 本論

各研究組織の研究開発成果を以下に纏める。

2-1 実験室レベルの定量的老視診断装置の開発・試作(独立行政法人理化学研究所)

2-1-1 研究開発目標

人の水晶体の弾性を光学的に非接触で測定する方法を検証する。光音響効果、次に表面弾性波を非接触で測定する干渉計について検証を行い、最後に両者を結合した測定光学計を構築して可能性について検証する。

予備実験でラットの眼球及び水晶体から光音響効果による表面弾性波の発生の確認を行った。次にガラス材料と擬似水晶体のゲル(衝撃吸収材)の表面弾性波を非接触で干渉計を用いて測定し、測定システムの検証を行った。

2-1-2 成果

光音響効果の原理を説明する。物質にレーザー光を照射したとき、吸収された光エネルギーは、発光、励起過程、あるいは欠陥生成などに消費される以外は熱になる。物質に周期的な断続光を照射すると、物質表面で光エネルギーの吸収が起こり、表面の温度が局部的に上昇・下降をくりかえす。これにより、物質表面がわずかながら膨張と収縮を繰り返し、物質の外部に起こる表面波と内部に圧力として伝わる内面波の2つの波が発生する。この現象を光音響効果と呼ぶ。



図1 光音響効果

(1)ラットの眼球及び水晶体の光音響測定

擬似水晶体の寒天・ゲルの実験から眼球及び水晶体の測定が可能性のあることが推測できたので、ラットの眼球および水晶体の光音響信号の測定を試みた。

光源は Nd:YAG レーザー(波長 532nm, エネルギー 12mJ, パルス幅 3-5ns)を用いた。パルスレーザー光をサンプルに照射する。照射面の近傍にマイクロフォンを設置し音響信号を増幅しデジタルストレージオシロスコープで観測した。その際、照射光との同期を取るためにフォトダイオードで反射光を受光してトリガーをかけた。サンプルには、ラットから切り出した眼球及び水晶体の光音響の測定実験を行った。

図2にラットの目の構造と光音響測定光学系を示す。ここでは、眼球は角膜を含む全体を示す。水晶体の測定では水晶体(レンズ)を眼球から取り出したものである。測定結果を図3に示す。眼球は、傷と血液の付着が若干あった。図に示すように、信号の計測は可能であることが分かった。水晶体は透明で直径が約2mmであった。眼球に比較すると強度は弱い光音響信号が検出出来た。眼球の測定では、表面の血液の付着が光の吸収を増大して、信号強度を増大した可能性がある。

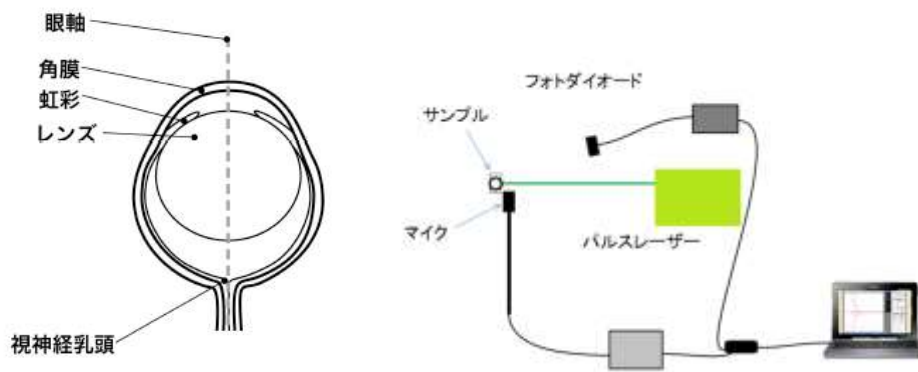


図2 ラットの眼の構造と光音響測定光学系

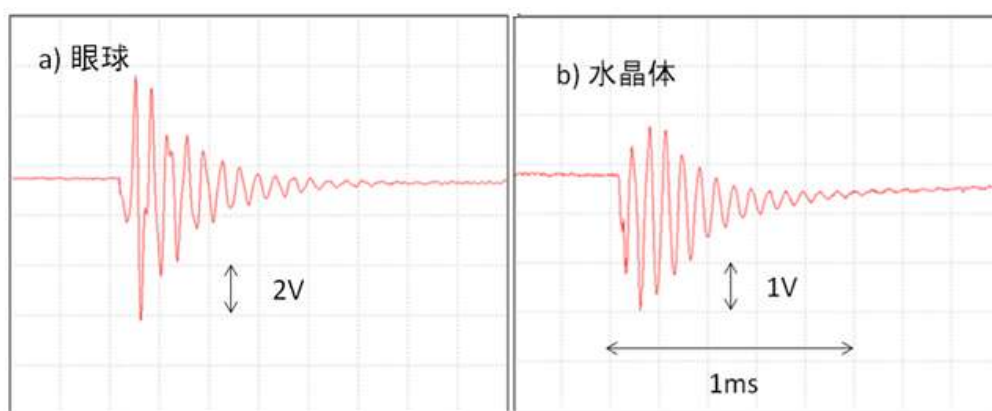


図3 ラットの a)眼球と b)水晶体の光音響信号

(2) 生きたラットの眼の光音響効果予備実験

予備実験として、生きたラットの眼の光音響効果の測定をして問題点の有無を実際に試験することで調べた。

参考結果を図4に示す。実際に試験した結果、肉眼で見る限りラットの眼の表面の破損は認められなかった。レーザー光のエネルギー(533nm, 10mJ, 6ns)で測定は可能なことが分かった。網膜等の部位の損傷ほどの程度あるかは未知数である。光干渉計測では水晶体の膜面の変位を見るので問題はないと考える。

