

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2004 年 12 月 16 日 (16.12.2004)

PCT

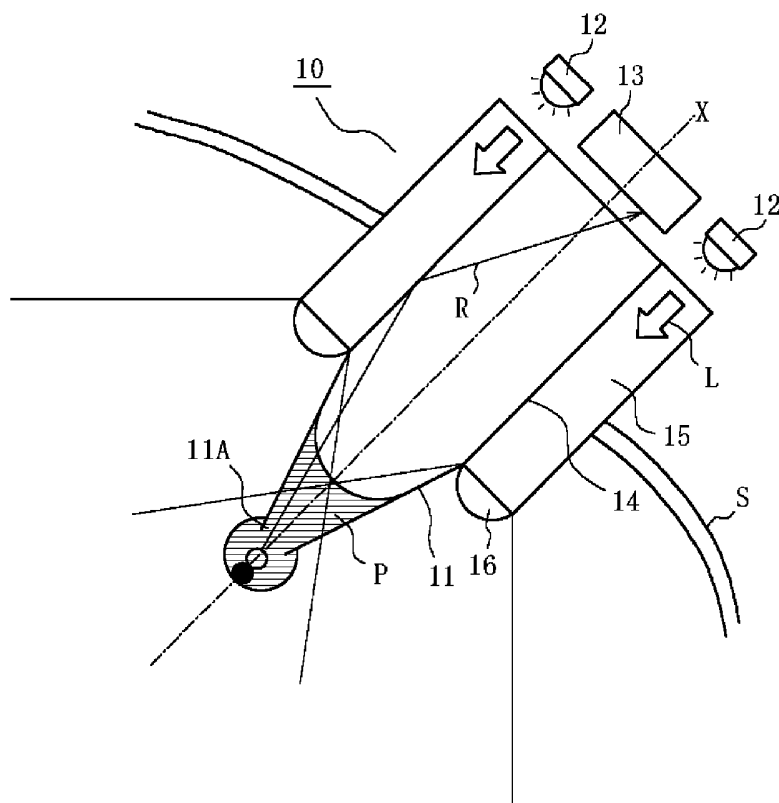
(10) 国際公開番号
WO 2004/107987 A1

- (51) 国際特許分類⁷: A61B 10/00 (72) 発明者; および
(21) 国際出願番号: PCT/JP2004/007834 (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 下山 勲 (SHI-MOYAMA, Isao) [JP/JP]; 〒1790072 東京都練馬区光が丘 3-9-2-908 Tokyo (JP). 松本 潔 (MATSUMOTO, Kiyoshi) [JP/JP]; 〒2620032 千葉県千葉市花見川区幕張町 4-7 1 9-3 Chiba (JP). 長澤 純人 (NAGASAWA, Sumito) [JP/JP]; 〒1120001 東京都文京区白山 4-3 3-7-201 Tokyo (JP).
(22) 国際出願日: 2004 年 6 月 4 日 (04.06.2004)
(25) 国際出願の言語: 日本語
(26) 国際公開の言語: 日本語
(30) 優先権データ: 特願2003-162418 2003 年 6 月 6 日 (06.06.2003) JP (74) 代理人: 杉村 興作 (SUGIMURA, Kosaku); 〒1000013 東京都千代田区霞が関 3 丁目 2 番 4 号 霞山ビルディング 7 F Tokyo (JP).
(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 国立大学法人 東京大学 (THE UNIVERSITY OF TOKYO) [JP/JP]; 〒1138654 東京都文京区本郷 7 丁目 3 番 1 号 Tokyo (JP). (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,

/ 続葉有 /

(54) Title: METHOD AND APPARATUS FOR MEASURING CONCENTRATION OF SUBSTANCE IN LIVING BODY

(54) 発明の名称: 生体内物質の濃度計測方法及び濃度計測装置



(57) Abstract: A fluorescence indicator (P) in a container (11) is injected into a measurement subject living body (S) through an inlet port (11A) for combination with a substance in the measurement subject living body (S). Then, excitation light (L) is emitted from excitation light sources (12) to irradiate the measurement subject living body (S) therewith. Then, the reflected light (R) obtained is multiple-reflected by a reflection film (14) disposed on the side wall of the container (11) and is introduced into a detecting section (13). Then, fluorescence response based on combination between the substance in the living body and the fluorescence indicator (P) included by the reflected light (R) is detected by the detecting section (13) disposed in the direction of injection of the fluorescence indicator (P).

(57) 要約: 容器 (11) 内の蛍光指示薬 (P) を注入口 (11A) から被計測生体 (S) 内に注入し、被計測生体 (S) 内の生体内物質と結合させる。次いで、励起光源

(12) から励起光 (L) を出射し、被計測生体 (S) に照射する。次

/ 続葉有 /



DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG,

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

いで、得られた反射光 (R) を、容器 (11) の側壁に設けられた反射膜 (14) で多重反射を行って検出部 (13) に導入する。次いで、反射光 (R) が含む前記生体内物質と蛍光指示薬 (P) との結合に基いた蛍光応答を、蛍光指示薬 (P) の注入方向上に設けた検出部 (13) で検出する。

明 細 書

生体内物質の濃度計測方法及び濃度計測装置

技術分野

- [0001] 本発明は、生きたままの生体内における極微小領域での生体内物質の濃度計測方法及び濃度計測装置に関する。

背景技術

- [0002] 従来の生体内物質の濃度計測方法及び濃度計測装置においては、生体から一部の組織を取り出して得た試料に対し、その試料を構成する生体内物質と結合する蛍光指示薬を負荷し、その蛍光応答をCCDカメラで検出することによって、前記試料における前記生体内物質の濃度を計測していた。この場合においては、CCDカメラを用い、前記蛍光応答をイメージとして計測するので、前記試料全体の生体内物質濃度分布を得ることができる。
- [0003] 前記試料は、一般的には前記生体をスライス加工して作製するが、共焦点顕微鏡を用いる場合などは、焦点距離を調整することで任意の深度に焦点を合わせることができるので、上述のようなスライス加工を施すことなく、バルク状のものをを用いることができる。
- [0004] しかしながら、上述した従来の計測方法及び計測装置においては、目的とする生体から一部を取り出した試料に対して計測を行うので、前記試料が実際に生体内に存在していた状態と異なる場合がある。また、蛍光指示薬を試料全体に負荷するので、計測以降、前記試料内の生体組織が長期間生存することができず、慢性的な計測は困難となる。
- [0005] このような観点から、生体の一部を切り出して試料を作製する代わりに、計測プローブなどを直接的に生体内に挿入させ、前記生体の蛍光応答を直接的に計測する試みがなされているが、光学アライメントが複雑になる。

発明の開示

- [0006] 本発明は、生体から生体組織の一部を試料として取り出すことなく、前記生体の生体物質濃度を直接的に計測する方法及び装置を提供することを目的とする。

[0007] 上記目的を達成すべく、本発明は、
所定の被計測生体内に蛍光指示薬を注入する工程と、
前記被計測生体に対して励起光を照射するとともに反射させて、所定の反射光を得る工程と、

前記反射光内の、前記被計測生体内における生体内物質と前記蛍光指示薬との結合による蛍光応答を検出することにより、前記被計測生体内における生体内物質濃度を計測する工程と、

を具え、

前記反射光内の前記蛍光応答は、前記蛍光指示薬の注入方向上において検出することを特徴とする、生体内物質の濃度計測方法に関する。

[0008] 本発明の計測方法によれば、被計測生体に直接的に蛍光指示薬を注入するとともに、前記蛍光指示薬が注入された計測領域に対して励起光を照射し、得られた反射光内に含まれる、前記被計測生体の生体内物質と前記蛍光指示薬との結合による蛍光応答を検出するようにしている。したがって、被計測生体から生体組織を取り出すことなく、前記生体内物質が前記被計測生体内に生存している状態における前記生体内物質の濃度をリアルタイムで計測することができる。また、被計測生体に挿入させるべき計測プローブなども必要としないので、光学アライメントも簡略化することができる。

[0009] また、前記反射光内の前記蛍光応答は、前記蛍光指示薬の注入方向上において検出するので、前記被計測生体の計測領域からの蛍光応答を高い効率で検出ことができ、生体内物質の濃度検出の精度を増大させることができる。

