

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4912908号  
(P4912908)

(45) 発行日 平成24年4月11日(2012.4.11)

(24) 登録日 平成24年1月27日(2012.1.27)

(51) Int. Cl.	F I
GO 1 N 21/78 (2006.01)	GO 1 N 21/78 C
GO 1 N 33/483 (2006.01)	GO 1 N 33/483 C
GO 1 N 21/64 (2006.01)	GO 1 N 21/64 Z

請求項の数 5 (全 9 頁)

(21) 出願番号	特願2007-31783 (P2007-31783)	(73) 特許権者	504300181 国立大学法人浜松医科大学 静岡県浜松市東区半田山一丁目20番1号
(22) 出願日	平成19年2月13日(2007.2.13)	(73) 特許権者	000006507 横河電機株式会社 東京都武蔵野市中町2丁目9番32号
(65) 公開番号	特開2008-196940 (P2008-196940A)	(74) 代理人	100075144 弁理士 井ノ口 壽
(43) 公開日	平成20年8月28日(2008.8.28)	(72) 発明者	寺川 進 静岡県浜松市半田山三丁目45番6号
審査請求日	平成21年12月25日(2009.12.25)	(72) 発明者	櫻井 孝司 静岡県浜松市萩丘二丁目10番1号 ピア ンテ四ツ池301

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 バイオセンサ形イメージングファイバ装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

特定の生体微量物質に反応して細胞に存在する多数の受容体または単一の受容体を発現することにより光出力特性が変化するバイオセンサと、

単数または複数の波長の光を発生しうる光源と、

多数のファイバ素線を束ね、前記バイオセンサを前記ファイバ束の先端部に配置したバンドルファイバと、

前記バンドルファイバ先端に配置したバイオセンサを覆い、前記特定の物質のみを通過させる透過孔を有する物質選択膜と、

前記バンドルファイバの出力端に設けられた光源からの励起光とバイオセンサからの信号光を分離する光学的手段と、

前記バンドルファイバの出力端に設けられ、前記バイオセンサの映像変化を取得する測定手段と、

を備え、

前記バンドルファイバは、複数有し、その一部にイメージ検出形バンドルファイバを含むとともにバイオ付バンドルファイバはフレキシブル構造であり、

バイオ付バンドルファイバはそれぞれ異なる角度から近づけて観察対象を捉えるとともに前記イメージ検出形バンドルファイバでイメージも検出することを特徴とするバイオセンサ形イメージングファイバ装置。

【請求項2】

前記光出力特性の変化は蛍光強度、強度分布、特定域の波長または色の変化であることを特徴とする請求項 1 記載のバイオセンサ形イメージングファイバ装置。

【請求項 3】

前記物質選択膜は、組成がセルロースやプラスチック樹脂など高分子物質であることを特徴とする請求項 1 または 2 記載のバイオセンサ形イメージングファイバ装置。

【請求項 4】

前記特定の物質は、ホルモンや神経伝達物質などの生体内微量物質であり、

前記バイオセンサは該ホルモンの反応して蛍光強度が増加、または反応前の出力波長に対し長いまたは短い波長の光を出力することを特徴とする請求項 1 , 2 または 3 記載のバイオセンサ形イメージングファイバ装置。

10

【請求項 5】

前記測定手段は、撮像素子を前記バンドルファイバの出力端に配置して映像を得るビデオカメラであり、

前記撮像素子出力端から 2 次元画像を得ることを特徴とする請求項 1 , 2 , 3 または 4 記載のバイオセンサ形イメージングファイバ装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、生体の観察対象にイメージングファイバを挿通し、生体内の微量物質を 2 次元検出するバイオセンサ形イメージングファイバ装置に関する。

20

【背景技術】

【0002】

バイオセンサとは、生体物質を素子に用いたセンサや生体関連物質を測定対象とするセンサの総称であり、バイオセンサの一般的な構成は、生体分子識別材料（酵素や工程などの生体触媒が用いられることが多い）と、その反応に伴う物理量や化学量を検出するデバイスから成り立っている。このデバイスは半導体センサや種々の電極（マイクロ酸素電極など）を用いることができ、シリコン微細加工技術によって製作することが可能である。血液分析システム、グルコースセンサ、マイクロロボットなどに使用されるものである。

例えばグルコース濃度を検出するための電極などでは、グルコースが酵素と反応して酸化され電子が発生する。その電子を検出することによってグルコース濃度を知ることができる。また、PH（ピーエイチ）センサや血糖値の検出も行うバイオセンサなどがあり、これらは化学電極とも云われている。