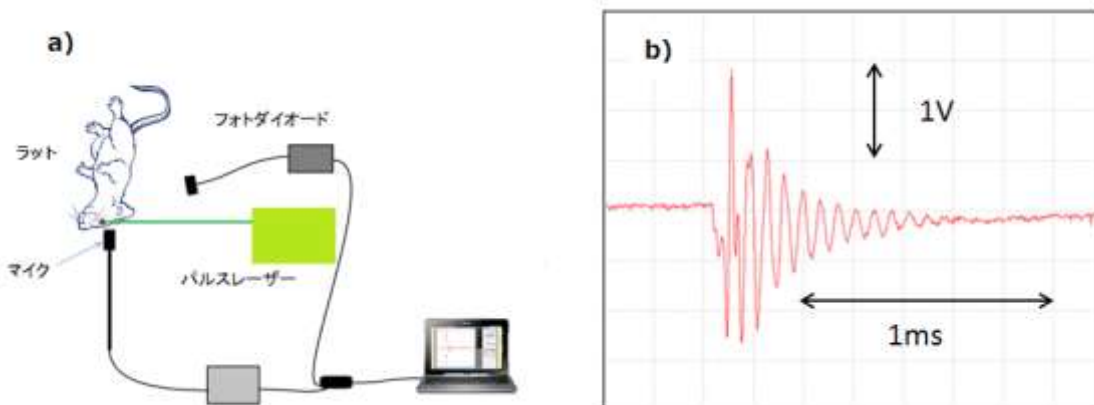


図4 生きたラットの光音響信号測定 a) 光学系 b) 測定結果

(3) ナノ秒パルスレーザーによる光音響波のマイケルソン干渉計による測定

干渉計は光源からの光を二つに分け、一方は参照ミラーで反射させもう片方は試料(物体)に照射してその反射光を検出部に導く。検出部では、両者の光が干渉して、干渉縞を形成する。試料の移動により、二つの光の位相変化によって干渉縞が変化する。光の波長オーダーの計測が理論的には可能である。ここでは、光音響効果による表面弾性波を干渉計によって測定する。

光音響波(表面弾性波)の発生を Q スイッチ Nd:YAG レーザー(波長 532nm, エネルギー 10mJ, パルス幅 3-5ns)を用いて、表面弾性波を発生させその波をマイケルソンの干渉計で測定する。サンプルは、比較的平面性の高い厚さ 0.15mm のカバーガラスを用いた。カバーガラスはミラーマウントに固定した。励起光は、光学系を簡単かつ迷光の発生を防ぐためにサンプルの後方から照射した。受光はフォトダイオードで行った。前面に励起レーザー光をカットするためにフィルターを付けた。この実験ではトリガー信号をレーザー本体のアウトプットを利用して行った。信号の観測はデジタルストレージオシロスコープで観測した。測定光学系を図 5 に示す。

測定結果を図 6 に示す。左側のパルス波形は、励起レーザー光である。励起レーザー光は強度が強く、予め用意した励起光カットフィルターで完全に除去できずに迷光となってフォトダイオードに入った。次の山の部分がカバーガラスの変位信号である。信号から振幅強度と緩和時間がわかる。これは、材料の物性に関わる。信号の質について、使用中のアンプは感度を上げるため周波数特性を犠牲にしているため応答が良くない。この点は改善点である。励起光の除去も S/N 等を上げる改善点である。