図面の簡単な説明

[0010] [図1]本発明の生体内物質の濃度計測装置の一例を示す構成図である。

[図2]蛍光指示薬の、被計測生体内へに注入方法の一例を説明するための図である。

[図3]蛍光指示薬の、被計測生体内へに注入方法の他の例を説明するための図である。

[図4]蛍光指示薬の、被計測生体内へに注入方法のその他の例を説明するための図

である。

[図5]蛍光指示薬の被計測生体内への注入量を制御する方法の一例を説明するための図である。

[図6]蛍光指示薬の被計測生体内への注入量を制御する方法の他の例を説明するための図である。

[図7]本発明の生体内物質の濃度計測装置において、検出部での蛍光応答の検出方法の一例を説明するための図である。

[図8]本発明の生体内物質の濃度計測装置において、検出部での蛍光応答の検出方法の他の例を説明するための図である。

[図9]本発明の生体内物質の濃度計測装置において、検出部での蛍光応答の検出方法のその他の例を説明するための図である。

[図10]図9に示す検出方法の変形例を説明するための図である。

[図11]本発明の生体内物質の濃度計測装置において、検出部での蛍光応答の検出方法のさらに他の例を説明するための図である。

[図12]同じく、本発明の生体内物質の濃度計測装置において、検出部での蛍光応答の検出方法のさらに他の例を説明するための図である。

[図13]本発明の生体内物質の濃度計測装置の他の例を示す構成図である。

発明を実施するための最良の形態

[0011] 本発明のその他の特徴及び利点、並びに本発明の生体内物質の濃度計測装置について、以下に詳述する。

[0012] 図1は、本発明の生体内物質の濃度計測装置の一例を示す構成図である。図1に示す濃度計測装置10は、蛍光指示薬Pを保持するための容器11と、この容器11の後方に設けられた励起光源12及び検出部13とを具えている。なお、容器11の側壁には反射膜14が形成されている。また、容器11の外周上にはリング状の光導波路15が設けられており、その先端部には光散乱器16が設けられている。さらに、容器11の先端部には、被計測生体Sと対向するようにして注入口11Aが形成されており、蛍光指示薬Pを被計測生体Sに対して注入できるように構成されている。なお、検出部13は、注入口11Aの中心部を通る直線X上に配置されている。

- [0013] 容器11は、ガラス容器やステンレス容器などを用いることができ、励起光源12は、市販のハロゲンランプやレーザ光装置などから構成することができる。また、検出部13は、CCDカメラなどの市販の撮像装置を用いることができる。
- [0014] 図1に示す装置を用いた場合、被計測生体S内の生体内物質の濃度計測は以下のようにして実施する。
- [0015] 最初に、容器11内の蛍光指示薬Pを注入口11Aから被計測生体S内に注入し、被計測生体S内の生体内物質と結合させる。なお、蛍光指示薬Pは単独で用いることもできるし、溶媒などの所定の液体中に混合させておくこともできる。
- [0016] 次に、励起光源12から励起光Lを出射する。励起光Lは光導波路15内を通過して光散乱器16に至って散乱され、被計測生体Sに照射される。次に、励起光Lは被計測生体Sで反射され、その反射光Rは容器11の注入口11A内に導入される。次に、反射光Rは、容器11の側壁に設けられた反射膜14で多重反射を行って検出部13に導入される。
- [0017] 反射光Rは、蛍光指示薬Pが注入された被計測生体Sの計測領域に対して励起光Lが照射されることに伴って、前記生体内物質と蛍光指示薬Pとの結合に基づいた蛍光応答を含んでいるので、検出部13では反射光R内に含まれた前記蛍光応答を検出する。前記蛍光応答は、前記生体内物質と蛍光指示薬Pとの結合割合、すなわち十分な蛍光指示薬Pが注入された場合には、前記生体内物質の濃度に比例するため、前記蛍光応答を検出することにより、前記生体内物質の濃度を計測することができる。
- [0018] なお、図1に示す計測装置においては、検出部13が容器11の注入口11Aの中心部を通る直線X上に配置されているので、被計測生体Sの計測領域からの蛍光応答を高い効率で検出することができ、前記生体内物質の濃度検出の精度を増大させることができる。
- [0019] 図2～図4は、蛍光指示薬Pの、被計測生体S内へに注入方法を説明するための図である。図2においては、蛍光指示薬Pと被計測生体Sとの間に電位差を生ぜしめ、これによって蛍光指示薬Pのイオン流又は電気浸透流を生成し、蛍光指示薬Pを被計測生体S内に注入するようにしている。

- [0020] 図3においては、容器11の端部にバルブ17を介して圧力源18を配置し、圧力源18から容器11内の蛍光指示薬Pに対して所定の圧力を負荷することにより、蛍光指示薬Pを注入口11Aから噴出させ、被計測生体S内に注入するようにしている。
- [0021] 図4においては、容器11内で蛍光指示薬Pを所定の液体中に保持し、前記液体に対して電極19を介して電圧を印加することにより、その親水性及び疎水性を制御し、親水性及び疎水性の性質変化に基く前記液体の体積変化を利用して蛍光指示薬Pを注入口11Aより噴出させ、被計測生体S内に注入するようにしている。
- [0022] 本例では、図4(a)に示すように、電圧を印加していない状態で親水性を呈して膨脹し、図4(b)に示すように、電圧を印加した状態で疎水性を呈して収縮する液体中に蛍光指示薬Pを保持し、図4(b)の状態にあるときに蛍光指示薬Pを含む前記液体を容器11の注入口11Aより噴出させ、被計測生体Sに注入するようにしている。
- [0023] なお、蛍光指示薬Pの被計測生体Sへの注入方法は、図2～図4に示す方法に限定されるものではなく、いかなる方法を用いることもできる。
- [0024] また、蛍光指示薬Pの被計測生体Sへの注入量は以下のようにして監視することができる。例えば図2に示すように、電圧印加による方法を用いた場合、被計測生体S及び蛍光指示薬P間を流れる電流量は、被計測生体Sへ注入される蛍光指示薬Pのイオン流又は電気浸透流に比例する。したがって、前記電流量を計測することにより、蛍光指示薬Pの被計測生体S内への注入量を間接的に定量することができ、前記注入量を監視できるようになる。
- [0025] さらに、被計測生体S内に生体内物質と結合する上記蛍光指示薬Pとは別に、前記生体内物質と結合しない追加の蛍光指示薬を準備し、これを蛍光指示薬Pと混合させ、蛍光指示薬Pと一緒に被計測生体S内に注入し、前記追加の蛍光指示薬からの蛍光応答を検出する。前記追加の蛍光指示薬を蛍光指示薬Pと均一に混合させれば、前記追加の蛍光指示薬は蛍光指示薬Pに対して一定の割合で被計測生体S内に注入されるようになるので、前記追加の蛍光指示薬からの蛍光応答の強度を計測すれば、被計測生体S内へ注入された蛍光指示薬Pの注入量を間接的に定量し、監視できるようになる。
- [0026] 図5及び図6は、蛍光指示薬Pの被計測生体S内への注入量を制御する方法を説

明するための図である。

- [0027] 図1に示すような装置を用いて実際に計測を行う場合、上述した被計測生体S内への蛍光指示薬Pの注入量の監視に加えて、前記注入量を制御することが要求される場合がある。この場合、例えば、図5に示すように、容器11の注入口11Aにヒンジ22を介してシャッター21を設け、その開閉を操作することにより、蛍光指示薬Pの注入口11Aからの噴出量を調節し、被計測生体Sへの蛍光指示薬Pの注入量を制御できるようになる。図5では、蛍光指示薬Pに負荷される圧力(注入圧)を制御することによりシャッター21の開閉度合いを調節し、蛍光指示薬Pの注入量を制御するようにしている。
- [0028] また、図6に示すように、容器11の外周上に電極23を設け、この電極から蛍光指示薬Pに対して所定の電位を負荷し、それによって蛍光指示薬Pに生じる静電力の大きさ及び方向を制御することによって、蛍光指示薬Pの容器11の注入口11Aからの噴出量を調節し、被計測生体S内への蛍光指示薬Pの注入量を制御することもできる。
- [0029] なお、蛍光指示薬Pの被計測生体Sへの注入量の制御方法は、図5及び図6に示す方法に限定されるものではなく、いかなる方法を用いることもできる。
- [0030] 次に、検出部13における蛍光応答の検出方法について説明する。図7は、検出部13における蛍光応答の検出方法の一例を説明するための図である。
- [0031] 図7(a)に示すように、被計測生体Sへの蛍光指示薬Pの注入を行うと、その直後には計測領域における蛍光指示薬濃度は増大するが、その後は拡散してしまうため、前記計測領域における蛍光指示薬濃度は時間とともに減少する。したがって、図7(a)に示すように、蛍光指示薬Pの注入と拡散とを交互に行う場合、図7(b)に示すように、被計測生体Sへの励起光Lの照射を前記注入動作と同期させ、計測領域における蛍光指示薬濃度が例えば最大となったときに照射するようにすることが好ましい。
- [0032] この場合、図7(c)に示すように、被計測生体S中での生体内物質の濃度が時間とともに変化した場合でも、得られる反射光中の蛍光応答の検出は、常に蛍光指示薬濃度が最大で一定濃度のときに実施しているため、図7(d)に示すように、前記蛍光応答の強度は前記生体内物質の濃度変化を反映したものとなる。したがって、前記生体内物質濃度の計測精度を向上させることができる。