30

【0003】

現在医療の分野では、生体内に含まれる微量物質の 2 次元的分布の検出や濃度検出を可能にするシステムの開発が要請されている。

生体内に含まれる微量物質を検出できれば、ある病気の細胞が既に体内に存在するか否かを知ることができ、病気の早期発見や治療につなげることができる。

【0004】

本件発明者は、生体内の微量物質検出方法としてバイオセンサと光ファイバを利用したファイバ装置の開発を行ってきた。

40

バイオセンサの構造としては基質内の複数のディスクリートサイトに配置されるバイオセンサが提案されている（特許文献 1）。これは光ファイバアレイ内の個々のファイバの末端部にエッチングを施しマイクロウエルを形成し、空間上の分離機構を設けたものであるが、被検出物質の選択のための特別な機構や部材は有していない。バイオセンサ形のファイバを構成する場合、バイオセンサ先端に被検出物質を選択するための選択機能が必要であると考えられる。

【特許文献 1】特表 2002 - 506200

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

50

本発明で用いるバイオセンサは、電極の先端に酵素などを取り付け、酵素で起こる反応を電子に変えるものと定義される。具体的には電極に相当するものを光ファイバとし、酵素に相当するものをバイオ細胞として考えたものである。

【0006】

本発明の目的は、光ファイバ束の先端にバイオセンサを取り付け、バイオセンサが生体内の特別な物質に反応し変化して発する光信号を光ファイバを介して生体外に送り、これを映像として捉えることにより、2次元画像によって生体内の微量物質の分布や密度を検出し、医療に役立たせることができるバイオセンサ形イメージングファイバ装置を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0007】

前記目的を達成するために本発明の請求項1は、特定の生体微量物質に反応して細胞に存在する多数の受容体または単一の受容体を発現することにより光出力特性が変化するバイオセンサと、単数または複数の波長の光を発生しうる光源と、多数のファイバ素線を束ね、前記バイオセンサを前記ファイバ束の先端部に配置したバンドルファイバと、前記バンドルファイバ先端に配置したバイオセンサを覆い、前記特定の物質のみを通過させる透過孔を有する物質選択膜と、前記バンドルファイバの出力端に設けられた光源からの励起光とバイオセンサからの信号光を分離する光学的手段と、前記バンドルファイバの出力端に設けられ、前記バイオセンサの映像変化を取得する測定手段とを備え、前記バンドルファイバは、複数有し、その一部にイメージ検出形バンドルファイバを含むとともにバイオ付バンドルファイバはフレキシブル構造であり、バイオ付バンドルファイバはそれぞれ異なる角度から近づけて観察対象を捉えるとともに前記イメージ検出形バンドルファイバでイメージも検出することを特徴とする。

本発明の請求項2は請求項1記載の発明において前記光出力特性の変化は蛍光強度、強度分布、特定域の波長または色の变化であることを特徴とする。

本発明の請求項3は請求項1または2記載の発明において前記物質選択膜は、組成がセルロースやプラスチック樹脂など高分子物質であることを特徴とする。

本発明の請求項4は請求項1, 2または3記載の発明において前記特定の物質は、ホルモンや神経伝達物質などの生体内微量物質であり、前記バイオセンサは該ホルモンの反応して蛍光強度が増加、または反応前の出力波長に対し長いまたは短い波長の光を出力することを特徴とする。

本発明の請求項5は、請求項1, 2, 3または4記載の発明において、前記測定手段は、撮像素子を前記バンドルファイバの出力端に配置して映像を得るビデオカメラであり、前記撮像素子出力端から2次元画像を得ることを特徴とする。

【発明の効果】

【0008】

上記構成によれば、バンドルファイバ先端のバイオセンサの変化を2次元画像として捉えることができ、体内における微量物質の分布や経時変化を知ることができる。

例えば、ガン細胞の放出物質となるホルモンを検出すれば、ガン細胞の存在を検出することが可能となる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0009】

以下、図面を参照して本発明の実施の形態を詳しく説明する。

図1は、本発明によるバイオセンサ形イメージングファイバ装置のバイオセンサおよび光ファイバ部分の詳細を説明するための図である。

バンドルファイバ2は多数の光ファイバ素線3を束ねて形成したものであり、その先端部2aにはバイオセンサ(細胞)1が取り付けられている。取り付け方法は光ファイバの先端にバイオセンサ1を培養するものである。バイオセンサ1の前面側にはセルロースなどの繊維構造よりなる物質選択膜4を張り付けてある。物質選択膜4は多数の小さい孔が形成されており、孔より小さい特別な物質などを通過させるような構造である。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 1 0 】