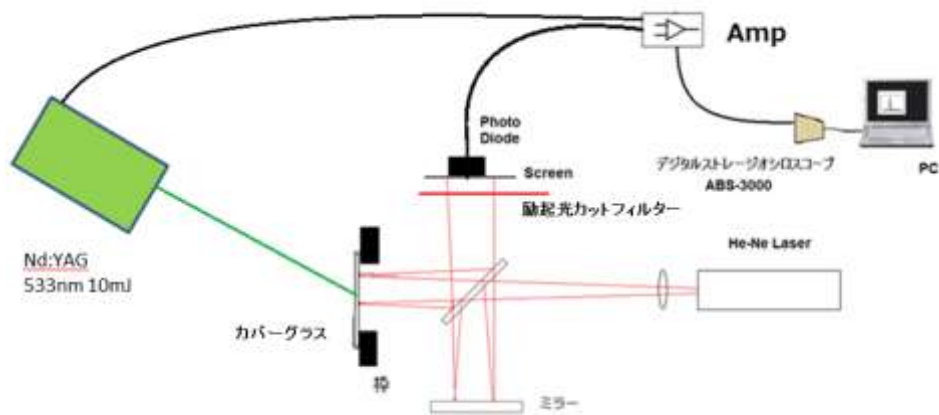


図 5 表面弾性波測定光学系

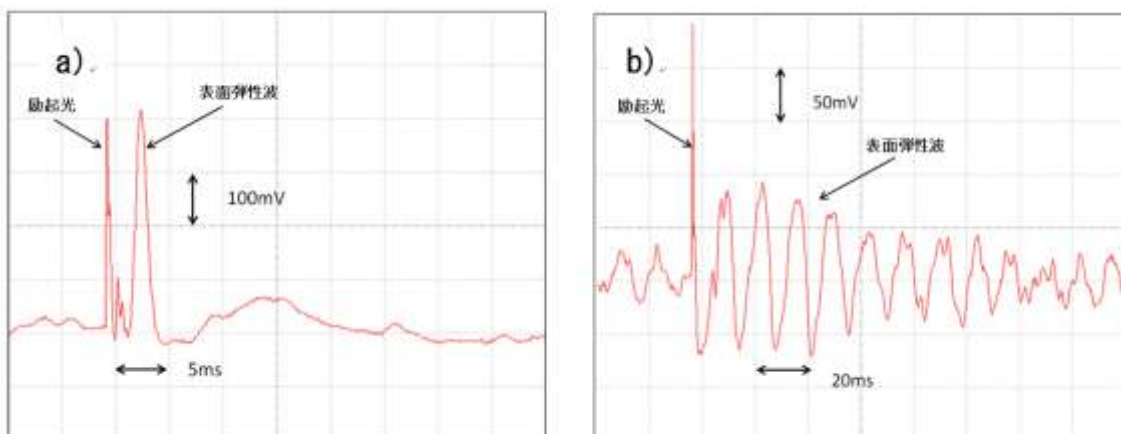


図 6 ナノ秒パルスレーザー励起による a)ガラス面 b)ゲルの表面弾性波

2-1-3 まとめ

ラットの眼球および水晶体に励起レーザーを照射して表面弾性波が発生することを確認した。測定システムとしては、ナノ秒パルスレーザーでガラス及びゲル(擬似水晶体)に表面弾性波を発生させ、干渉計でその表面弾性波を測定した。測定システムとして水晶体の弾性波の測定が可能であることを確認した。

2-2 実験室レベルの水晶体の光弾性計測(学校法人慶應義塾 慶應義塾大学 医学部)

2-2-1 研究開発目標

本年度は、来年度以降の製品試作機を開発するための基礎データの計測を中心に開発を進めることにした。水晶体へのレーザー照射により発生する弾性波と水晶体硬度の関連性を明らかにするために、水晶体の光弾性計測実験を行うことにした。実験には測定後水晶体が容易に摘出できるラットを用いることにした。そのため、慶應義塾大学医学部においては、人為的に水晶体を硬化させたモデルを作成し、水晶体硬度と光弾性波との相関関係を検討できる系を確立することにした。

水晶体硬化モデルとして喫煙処理ラットを検討することにした。このモデルは、実験的に作成した喫煙チャンバー内にラットを入れ、チャンバー内に主流煙を添加することによりラットを主流煙に対して全身曝露させる系で、眼球表面および涙腺に障害が与えられることが明らかになっている(Higuchi A et al. Free Radic Biol Med. 2011;51:2210-16)。これまでの研究により、喫煙あるいは受動喫煙が白内障を含む様々な眼疾患のリスクファクターであること、これらが遠視のリスクファクターであることが報告されている。また、遠視と白内障には相関関係があることも報告されている。水晶体硬化モデルを作成するため、これらの研究報告に基づき、主流煙曝露による水晶体硬化への影響を検討することにした。さらに白内障モデルラットの水晶体硬化モデルへの応用を検討することにした。

2-2-2 成果

(1) 実験方法

① 主流煙曝露による水晶体硬化モデルラットの作成

5週齢雄の Sprague-Dawley(SD)ラットを18匹購入した。6匹ずつランダムに非処理群(NT)、1週間喫煙処理群(1w)、2週間喫煙処理群(2w)に群分けし、喫煙処理群に対して喫煙チャンバー内でそれぞれの期間喫煙曝露処理を行った。ラットを入れた喫煙チャンバー内にシリンジを使用して300mLの主流煙を添加した。新鮮な空気をポンプで送りながら放置し、30分後にさらに主流煙を添加した。同様の操作を繰り返して1日に6回主流煙を添加し、計3時間主流煙に曝露した。1週間曝露の場合は5日間連続で、2週間曝露の場合は6日間連続曝露後1日休憩をはさみさらに5日間連続曝露して、計11日間曝露処理を行った。最終曝露後、水晶体を取り出し、硬さ、吸光度測定した。また喫煙の影響を確認するために、肺、角膜、水晶体のP4501A1発現をリアルタイム RT-PCR法を用いて検討した。同様の検討を非処理群(NT)、2週間喫煙処理群(2w)、4週間喫煙処理群(4w)に群分けして実施し、4週間処理の影響も検討した。

② 水晶体硬度の測定

ラット眼球より水晶体を取り出し、定圧厚さ測定器を用いて相対的硬度を測定することにした(図7)。相対的硬度は以下の通りの方法で算出した。まず、ノギスを用いて摘出した眼軸方向の水晶体の厚みを測定する。次に、定圧厚さ測定器で測定を行うために、水晶体を固定用容器に入れ、