[0033] 図8は、検出部13における蛍光応答の検出方法の他の例を説明するための図である。本例では、図8(a)に示すように、被計測生体Sに対して蛍光指示薬Pを定常的に注入し、被計測生体Sの計測領域における蛍光指示薬Pの注入量と拡散量とが平衡し、前記計測領域での蛍光指示薬Pの濃度が一定となるようにしている。そして、図8(b)に示すように、蛍光指示薬Pの濃度が一定となった時点で、励起光Lを被計測生体Sに照射し、図8(c)に示すような被計測生体S内の生体内物質濃度の変化を、図8(d)に示すような蛍光応答の強度変化として検出することができる。この場合も、前記生体内物質濃度の計測精度を向上させることができる。

[0034] 図9は、検出部13における蛍光応答の検出方法のその他の例を説明するための図である。本例においては、図9(a)に示すように、蛍光指示薬Pの注入量を周期Tで変調し、図9(b)に示すように、励起光Lを定常的に照射するようにしている。図9(d)に示すように、この場合の蛍光応答の強度は、図9(c)に示す被計測生体S内での生体内物質の濃度変化を強度変化に反映するとともに、蛍光指示薬Pの注入周期Tに対応して変化するようになる。したがって、前記生体内物質濃度の計測精度を向上させることができる。

[0035] 図10は、図9に示す検出方法の変形例である。本例においては、図10(a)に示すように、被計測生体Sの計測領域での蛍光指示薬Pの濃度を一定に保持し、図10(b)に示すように、励起光Lを周期Tで被計測生体Sに照射するようにしている。したがって、この場合においても、図10(d)に示すように、蛍光応答の強度は、図10(c)に示す被計測生体S内での生体内物質の濃度変化を強度変化に反映するとともに、励起光Lの照射周期Tに対応して変化するようになる。したがって、前記生体内物質濃度の計測精度を向上させることができる。

[0036] 図11及び図12は、検出部13における蛍光応答の検出方法のさらに他の例を説明するための図である。図11においては、図9に示すような方法と同様に、図11(a)で示すように蛍光指示薬Pを被計測生体S内へ所定周期で注入するとともに、図11(c)に示すような被計測生体S内での生体内物質濃度が変化しない状態において、蛍光応答強度を図11(d)に示すように計測する。次いで、図12(a)及び(b)に示すように、蛍光指示薬Pの注入周期と励起光Lの照射条件を同一に保持した状態で、図12(

c)に示すような被計測生体S内での生体内物質濃度が変化した状態において、図12(d)に示すように蛍光応答強度を計測する。

[0037] 次いで、図12(d)の蛍光応答強度は、前記生体内物質濃度が変化しない定常状態の蛍光応答強度を必然的に含んでいるので、このような定常状態の蛍光応答強度に相当する図11(d)に示す蛍光応答強度を図12(d)に示す蛍光応答強度から差し引くことによって、前記生体内物質の濃度変化の大きさに起因した蛍光応答強度のみを得ることができる。

[0038] 以上、具体例を挙げながら発明の実施の形態に基づいて本発明を詳細に説明してきたが、本発明は上記内容に限定されるものではなく、本発明の範疇を逸脱しない限りにおいてあらゆる変形や変更が可能である。

[0039] 図13は、本発明の生体内物質の濃度計測装置の他の例を示す構成図である。図13に示す濃度計測装置30は、光ファイバ31と、励起光源32と、検出部33とを具えている。光ファイバ31内には、蛍光指示薬Pを先端部35Aまで導くための導入路35が形成されており、導入路35の他端には蛍光指示薬Pを保持するための貯蔵容器36が設けられている。なお、検出部33は導入路35の中心部を通る直線Y上に配置されている。

[0040] 図13に示す装置を用いた場合、蛍光指示薬Pは導入路35の先端部35Aから図示しない被計測生体へ注入する。このとき、前記被計測生体内では、生体内物質と蛍光指示薬Pとが結合する。そして、前記被計測生体へ励起光源32より所定の励起光を光ファイバ31内を通じて照射し、反射させる。得られた反射光Rは導入路35の先端部35Aから光ファイバ31内に導入され、その後、光ファイバ31のコア部31A及びクラッド部31Bの界面31Cで多重反射を繰り返しながら、検出部33に至る。

[0041] 検出部33では、反射光R内に含まれた、前記生体内物質と蛍光指示薬Pとの結合に基いた蛍光応答を検出し、前記被計測生体内における前記生体内物質の濃度を計測する。

産業上の利用可能性

[0042] 以上説明したように、本発明によれば、生体から生体組織の一部を試料として取り出すことなく、前記生体の生体物質濃度を直接的に計測する方法及び装置を提供

することができる。

請求の範囲

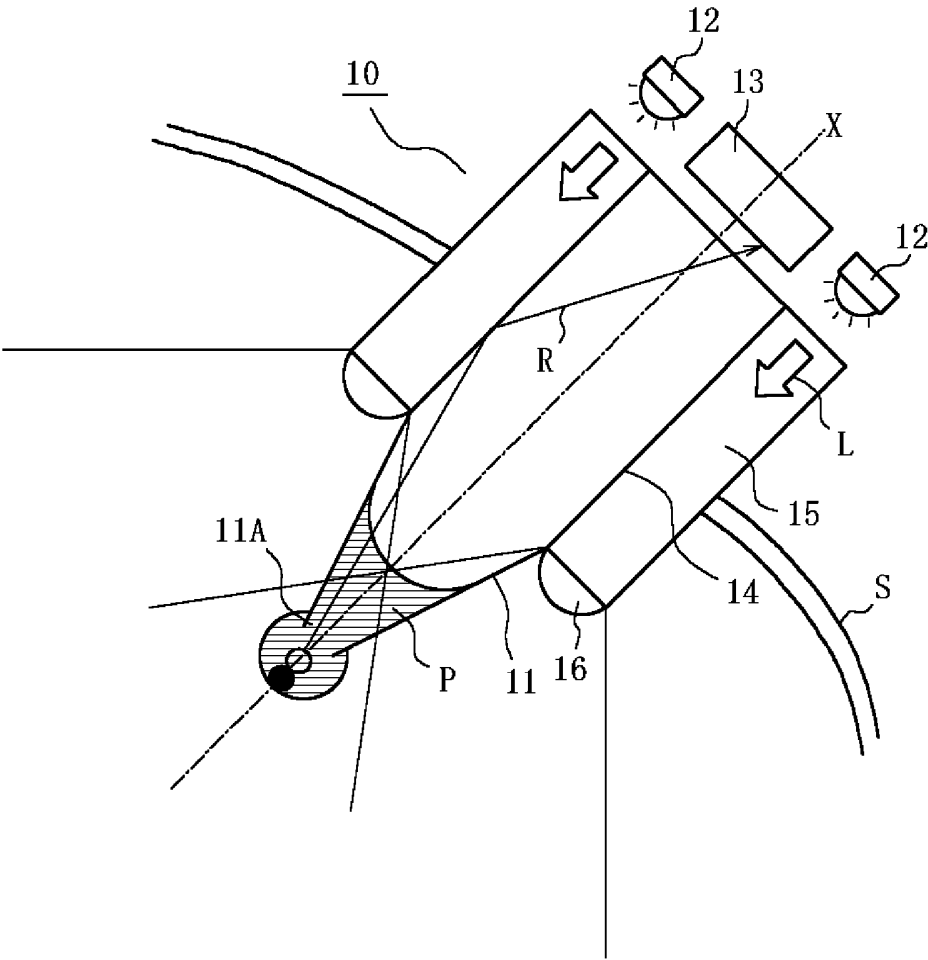
- [1] 所定の被計測生体内に蛍光指示薬を注入する工程と、
前記被計測生体に対して励起光を照射するとともに反射させて、所定の反射光を得る工程と、
前記反射光内の、前記被計測生体内における生体内物質と前記蛍光指示薬との結合による蛍光応答を検出することにより、前記被計測生体内における生体内物質濃度を計測する工程と、
を具え、
前記反射光内の前記蛍光応答は、前記蛍光指示薬の注入方向上において検出することを特徴とする、生体内物質の濃度計測方法。
- [2] 前記蛍光指示薬は、前記被計測生体との電位差を利用して生成されたイオン流又は電気浸透流の状態で、前記被計測生体内に注入することを特徴とする、請求項1に記載の生体内物質の濃度計測方法。
- [3] 前記蛍光指示薬は、加圧操作によって前記被計測生体内に注入することを特徴とする、請求項1に記載の生体内物質の濃度計測方法。
- [4] 前記蛍光指示薬は所定の液体内に保持し、前記液体に対して電圧を印加することにより前記液体の親水性及び疎水性を制御し、その際の体積膨脹及び収縮を利用して、前記被計測生体内に注入することを特徴とする、請求項1に記載の生体内物質の濃度計測方法。
- [5] 前記蛍光指示薬の、前記被計測生体への注入量を監視する工程を含むことを特徴とする、請求項1〜4のいずれか一に記載の生体内物質の濃度計測方法。
- [6] 前記生体内物質と結合しない追加の蛍光指示薬を準備し、この追加の蛍光指示薬を前記蛍光指示薬とともに前記被計測生体内へ注入し、前記追加の蛍光指示薬からの蛍光応答を計測することにより、前記蛍光指示薬の注入量を監視することを特徴とする、請求項5に記載の生体内物質の濃度計測方法。
- [7] 前記蛍光指示薬の前記イオン流又は前記電気浸透流に起因した電流値を計測することにより、前記蛍光指示薬の、前記被計測生体内への注入量を監視する工程を具えることを特徴とする、請求項2に記載の生体内物質の濃度計測方法。