端面を正面から観察すると、多数のバイオセンサが配置され、その背後に多数のファイバ素線 3 が配置され、バイオセンサの変化する光学信号がファイバ素線 3 の検出側端面 2 a に入射するようになっている。

これら光学信号はファイバ素線 3 を介して光センサ側の端面 2 b に導かれる。多数のファイバ素線 3 から光信号を CCD などの撮像素子で受光することによりバイオセンサの 2 次元のイメージ情報を得ることができる。

バンドルファイバの径は例えば 1 ~ 10 mm であり、その先端部は比較的柔軟な構造であり、ファイバの先端付近を少し曲げることが可能である。

## 【 0 0 1 1 】

図 2 は、バイオセンサの例を説明するための図である。

( a ) の蛍光標識化細胞 ( 非特異的 ) は、多種類の受容体を発現するもので、多くのホルモンを感知することができる。 , , Y で示される部分がそれぞれの受容体 1 1 a , 1 1 b , 1 1 c で、各種の受容体が発現しているものである。このバイオセンサでは多種類の生体内微量物質を感知することが可能である。

また、( b ) は人工で作った細胞膜で、ある特定の物質のみを感知するような受容体 1 2 a だけを発現させたり、イオン感受性蛍光指示薬で染めてあったり、蛍光タンパク質を発現させてあるものである。

例えば、( b ) のバイオセンサでは目的の微量物質と反応すると Ca 応答を示し、Ca 依存的に蛍光強度の変化 ( またはスペクトル変化 ) が起こる。

## 【 0 0 1 2 】

図 3 は、単一受容体再構成人工膜によるバイオセンサについて、リガンドとなる生体内微量物質の存否による変化を説明するための図である。

測定したい物質、例えばホルモンが存在しない場合には受容体 1 2 a は反応することはなく、バイオセンサ 1 2 は照射される光に対し、発する蛍光は弱いものである。または、色のスペクトルは青色である。

観測すべき生体内にホルモン 1 3 が存在すると、ホルモン 1 3 は受容体 1 2 a と反応を起こし、バイオセンサ 1 2 は蛍光の強度が増加する。または青色であったものが赤い色に変化する。

## 【 0 0 1 3 】

図 4 は、バイオセンサから出力される蛍光強度 - 波長特性の光出力特性の変化例を示す波形図である。

( a ) はある特定領域波長の蛍光強度のみを変化させる生体内微量物質が存在する場合である。縦軸は蛍光強度、横軸は波長で、生体内微量物質の物質が増加するにしたがって反応する受容体が増加し、特性 1 5 a に示すように当初波形の中央部のレベルが低かったものが、生体内微量物質との反応量にしたがって、特性 1 5 b , 1 5 c , 1 5 d となって波形の中央部の蛍光強度が大きくなる。

## 【 0 0 1 4 】

つぎに ( b ) は蛍光強度および色の両方が変化する生体内微量物質が存在する場合である。1 種類の生体内微量物質の受容体または複数の生体内微量物質の存在でこのような特性となる。

生体内微量物質が存在しない場合、または存在が少ない場合には特性 1 6 a となる。生体内微量物質の存在が多くなると、波長のピークが長い波長にずれるとともに蛍光強度のピークも小さくなり、特性 1 6 b , 1 6 c , 1 6 d に示すようになる。

( c ) は色変化のみ生ずる生体内微量物質が存在する場合である。当初特性 1 7 a であったものが、生体内微量物質の増加に伴い、同一の波形形状の特性の中心位置が長波長側にずれ、特性 1 7 b , 1 7 c , 1 7 d に示すようになる。

## 【 0 0 1 5 】

図 5 は、本発明によるバイオセンサ形イメージングファイバ装置に蛍光顕微鏡の光学系を適用したシステムの実施の形態を示す図である。

10

20

30

40

50

バイオセンサ 1 , バンドルファイバ 2 および物質選択膜 4 の構成は、図 1 の構成と同じであり、バイオセンサ 1 を取り付けたバンドルファイバ 2 の先端は生体の挿入孔を通して測定すべき生体内の目的位置に挿入される。