定圧厚さ測定器の下部に設置する。

測定子を上部よりゆっくりと下ろし、重りにより水晶体を変形させ、変形後の水晶体の厚みを測定する。同じ重りを使用すれば、水晶体の硬さの違いにより変形後の厚みが異なり、固いほど変形度合いが小さく厚さが大きくなることになる。ノギスで測定した初期値を a とし、定圧厚さ測定器を用いて測定した値を b とすると b/a は水晶体が固いほど大きな値を示す。非喫煙処理、1週間、2週間喫煙処置した場合の b/a 値を算出し、比較検討した。



図7 定圧厚さ測定器
矢印部分に水晶体を固定し、
定圧下で厚みを測定する。

③水晶体吸光度の測定

水晶体の透明度を知るために、分光光度計を用いて吸光度を測定した。摘出した水晶体を、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)を用いて洗浄した。測定用セルに PBS 入れて補正をした後、水晶体を PBS の入ったセル内に入れ、200nm から 900nm の吸光度を測定した。

④リアルタイム RT-PCR 法による喫煙の影響の検討

主流煙中には多くの化学物質が存在するが、その中で肺癌などの原因物質とされているものの一つにベンゾピレンが上げられる。ベンゾピレンは、アントラセンやナフタセンのようなベンゼン環が多数結合した多環芳香族炭化水素の一種で、5つのベンゼン核からなる。

ベンゾピレンはシトクロム P450(CYP)のファミリー1 によって最初に代謝されるが、その中の CYP1A1 はベンゾピレンによって発現が誘導されることが知られている。特に喫煙者の肺では高発現が認められる場合があり、肺癌発症の要因の一つであると考えられている。他の組織においても発現誘導が認められる場合があり、CYP1A1 の発現変動はその組織が主流煙の影響を受けていることのマーカーとして用いることができる。そのため、喫煙処理終了後の CYP1A1 発現変動をリアルタイム RT-PCR 法を用いて検討することにした。肺、角膜、および水晶体を摘出し、TRIzol (Life Technologies Corporation)を用いて RNA を抽出した。抽出後 SuperScript III (Life Technologies Corporation)を用いて逆転写反応を行い、cDNA を作成した。作成した cDNA を用いて TaqMan real-time RT-PCR 法(ABI PRISM 7500 Sequence Detection Systems、Life Technologies Corporation)により CYP1A1 遺伝子発現を測定した。解析には GAPDH を内部標準とした $\Delta\Delta Ct$ 法を用いた。

(2)結果

①主流煙曝露による水晶体硬度変化

主流煙曝露処理は眼球に影響を与え、角膜障害が生じた。主流煙曝露が眼球に影響を与えたことが明らかになったため、眼球より水晶体を取り出し、相対的硬度を測定することにした(図 8)。水晶体の相対硬度値は主流煙曝露処理 1 週間では変化しなかったが、2 週間後には上昇し、4 週間後においても高い値を示した。2 週間後の値は非処理群と比較して有意な上昇を示した。

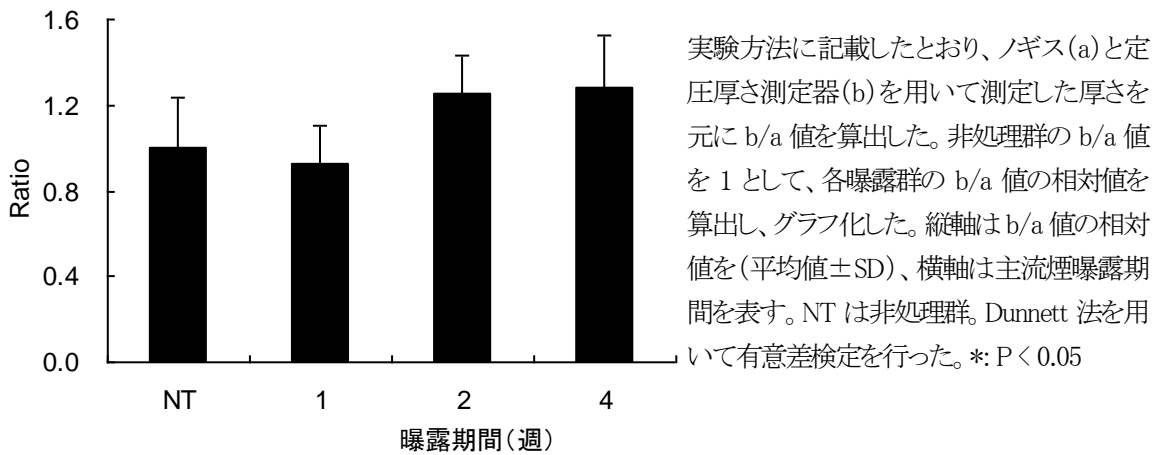


図8 主流煙曝露による水晶体硬度変化

②主流煙曝露による水晶体吸光度変化

取り出した水晶体の吸光度を、分光光度計を用いて測定した(図 9)。どの群においても可視部の吸光度はほぼ一定であり、紫外部において急速な上昇を認めた。主流煙曝露群の吸光度は、どちらの群においても非処理群と比べて変化を認めなかった。例外として2週間曝露群の1個体においてのみ、可視部における吸光度の増大が認められた。