- [8] 前記蛍光指示薬の、前記被計測生体内への注入量を制御する工程を含むことを特徴とする、請求項1〜7のいずれかに記載の生体内物質の濃度計測方法。
- [9] 前記蛍光指示薬の注入量制御は、機械的手段により実施することを特徴とする、請求項8に記載の生体内物質の濃度計測方法。
- [10] 前記機械的手段はシャッターであることを特徴とする、請求項9に記載の生体内物質の濃度計測方法。
- [11] 前記蛍光指示薬の注入量制御は、電気的手段により実施することを特徴とする、請求項8に記載の生体内物質の濃度計測方法。
- [12] 前記電気的手段は静電力であることを特徴とする、請求項11に記載の生体内物質の濃度計測方法。
- [13] 前記蛍光指示薬は、前記被計測生体と対向する先端部に注入口を有する所定の容器内に保持され、前記反射光は前記容器の側壁と多重反射した後に検出することを特徴とする、請求項1〜12のいずれかに記載の生体内物質の濃度計測方法。
- [14] 前記励起光は、前記容器の外方に設けられた光導波路中を伝播した後、前記光導波路の先端部に設けられた光散乱器で散乱させて、前記被計測生体に照射することを特徴とする、請求項13に記載の生体内物質の濃度計測方法。
- [15] 前記励起光は光ファイバ中を通して前記被計測生体に照射され、前記反射光は前記光ファイバのクラッド部とコア部との境界面で多重反射した後に検出することを特徴とする、請求項1〜12のいずれかに記載の生体内物質の濃度計測方法。
- [16] 前記蛍光指示薬は、前記光ファイバ内を貫通するように設けられた導入路を介して、前記被計測生体内に注入することを特徴とする、請求項15に記載の生体内物質の濃度計測方法。
- [17] 前記被計測生体に対する、前記蛍光指示薬の注入と前記励起光の照射とを同期させることを特徴とする、請求項1〜16のいずれかに記載の生体内物質の濃度計測方法。
- [18] 前記蛍光指示薬の、前記被計測生体内における計測領域での濃度が一定になった時点で、前記励起光を前記被計測生体に照射することを特徴とする、請求項17に記載の濃度計測方法。

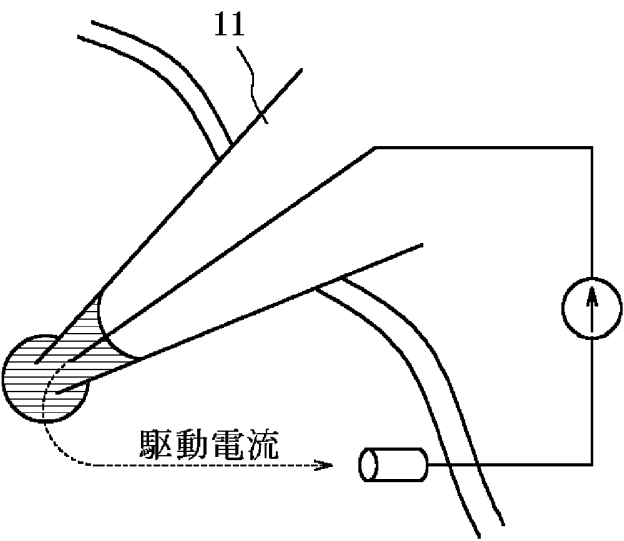
- [19] 前記被計測生体に対する、前記蛍光指示薬の注入及び前記励起光の照射の少なくとも一方を所定の周波数で変調することを特徴とする、請求項1〜18のいずれかーに記載の生体内物質の濃度計測方法。
- [20] 前記被計測生体内で生体内物質が活動することにより、生体内物質濃度が変化する場合には、前記生体内物質の非活動状態での蛍光応答を予め検出しておき、実測定による前記蛍光応答との差分をとることにより、前記生体内物質の活動状態での蛍光応答を検出することを特徴とする、請求項1〜19のいずれかーに記載の生体内物質の濃度計測方法。
- [21] 被計測生体と対向する先端部に注入口を有し、前記被計測生体内に注入すべき蛍光指示薬を保持するための容器と、
前記被計測生体に対して励起光を照射するための励起光源と、
前記被計測生体からの反射光を検出するための検出部と、
を具えることを特徴とする、生体内物質の濃度計測装置。
- [22] 前記検出部は、前記容器の前記注入口の中心部を通る直線上に配置し、前記反射光は、前記容器の前記注入口内に導入するように構成したことを特徴とする、請求項21に記載の生体内物質の濃度計測装置。
- [23] 前記容器の外方に電極を設けたことを特徴とする、請求項21又は22に記載の生体内物質の濃度計測装置。
- [24] 前記電極と前記被計測生体との間に電位差を生ぜしめ、前記蛍光指示薬のイオン流又は電気浸透流を生成して、前記被計測生体内へ前記蛍光指示薬を注入することを特徴とする、請求項23に記載の生体内物質の濃度計測装置。
- [25] 前記電極と前記蛍光指示薬との間に電位差を生ぜしめ、前記蛍光指示薬の、前記被計測生体内への注入量を制御することを特徴とする、請求項23又は24に記載の生体内物質の濃度計測装置。
- [26] 前記蛍光指示薬は所定の液体内に保持した場合において、前記電極と前記液体との間に電位差を生ぜしめて前記液体の親水性及び疎水性を制御し、その際の体積膨脹及び収縮を利用して、前記被計測生体内へ前記蛍光指示薬を注入することを特徴とする、請求項23に記載の生体内物質の濃度計測装置。

- [27] 前記蛍光指示薬を加圧操作によって前記被計測生体内に注入するための圧力源を具えることを特徴とする、請求項21〜26のいずれかーに記載の生体内物質の濃度計測装置。
- [28] 前記容器の前記先端部においてシャッターを有し、前記蛍光指示薬の、前記被計測生体内への注入量を制御することを特徴とする、請求項21〜27のいずれかーに記載の生体内物質の濃度計測装置。
- [29] 前記容器の外方において、前記容器の前記先端部側に光散乱器を有する光導波路を具えることを特徴とする、請求項21〜28のいずれかーに記載の生体内物質の濃度計測装置。
- [30] 被計測生体に対して励起光を照射するための励起光源と、
前記励起光を伝播させるための光ファイバと、
前記被計測生体からの反射光を検出するための検出部と、
前記被計測生体内に注入すべき蛍光指示薬を保持するための貯蔵容器とを具え、
前記光ファイバ内には、前記蛍光指示薬をその先端部まで導くための導入路が設けられていることを特徴とする、生体内物質の濃度計測装置。
- [31] 前記検出部は前記導入路の中心部を通る直線上に配置し、前記反射光は、前記導入路の、前記被計測生体と対向する先端部に導入するように構成したことを特徴とする、請求項30に記載の生体内物質の濃度計測装置。