図示しない光制御部の制御の下に半導体レーザやキセノンランプ等の光源 2 0 を起動させると、光源 2 0 の励起光は集光レンズ 2 1 , 励起フィルタ 2 2 , レンズ 2 3 を通過し、ダイクロイックミラー 2 4 で反射され、集光レンズ 2 5 によりバンドルファイバ 2 の光センサ側端面 2 b に導かれる。

【 0 0 1 6 】

バンドルファイバ 2 の光センサ側端面 2 b に入射した光は、バンドルファイバ 2 の先端部に伝達され、細胞内に照射される。もし細胞の近傍に生体内微量物質が存在する場合には、バイオセンサ 1 は蛍光信号の輝度変化を起こし、蛍光強度が増加するか、またはバイオセンサの色が変化する。この光信号はバンドルファイバ 2 の光センサ側端面 2 b から出力され、集光レンズ 2 5 , ダイクロイックミラー 2 4 を通過し、さらにダイクロイックミラー 2 4 の背後にある蛍光を通過させる蛍光フィルタ ( バンドパスフィルタ ) 2 6 , 集光レンズ 2 7 を介して CCD 2 8 に入射する。CCD 2 8 は映像制御回路 2 9 により制御され、光信号のイメージは電気信号に変換され、所定処理がなされて画像表示部 3 0 に送られる。画像表示部 3 0 では、バイオセンサの 2 次元像を観測することができ、ホルモンの分布や密度を検出することができる。

【 0 0 1 7 】

図 6 は、多分岐形のバンドルファイバを用い、バイオセンサ形イメージングファイバの他にイメージも検出できるシステムの実施の形態を示す図である。

この例は、バイオセンサにより生体内微量物質の存在を捉えながら、観察対象も同時に光学的に検出できるようにしたものである。

マルチイメージングファイバ装置 3 8 は制御回路 3 7 , バンドルファイバの分岐部 4 0 , 光スキャナ 3 9 を備えている。制御回路 3 7 はレーザ光源 3 6 からの光導入や、バンドルファイバの分岐部 4 0 へのファイバへの光入力およびバンドルファイバの分岐部 4 0 から光出力を行うための光スキャナ 3 9 を制御する機能を有している。さらにバンドルファイバの分岐部 4 0 から出力した光データをカメラ・モニタ 3 5 に送出する制御も行う。

【 0 0 1 8 】

バンドルファイバ分岐部 4 0 ではバイオセンサ付イメージファイバ 3 1 およびイメージ専用ファイバ 3 2 に対し、レーザ光源 3 6 から送られてくる光が分岐される。

バンドルファイバ分岐部 4 0 のバイオセンサ付イメージファイバ 3 1 およびイメージ専用ファイバ 3 2 の端面に対し、それぞれの端面を照射するようにレーザ光 3 6 a が当てられ、図示しない端面照射切替機構により順次照射端面が切り替えられていく。

バイオセンサ付イメージファイバ 3 1 は生体内微量物質 3 4 により蛍光変化を検出し、イメージ専用ファイバ 3 2 は臓器または疾病領域中における観察対象のイメージを撮像する。これら変化した蛍光および撮像光はそれぞれ、バンドルファイバ分岐部 4 0 に戻り、カメラ・モニタ 3 5 に出力される。バイオ付バンドルファイバの先端部はフレキシブル構造であるため、複数のバイオ付バンドルファイバそれぞれを、その先端部を曲げて異なる角度から観察対象に近づけることができる。また、複数のバイオ付バンドルファイバの一部を観察対象の周囲に向けて周辺の状態を同時に観察することも可能である。

この例はレーザ光源 3 6 からの光を切り替えることにより多数のバンドルファイバ ( バイオ付イメージファイバ 2 個 , イメージ専用ファイバ 2 個 ) に分岐する構成を採用するものであるが、レーザ光源 3 6 からの光を分割して多数のバンドルファイバに同時に光を供給することも可能である。かかる場合には 4 個のファイバ端面を同時に照射するように光学系が構成される。これらの端面切替機構および分割照射機構は、本件出願人がすでに提案している切替形イメージングファイバ装置 ( 特願 2 0 0 5 - 3 3 1 8 6 0 ) および分割形イメージングファイバ装置 ( 特願 2 0 0 5 - 3 3 1 5 3 3 ) の構成を利用することができる。