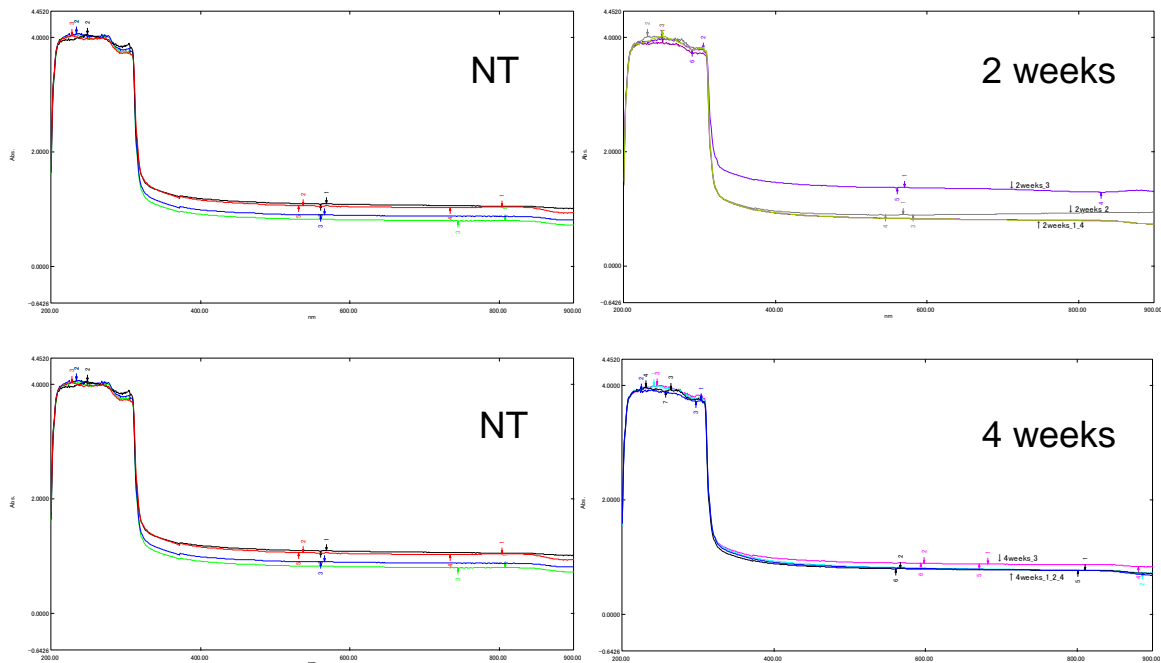


図9 水晶体の 200-900nm 吸光度

NT は非処理群を、2weeks、4weeks は 2 週間、4 週間の主流煙曝露の結果を示す。それぞれのラインは個々の水晶体吸光度を表す。比較を容易にするために同じ NT を上下に記載した。

③CYP1A1 発現変動の検討

主流煙曝露の影響を検討するために、主流煙中化学物質であるベンゾピレンによって発現が

誘導される CYP1A1 の遺伝子発現を検討することにした(表 1)。主流煙曝露処理により肺における CYP1A1 発現は非常に強く誘導された。このことはこれまでの知見と一致しており、曝露が十分行われていることを意味する。さらに角膜における CYP1A1 発現も上昇しており、眼球表面にも主流煙が影響を与えたことがわかった。しかしながら水晶体においては、発現は変動しなかった。

表 1 主流煙曝露処理による CYP1A1 遺伝子発現の変動

		肺	角膜	水晶体
Δ Ct	非処理群	13.7 ± 2.5	11.2 ± 1.7	16.7 ± 0.4
	2週間曝露群	2.9 ± 1.0	5.5 ± 0.4	16.3 ± 0.1
	4週間曝露群	3.0 ± 1.4	7.7 ± 0.2	16.9 ± 0.5
Fold Change	非処理群	1.0 ± 4.6	1.0 ± 1.3	1.0 ± 0.3
	2週間曝露群	2276 ± 1756	52.5 ± 17.9	1.2 ± 0.1
	4週間曝露群	2399 ± 1594	11.1 ± 1.3	0.9 ± 0.3

非処理群における ΔCt 値と各処理群の ΔCt 値を比較することにより、各処理群における発現上昇を倍数で表した(Fold Change)。非処理群の Fold Change 値は 1 となる。各値は平均値 ± SD。

(3) 考察

本研究の目的は、微弱なパルスレーザーを水晶体に照射し、発生した光弾性波を利用して水晶体の硬度を測定し、遠視を定量化する装置を構築するものである。その中における本年度の我々の第一の目的は装置開発に必要な遠視モデルの作成であり、その目的は果たされた。これまでの研究で主流煙曝露処理が眼球表面に影響を与えることは明らかであったが、今回の研究により水晶体にも影響を及ぼすことがわかった。このことは喫煙が老視のリスクを上げるという疫学研究の結果と一致している。