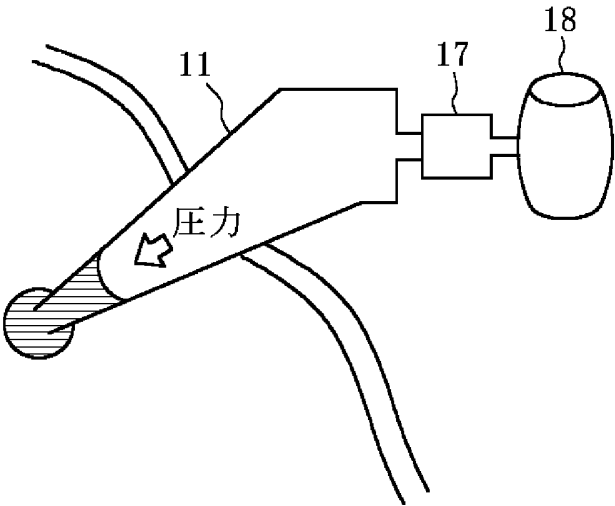
[図1]



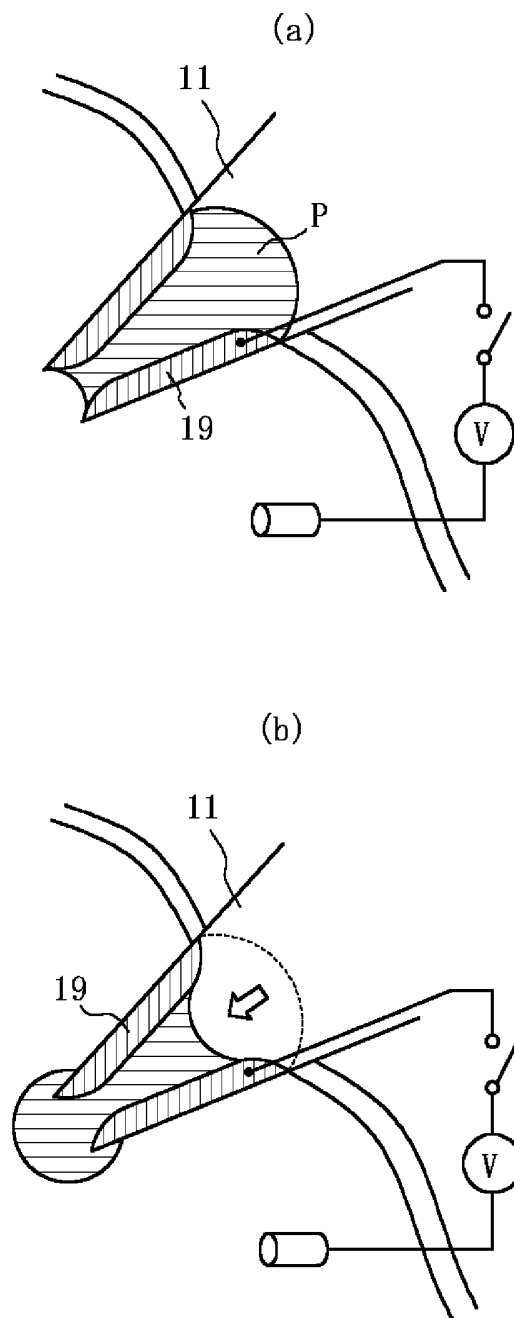
[図2]



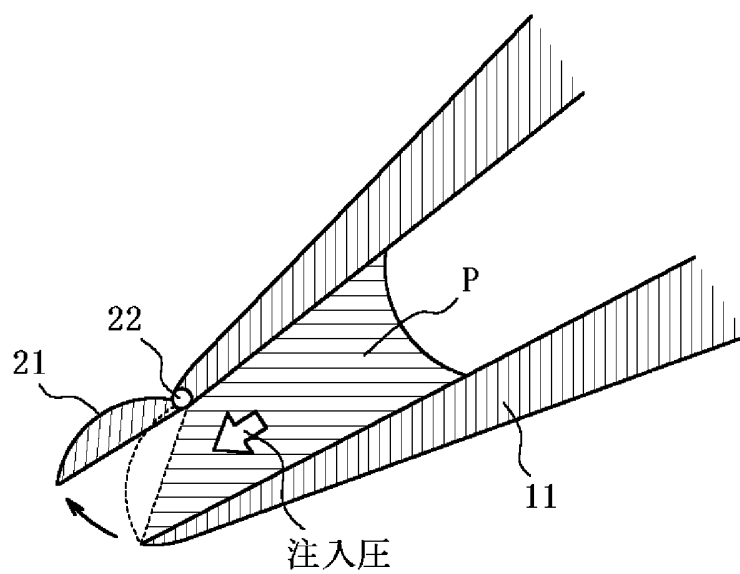
[図3]



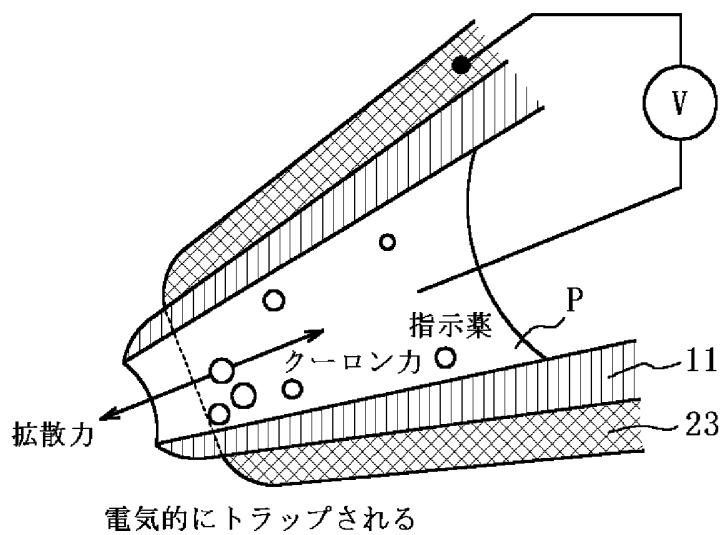
[図4]



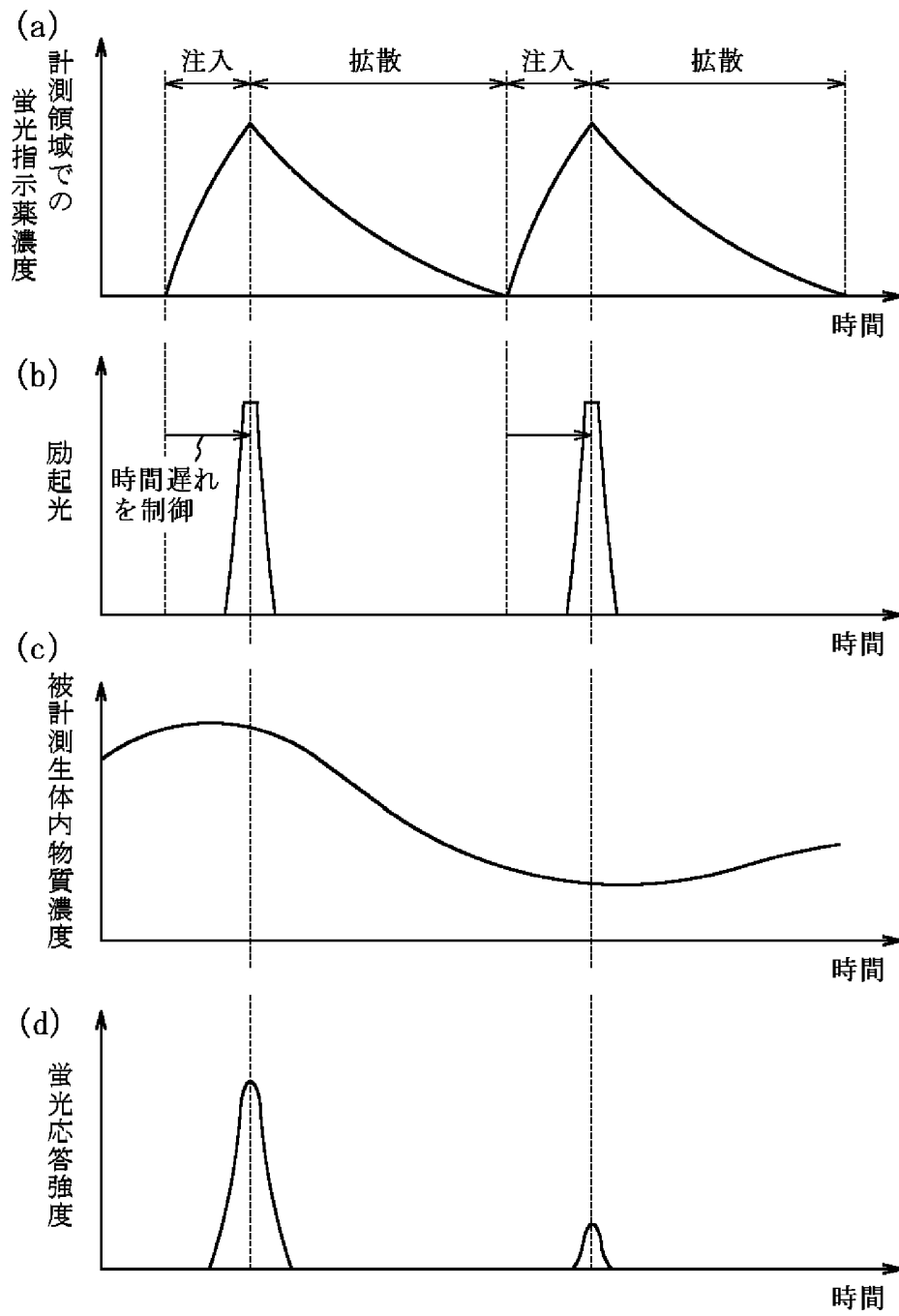
[図5]