バイオ付イメージファイバ 3 1 およびイメージ専用ファイバ 3 2 の数はこの例に限らず

10

20

30

40

50

、さらに多数のバンドルファイバを設置することが可能である。

【0019】

具体例として従来の装置は生体内の対象部分を観察するか、または、その部分の物質の測定のいずれしかできないものであった。

しかしながら、本発明によれば、鉗子を入れる部分、内視鏡挿入部分、バイオセンサ付きバンドルファイバを挿入部分を備えたカテーテルで用いることにより、モニタをしながら微量物質の測定を行い、かつ治療を行うことが可能となる。また、複数種類のバイオセンサ付きバンドルファイバ（マルチイメージングファイバ）を同時に使うことができるようになる。また、本発明によるバイオセンサ付きバンドルファイバは測定機能付きの蛍光顕微鏡として応用することができる。

10

【産業上の利用可能性】

【0020】

蛍光顕微鏡の光学系を接続することにより、生体や臓器におけるホルモンや神経伝達物質などの微量物質の濃度や2次元分布を観察しながら治療ができるバイオセンサ付きイメージファイバ装置である。

【図面の簡単な説明】

【0021】

【図1】本発明によるバイオセンサ形イメージングファイバ装置のバイオセンサおよび光ファイバ部分の詳細を説明するための図である。

【図2】バイオセンサの例を説明するための図である。

20

【図3】単一受容体再構成人工膜によるバイオセンサについて、ホルモンの存否による変化を説明するための図である。

【図4】バイオセンサから出力される蛍光強度 - 波長特性の光出力特性の変化例を示す波形図で、(a)は蛍光強度のみ変化する場合、(b)は蛍光強度および色変化が生ずる場合、(c)は色変化のみ生ずる場合をそれぞれ示している。

【図5】本発明によるバイオセンサ形イメージングファイバに蛍光顕微鏡の光学系を適用したシステムの実施の形態を示す図である。

【図6】多分岐形のバンドルファイバを用い、バイオセンサ形イメージングファイバの他にイメージも検出できるシステムの実施の形態を示す図である。

【符号の説明】

30

【0022】

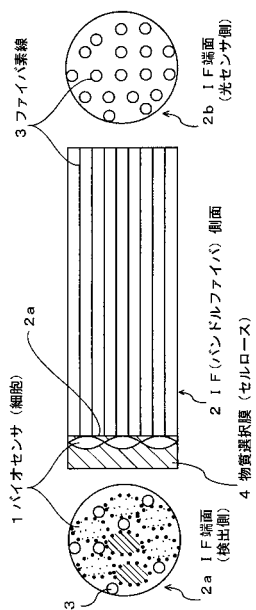
- 1 バイオセンサ(細胞)
- 2 バンドルファイバ(IF)
- 2 a バンドルファイバ検出側端面
- 2 b バンドルファイバ光センサ側端面
- 3 光ファイバ素線
- 4 物質選択膜(セルロース)
  - 1 1 蛍光標識化細胞
  - 1 2 単一受容体再構成人工膜
- 2 0 光源
- 2 1 , 2 3 , 2 5 , 2 7 レンズ
- 2 2 励起フィルタ
- 2 4 ダイクロイックミラー
- 2 6 蛍光フィルタ
- 2 8 CCD
- 2 9 映像制御回路
- 3 0 画像表示部
- 3 1 バイオセンサ付イメージファイバ
- 3 2 イメージ専用ファイバ
- 3 3 臓器または疾病領域中における観察対象