水晶体の相対硬度値は主流煙曝露処理 2 週間後では有意に上昇していたが、4 週間後の値は有意ではなかった。しかしながら、これは実験に使用した個体数に起因するものと考えられる。非処理群と 2 週間処理群は各実験で重複していたため、使用した全個体数が、1 週間あるいは 4 週間処理群の 2 倍となっている。2 週間処置群と 4 週間処置群のデータのばらつきが同じ程度であることから、4 週間処置群においても個体数を増加させることにより有意な結果が得られると予想される。2 週間および 4 週間の主流煙曝露処理は水晶体の吸光度に影響を与えなかった。このことは、主流煙曝露処理は水晶体のタンパク組成やタンパク三次元構造に大きな影響を与えていない可能性を示唆する。またヒトにおいて、白内障発症に先んじて水晶体硬化、老視と時系列的につながっていることがあることを考慮すると、主流煙曝露モデルはヒトの老視および白内障モデルとして有用であると考えられる。より長期の主流煙曝露処理による白内障発症の検討は今後の研究課題である。リアルタイム RT-PCR 法による CYP1A1 発現の検討により、2 週間および 4 週間主流煙曝露処理はラット肺や眼球表面に十分影響を与えることが示された。これまでの 1 週間主流煙曝露実験の結果から、1 週間曝露においても同様に肺や眼球表面に影響を与えるだけでなく、肝臓および涙腺など、全身に影響を与えることが示されている。おそらく 2 週間あるいは 4 週間主流煙曝露処理においても全身に影響を与えることが予想される。しかしながら、水晶体では 2 週間あるいは 4 週間主流煙曝露処理による CYP1A1 発現上昇は認められなかった。この理由は現時点では不明であるが、水晶体硬化が生じていることから、全く影響を与えなかったことは考えにくい。直接主流煙曝露の影響を受ける肺において CYP1A1 は非常に大きく変動するが、同じ条件の角膜では変動が小さいことからわかるように、CYP1A1 発現の変動は組織によって大きく異なっている。水晶体は影響を受けにくい組織である可能性が考えられる。

本年度の研究により、水晶体硬化モデルを作成することができた。来年度以降はこのモデル

ラットおよび正常ラットを老視定量的診断機器の開発に用いることになる。また、老視と白内障は関連性を持つことから、このモデルとは別に白内障発症ラットも用いる予定であり、このモデルに関しても現在検討中である。

2-2-3 まとめ

- (1) ラットに対して主流煙を曝露することにより水晶体を硬化させることができた。
- (2) 主流煙曝露は水晶体のタンパク成分、タンパク三次元構造などに大きな影響を与えなかった。
- (3) 老視定量的診断機器開発における有用な水晶体硬化モデルを作成することができた。

2-3 光弾性波の計測とその解析(学校法人慶應義塾 慶應義塾大学 SFC研究所)

2-3-1 研究開発目標

装置使用に必要な機器制御並びに解析ソフトウェア開発を見据えた実験室レベルの診断装置の検討を行う。さらに、同計測装置を用いた水晶体の光弾性計測実験を実施し、取得データを用いた光弾性と老視の相関関数のための分析アルゴリズムを検討する。この際、個々の実験における検討結果に基づき、診断装置の改善すべき要素の検討を実施していく。PDCAサイクルに基づきこれら検証を進める事で、実用化に向けた課題を整理し、改善をすすめる。今年度は、本装置の利用場面、市場を検討し、実用化や普及に向けた課題を整理し、それらを踏まえて分析アルゴリズムに必要となる項目について検討する。

2-3-2 成果

本装置の実用化と普及を促す上で、市場の観点から本装置のユースケースについて検討を行った。

その結果、老眼の進行状況に関する計測は、臨床の現場や日常生活におけるPDCAサイクルによって、健康やアンチエイジングのベンチマークに活用されることが実用化や普及への重要な要素であることが結論として得られた。

老眼の発生状況の現象的把握ではなく、老眼の発生状況を水晶体の弾性データで参照し、個人差のある改善活動によって、その改善状況や変化を日々モニタリングする。これにより、老眼の進行状況もとに、身体そのもののアンチエイジングプログラムとして活用することが可能である。

本装置実用化に際しては、このようなヘルスサイエンス分野、予防治療への適用を見据えたデータベース設計となることが望ましく、個々の被験者の老眼の進行状況の時系列的な把握、並びに日常生活や予防行為が及ぼす影響を被験者自身が把握可能なデータとして提供可能であるPHR的な側面を見据えることが望ましい。このような方向性は、本装置が非侵襲計測であり、将来的には眼鏡屋などでの医療従事者を必要としない活用が可能となることを見据えたものである。また、このような方向性を実現するためには、測定に際して必要とされる装置のキャリブレーションが専門の技術的背景を持たずとも一定レベルの精度が得られると共に、キャリブレーションに要する時間を短縮するための機械的な構造、あるいはキャリブレーション装置(手法)のさらなる見当が必要とされる。なお、この点に関しては、理化学研究所と協議を重ね、当初予定されていた光学的なキャリブレーションに加え、マイクロフォンを用いた計測手法の有効性を検討すると共に、この手法を用いた実証について、経済産業省への説明を実施している。

このような方向性を踏まえた装置設計をあらかじめ実施することにより、当該装置の予防医療分野における活用が図られ、対象者の範囲を広げることが期待される。

上記検討は、慶應義塾大学医学部における実証を踏まえたもので、同実証によって得られたデータに基づき老眼の発生メカニズムを確認するとともに、理化学研究所において実施された計