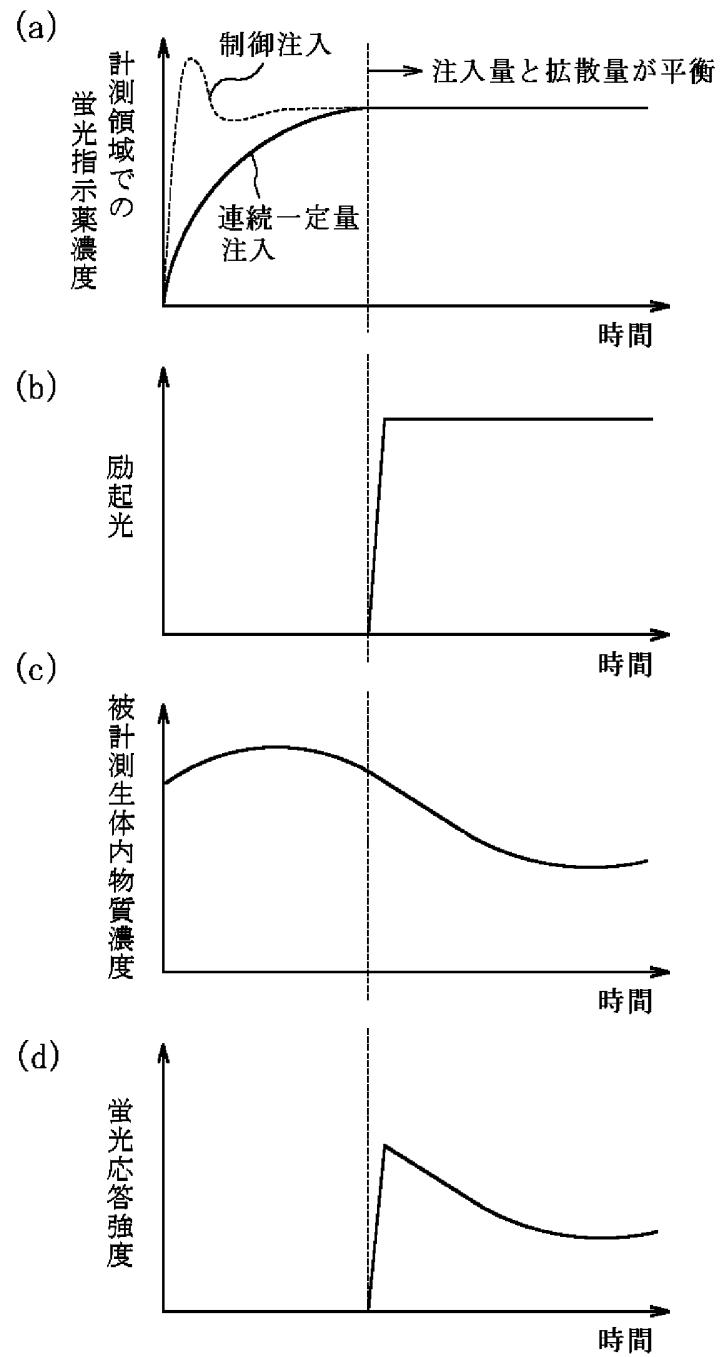
[図6]



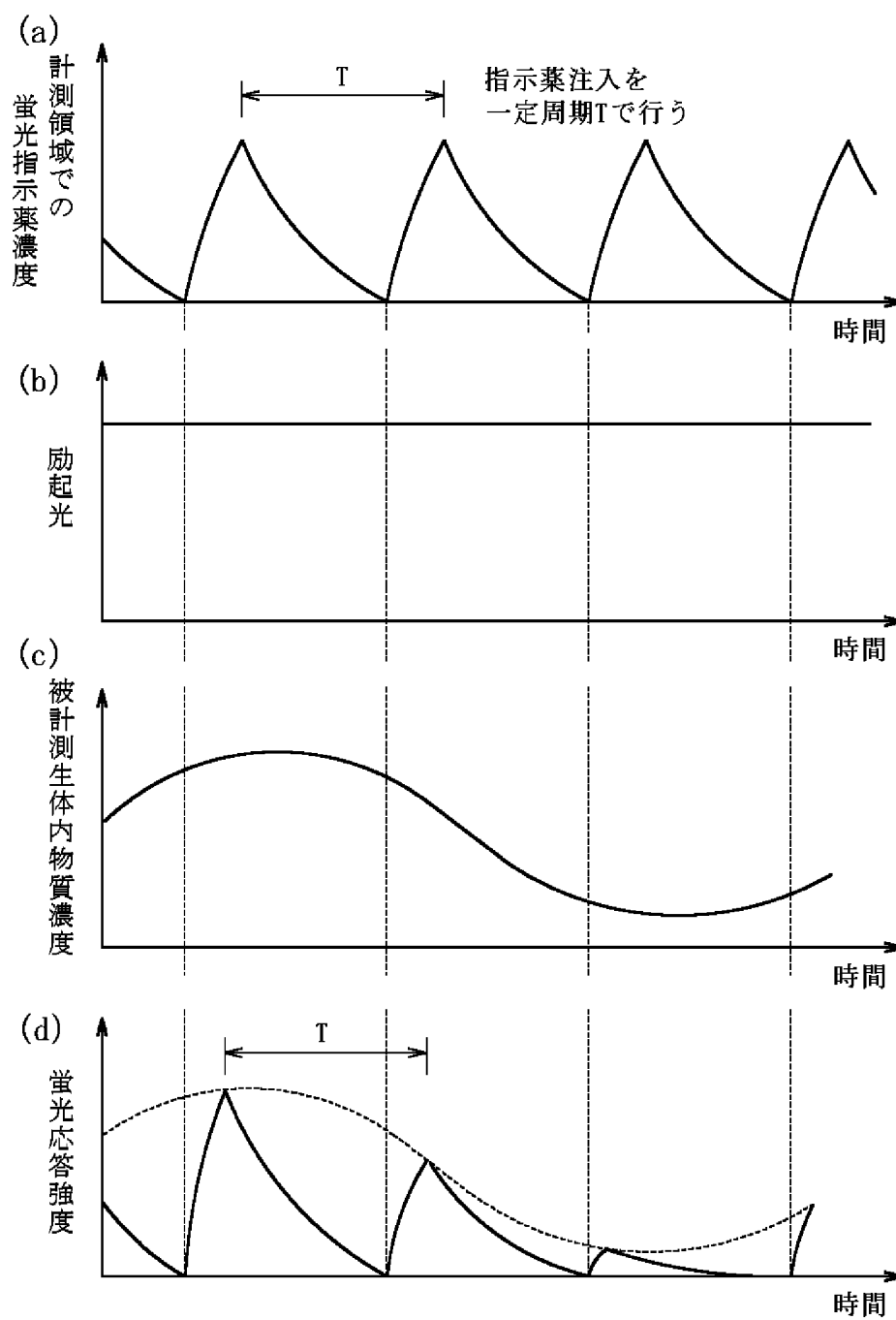
[図7]