40

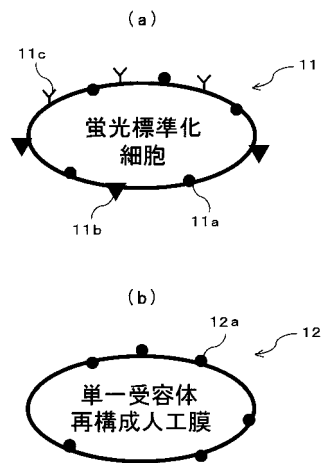
50

- 3 4 生体内微量物質
- 3 5 カメラ・モニタ
- 3 6 レーザ光源
- 3 7 制御回路
- 3 8 マルチイメージングファイバ装置

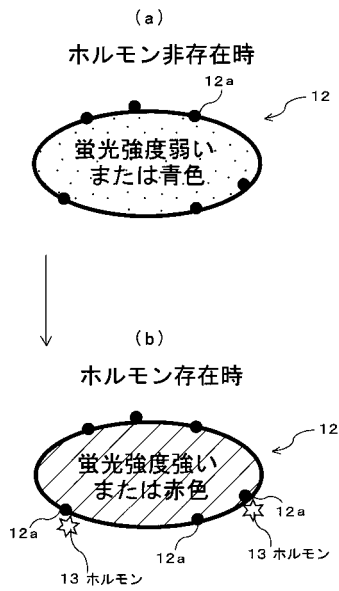
【図1】



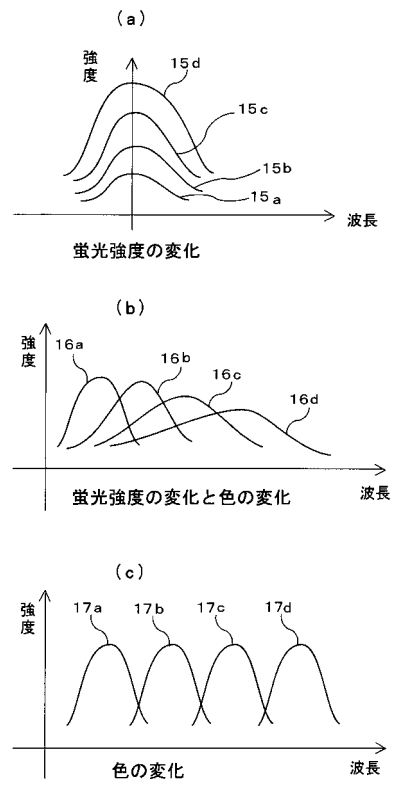
【図2】



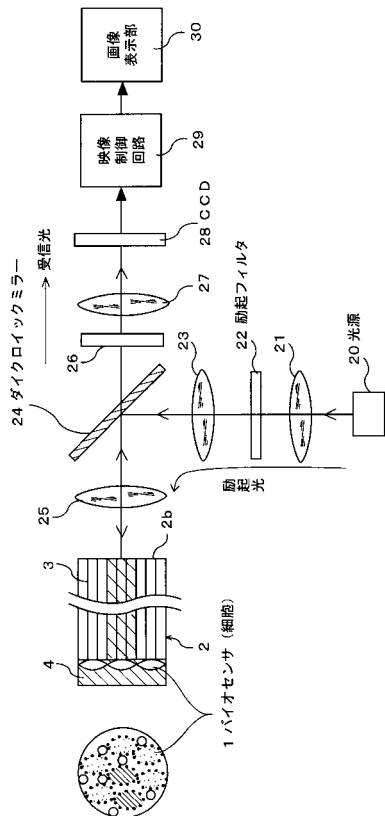
【図3】



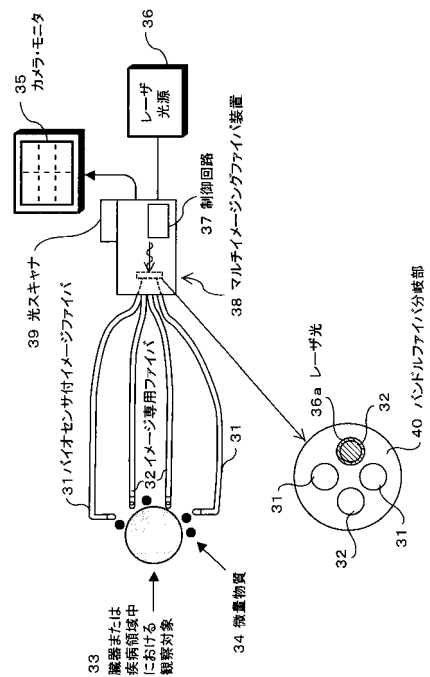
【図4】



【図5】



【図6】



---

フロントページの続き

- (72)発明者 須々木 礼美  
静岡県浜松市有玉台一丁目2番48号 アルドーレ201
- (72)発明者 最上 秀夫  
静岡県浜松市半田山五丁目20番16号
- (72)発明者 蛭川 英男  
東京都武蔵野市中町二丁目9番32号 横河電機株式会社内

審査官 廣田 健介

- (56)参考文献 特開平06-288829(JP,A)  
特開平02-190748(JP,A)  
特表2002-506200(JP,A)  
国際公開第2006/044973(WO,A1)  
特開2002-340900(JP,A)  
特表平11-512819(JP,A)  
特表2000-505281(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 21/62 - 21/83  
G01N 33/48 - 33/98  
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)