測実験への参加を通じ、得られたデータの分析を進めることによって得られた。

水晶体の老化は、臨床の研究結果から、水晶体のタンパク質の変性と含水量の低下から始まる。タンパク質の不溶化・巨大分子化はいずれも変性の結果として起こり、このことが水晶体の硬化をもたらす。また、含水量の低下も水晶体の硬化を招くが、これはタンパク質の変性によるものとは質的に異なる。

表2 水晶体の構成要素

成分	含有量
水	65%~70%
水晶体タンパク質(α 、 β 、 γ -クリスタリン構造タンパク質)	30~35%
その他	極微量

老化の発生要因として、身体の老化全体のモニタリング指標として検討すべきなのは、タンパク質の変性である。水分含有量の変化は、タンパク質の変性を引き起こす原因になる可能性もあるが、多くの場合、タンパク質の変性をもたらす水晶体の保水性の低下であるとされる。タンパク質の変性は他器官でも起こる老化の代表的事象でもある。この変性を弾性によって把握するためには音響波の計測が重要な要素技術となる可能性があり、この検討結果を踏まえた検証を理化学研究所にて実施しており、データ解析を共同して進めている。

2-3-3 まとめ

装置使用に必要な機器制御並びに解析ソフトウェア開発を見据えた実験室レベルの診断装置の検討として、本プロジェクトの実用化を見据えたソリューションの方向性を踏まえ、分析アルゴリズムを実装するに際し必要とされる項目について検討した。この際、PDCAサイクルに基づきこれら検証を進める事で、実用化に向けた課題を整理し、改善をすすめた。

2-4 定量的老視診断装置のプロトタイプの開発・試作(株式会社コーナン・メディカル)

2-4-1 研究開発目標

平成25年度以降に着手予定の製品試作を踏まえながら、光学定盤上に開発・試作される定量的老視診断装置(実験室レベル)の結果を受けて、移動可能な機能試作機を開発・試作する。2012年9月末までに試作機の仕様を決定し、2012年11月末までに設計を完了する。その後、加工組み立てを実施し、2013年2月末までに調整し、完成(まとめ)を目指す。なお、患者に意図して接触する部分に使用する材料はJIST0993-1:2005(医療機器の生物学的評価—第1部:リスクマネジメントプロセスにおける評価及び試験)への適合が要求されているため、顎台に使用を予定している材料の生物学的評価試験を実施する。本年度は、仕様検討、設計、加工・組立に関する研究開発を推進する。

2-4-2 成果

(1) 定量的老視診断装置のプロトタイプ機の開発試作

①仕様及び性能

(i) 光学部

◇干渉用レーザー:波長 830nm

◇干渉用カメラ:1/3"CCD

◇光弾性用レーザー:波長 1000nm 帯

- ◇アライメント用カメラ:1/3”CCD×2 台
- (ii) 架台部
 - ◇X 軸送り分解能:0.1 mm
 - ◇Y 軸送り分解能:0.1 mm
 - ◇Z 軸送り分解能:0.1 mm
- (iii) 制御部
 - ◇デジタル分解能:10ns 以上(光弾性波用)

②外観

本事業で開発した定量的老視診断装置のプロトタイプ機の外観写真を次に示す。図示するように本プロトタイプ機は、被検眼を撮影・測定する光学部と、光学部を支持するとともに被検眼とのアライメント調整を可能とする架台部、及び光学部のレーザー等を制御する制御部で構成される。