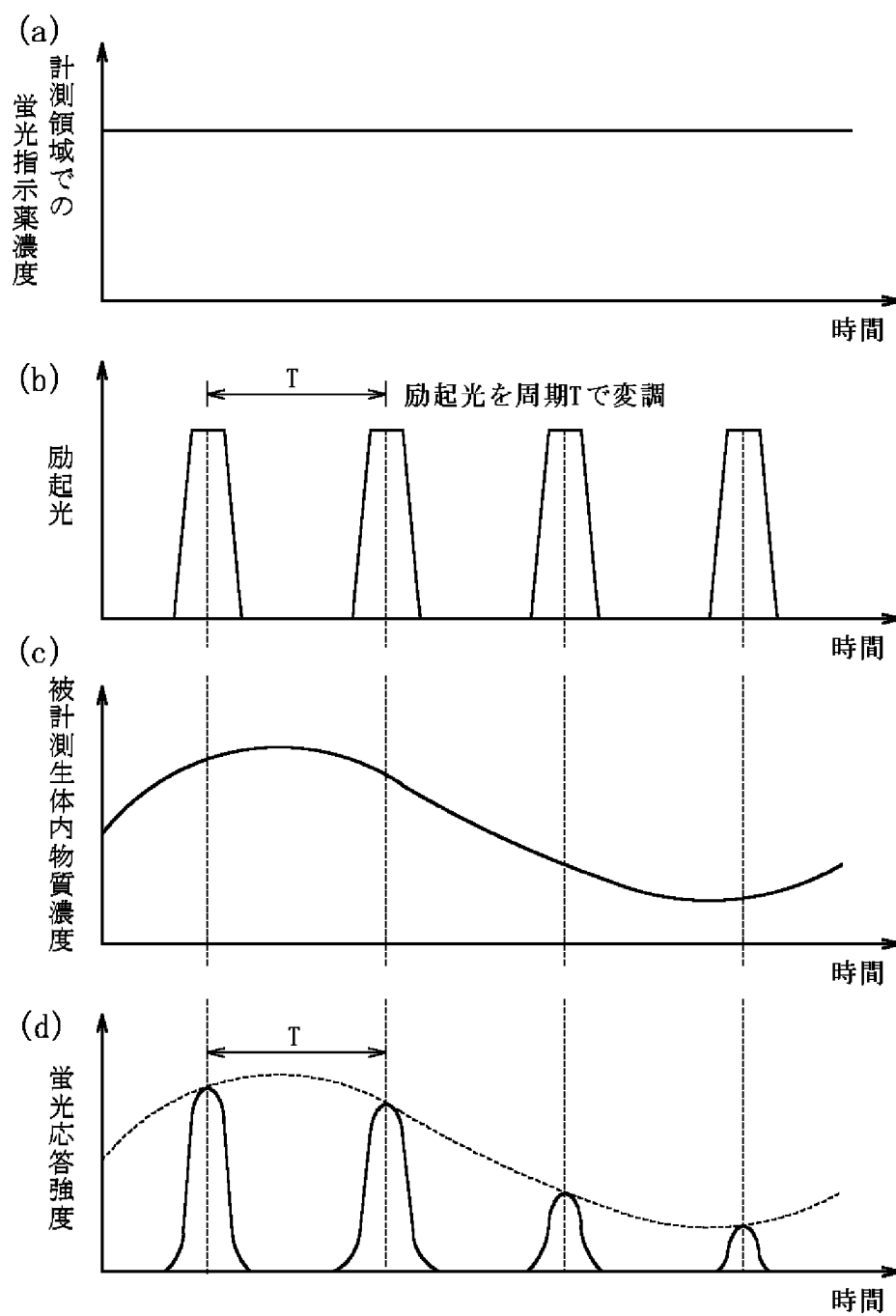
[図8]



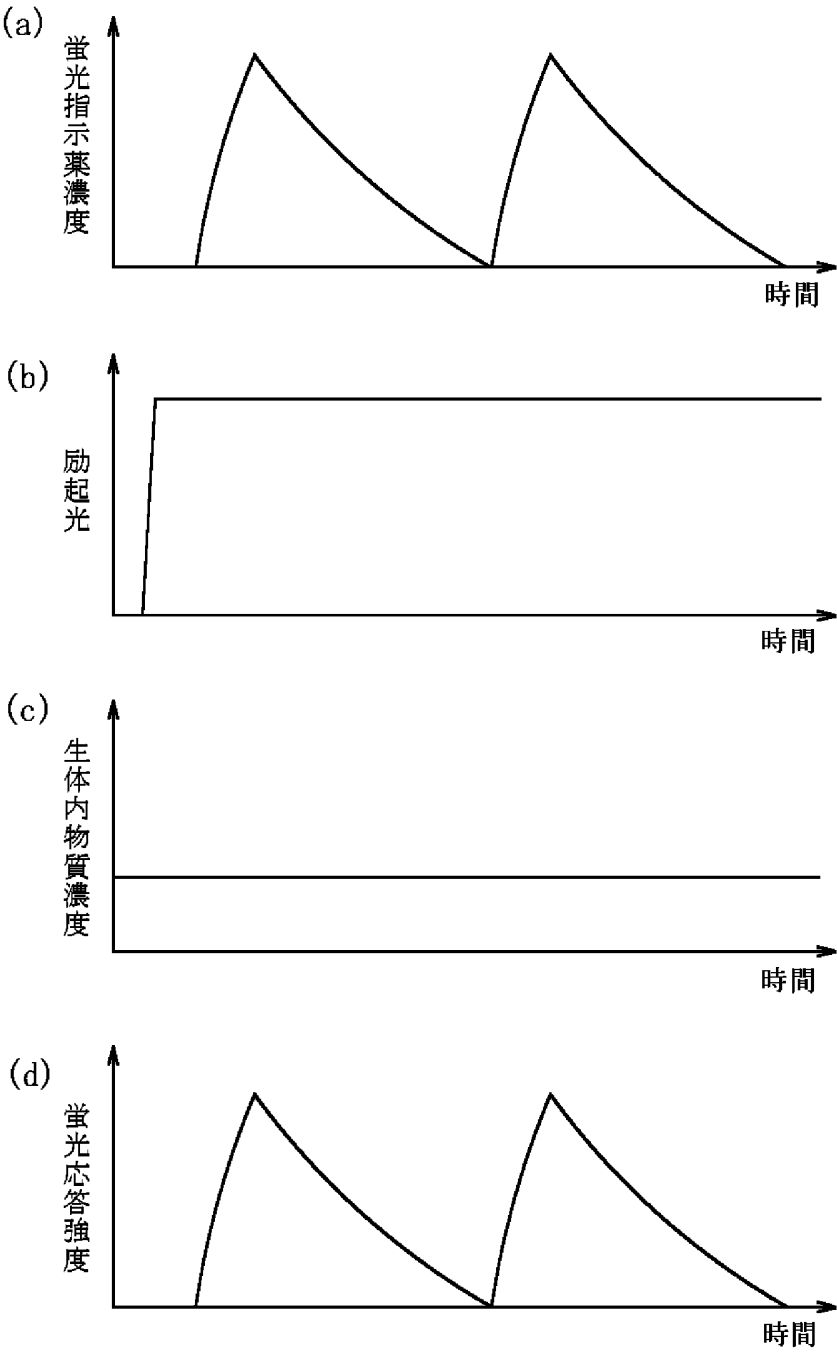
[図9]



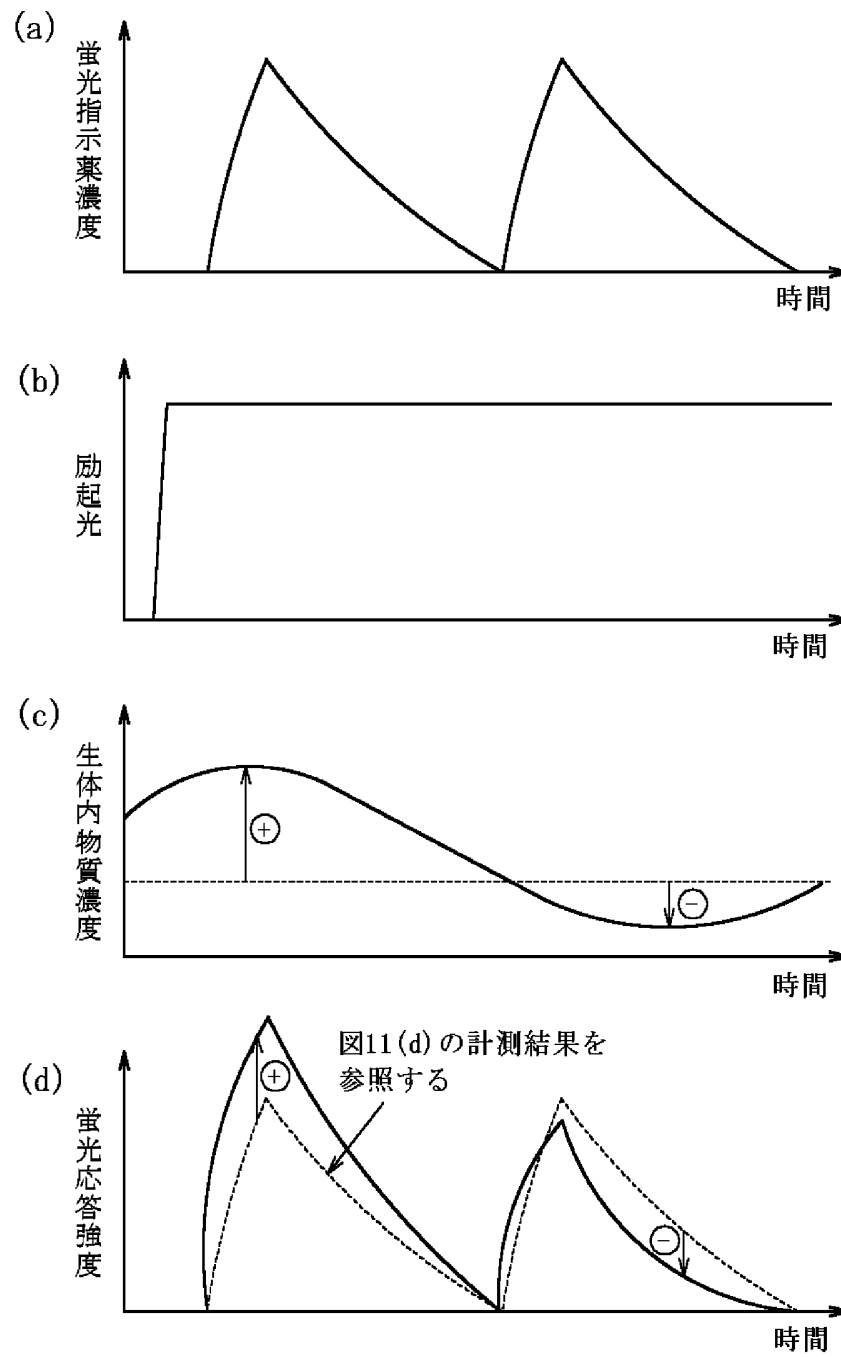
[図10]



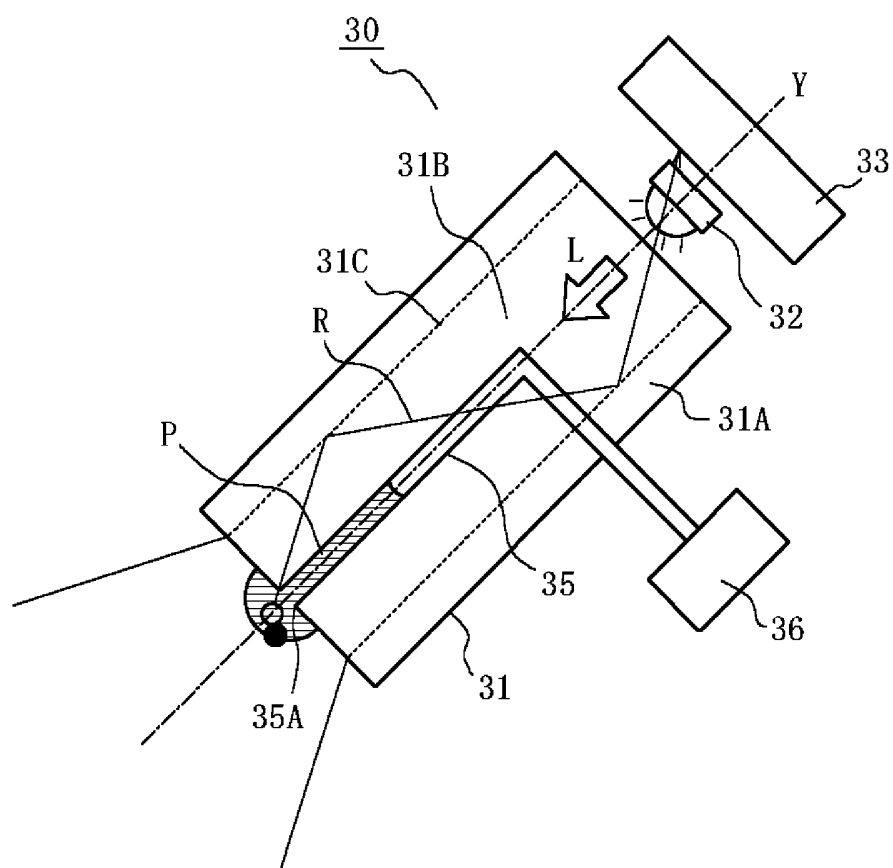
[図11]



[図12]



[図13]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/007834

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ A61B10/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁷ A61B10/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2004
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2004	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2004

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	JP 9-276275 A (Kazumasa SASAKI), 28 October, 1997 (28.10.97), (Family: none)	21 22-25, 27-29
X A	JP 11-155812 A (Olympus Optical Co., Ltd.), 15 June, 1999 (15.06.99), (Family: none)	21 22-25, 27-29
X A	JP 2000-300509 A (Olympus Optical Co., Ltd.), 31 October, 2000 (31.10.00), (Family: none)	21 22-25, 27-29

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
03 September, 2004 (03.09.04)

Date of mailing of the international search report
21 September, 2004 (21.09.04)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/007834

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 1-20

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

The method for measuring the concentration of a substance in a living body described in Claims 1-20 is deemed to substantially correspond to a method of diagnosis as considered from the fact that it includes a step for injecting (continued to extra sheet.)

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

Claim 21 is not novel as it is disclosed in Document JP 9-276275 A (Kazumasa SASAKI), 28 October, 1997.

As a result, Claims 21, 22 and the parts of Claims 23-25, 27-29 which hold in common the arrangement of Claim 22 are classified as the main invention. By classifying the second and further inventions likewise, it is deemed that six invention are described in Claims of this application.

Accordingly, Claims 21-31 do not satisfy the unity of invention.

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: Of claims 21, 22 and Claims 23-25, 27-29, the parts which share the arrangement of Claim 22.

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/007834

Continuation of Box No.II-1 of continuation of first sheet(2)

a fluorescence indicator into a living body or a step for obtaining reflected light from the living body.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A 61 B 1 0 / 0 0

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A 61 B 1 0 / 0 0

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2004年
日本国登録実用新案公報	1994-2004年
日本国実用新案登録公報	1996-2004年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X A	J P 9-276275 A (佐々木一正) 1997. 10. 28 (ファミリーなし)	21 22-25, 27-29
X A	J P 11-155812 A (オリンパス光学工業株式会社) 1999. 06. 15 (ファミリーなし)	21 22-25, 27-29
X A	J P 2000-300509 A (オリンパス光学工業株式会社) 2000. 10. 31 (ファミリーなし)	21 22-25, 27-29

☐ C欄の続きにも文献が列举されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

03. 09. 2004

国際調査報告の発送日 21. 9. 2004

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号 100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

小田倉 直人

2W

9163

電話番号 03-3581-1101 内線 3290

第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項(PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 1-20 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、請求の範囲1-20に記載の生体内物質の濃度計測方法は、生体内に蛍光指示薬を注入する工程や、生体内からの反射光を得る工程を含んでいること等から判断して、実質的に診断方法に該当するものと認められる。
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるときの国際調査機関は認めた。

請求の範囲21は文献JP 9-276275 A(佐々木一正)1997.10.28に開示されているから新規なものではない。

その結果、主発明には請求の範囲21, 22および請求の範囲23-25, 27-29のうち請求の範囲22の構成を共有する部分を区分し、同様に第2発明以降も区分していくと、本願の請求の範囲には6の発明が記載されていると認められる。よって請求の範囲21-31は発明の単一性を満たしていない。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☒ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。
請求の範囲21, 22及び請求の範囲23-25, 27-29のうち請求の範囲22の構成を共有する部分

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。