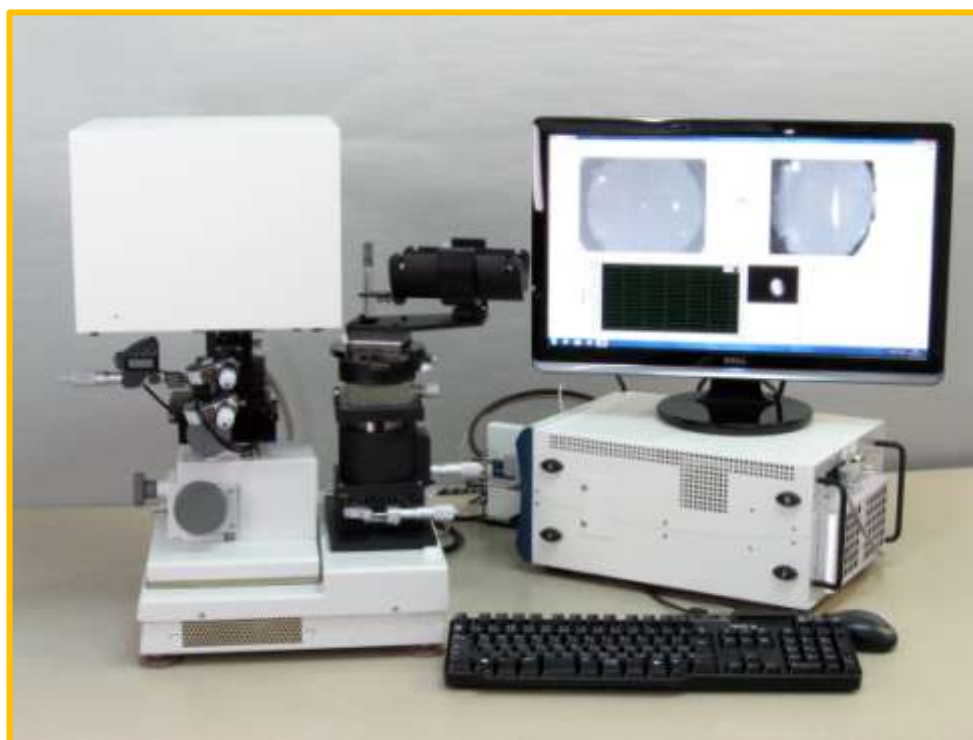


図10 プロトタイプ機の外観写真

③光学部

光学部は今後の展開を考慮して、フレキシブルな対応を可能とする3階建ての構造とした。1階部分には、光学部と被検眼のアライメントを行うための光学系を配置した。また、2階部分には、水晶体の振動を検出するための干渉計を、3階部分には光弾性励起レーザーを配置した。

④架台部

架台部は、光学部を支持する部分と被検眼(動物・アイバンクアイ)を支持する部分で構成した。光学部を支持する部分は、左右粗動、前後粗動、上下粗動と各軸に微動を備えている。微動部分はマイクロメーターで構成されており、0.1 mm単位で移動量が確認できる。また、被検眼を支持する部分は、左右微動、前後微動、上下微動を備え、同様に0.1 mm単位で移動量が確認できる。さらに、被検眼を支持する部分には、回転微動とあおり微動も備えており、光学部と被検眼のアライ

メントは十分に行える。

⑤制御部

制御部は、コンピュータ部とビデオキャプチャー部と信号デジタイザー部で構成した。コンピュータ部は光学部の3台のCCDカメラ(XYアライメント用、Zアライメント用、干渉縞用)の映像を3台のビデオキャプチャーボードを介して制御画面に表示するように構成した。また、光学部内のAPD(アバランシェ・フォトダイオード)の信号をデジタイザーボードを介して取込み、水晶体の弾性測定アルゴリズム(次年度以降に開発予定)により水晶体の硬さを定量化し制御画面に表示できるようにしている。

(2) 生物学的評価試験結果

顎台に使用予定の材料(ABS)を TUV SUD PSB Pte LTD にて JIST0993-1:2012 (ISO10993-1:2009)に従い生物学的評価試験を行った結果を次に示す。

①細胞毒性試験(REPORT No. 219161455-01-00)

(i) ガイドライン

◇ISO10993-5:2009-06-01

◇ISO10993-12:2012-07-01

(ii) 結論

試験材料は細胞毒性がないと判断する。

②感作性試験(REPORT No. 219161455-03-00_CR1)

(i) ガイドライン

◇ISO10993-10:2010-08-01

◇ISO10993-12:2012-07-01

(ii) 結論

試験材料は皮膚感作性を示さなかった。

③皮内反応試験(REPORT No. 219161455-02-00)

(i) ガイドライン

◇ISO10993-10:2010-08-01

◇ISO10993-12:2012-07-01

(ii) 結論

試験材料は皮内反応試験に適合する。

以上より、試験材料は JIST0993-1:2012 (ISO10993-1:2009) に適合しており、水晶体弾性度測定による老視(老眼)の定量的診断機器の顎台として使用可能であることが確認できた。

2-4-3 まとめ

計画通り定量的老視診断装置プロトタイプ機を完成させた。このプロトタイプ機は、来年度以降に実施を計画している動物実験・アイバンクアイを用いた実験及び臨床評価に用いる予定である。

また、顎台に使用予定の材料の生物学的評価試験も終了し、JIST0993-1:2012 (ISO10993-1:2009)への適合が確認できたので、この材料を製品の顎台に使用するものとする。

来年度は、理研で実施予定のマスターシステムの実験結果、慶応大学医学部で実施予定の動

物実験・アイバンクアイの実験結果や臨床評価及び慶応大学 SFC で検討・評価予定の計測アルゴリズムを反映した製品試作機の開発を開始する予定である(完了予定は平成26年9月)。

最終章 全体総括

初年度となる平成 24 年度は、実験室レベルの定量的老視診断装置(原理実証機)を完成させ、寒天・ゲル等の擬似水晶体及びラットの眼球や水晶体等を用いた予備実験により、水晶体の弾性を光学的に非接触で測定する定量的老視診断装置が実現可能であることを実証した。同時に 2 年目以降に開発する製品試作機の原型となるプロトタイプ機を完成させた。

平成 25 年度は、平成 24 年度に完成した原理実証機を用い、慶應義塾大学医学部内の倫理委員会の許認可を得て臨床評価を開始し、平成 26 年度半ばまでに完了する。許認可が得られるまでの間は、動物、アイバンクアイを計測対象として原理実証、安全性の検証等を行う。合わせて干渉計用光源の出力、波長の最適化、光学システムの最適化も実施する。これらの結果をもとに、ヒューマンインターフェースを含んだ製品試作機の開発をスタートする。同時に、システムを稼働する解析ソフトの開発を行う。

最終年度である平成 26 年度は、製品試作機を完成させ性能評価を行い、並行して、平成 27 年度の上市に向けて電気安全・性能評価及び薬事申請を行う。

以上