

# 解 説

## レーザーによる生体計測

佐藤 俊一\*・稻場 文男\*,\*\*

\* 東北大学電気通信研究所 〒980 仙台市片平 2-1-1

\*\* 新技術開発事業団創造科学技術推進事業稻場生物フォトンプロジェクト  
〒980 仙台市東七番丁 84

(1988年3月11日受理)

### Biological Measurements by Lasers

Shunichi SATO\* and Humio INABA\*,\*\*

\* Research Institute of Electrical Communication, Tohoku University,  
2-1-1, Katahira, Sendai 980

\*\* INABA Biophoton Project, Research Development Corporation of Japan,  
84, Higashi-Shichibanchō, Sendai 980

### 1. はじめに

ある物体の状態やさまざまな事象を観察したり、測定したりすることは、自然科学のみならず社会・人文科学の各分野においても出発点における最初の重要な行為であることは疑いのない点であろう。とくに研究対象がほとんど未知であるような場合には観察、計測によるデータの収集が不可欠となる。このような分野の代表的なものの一つにバイオサイエンスがあると思われる。すなわち、現在ほぼ均一な物質に関する知識や理解はかなり進んできているといえるが、種々雑多な物質が不均一に混じりあい、そして驚くべきことにそれらが多重の階層構造を作つて一つの個体としての高い秩序性を維持し、かつ自己組織化、さらには自己増殖化していく生命体については、生命そのものがなにかということを含めてまだほとんど理解されていない現状であり<sup>1)</sup>、それだけにできるだけ多くの知識や情報を積み重ねることが重要な意義をもつてゐる。

生体を測るための物理的方法には力学的、熱的、電気的、磁気的、光学的、音響的、物理化学的、放射線的などのアプローチがあるが<sup>2)</sup>、光を用いる方法の特徴として無侵襲、非破壊計測であることが第一に挙げられるであろう。光による生体計測で最も単純なのは肉眼による観察であるが、現在ではさまざまな定量的計測技術が開発され、計測の対象となる光の波長は可視部だけでな

く、赤外域や紫外域、あるいはX線、γ線の領域にまで及んでいる。そしてさらに、優れたコヒーレント特性を有するレーザー光の出現によって、従来インコヒーレント光を利用して行なわれてきた技術の限界が打破されて、はるかに精度が良くて、高速で、また信頼性の高い計測が可能になったり、まったく新しい独自の手法が開発され、応用されるようになってきた<sup>3-5)</sup>。

図1は、レーザーの生体計測への応用の現状について分類してまとめたもので、このなかには基礎研究として重要な事項や応用開発の進められているものを含めてある<sup>5)</sup>。一口に生体計測と言つてもその内容はきわめて多種多彩であり、対象は生体内原子、分子、イオンから細胞内小器官、細胞、組織、器官、個体にわたっている。さらに利用するレーザーの種類や波長、出力、偏光などの特性や動作法、さらに測定する光（反射、散乱、吸収、発光など）もさまざまに異なっている。図では健康状態や疾病の診断のための生体の直接的計測および治療の評価、予測、予後の判定に必要な生体検査・計測と、人体から採取された血液や各種体液、分泌物、代謝物、粘膜や組織の擦過片または切除片、微生物などを用いる検体検査・計測の2種類に大別してある。

本文では限られた紙面のため、これら各項目の特徴や現状などについて述べる余裕はないので、これらのうち比較的最近研究開発が進展してきたものや広い注目を集めているものについて、筆者らの研究室で行なっている

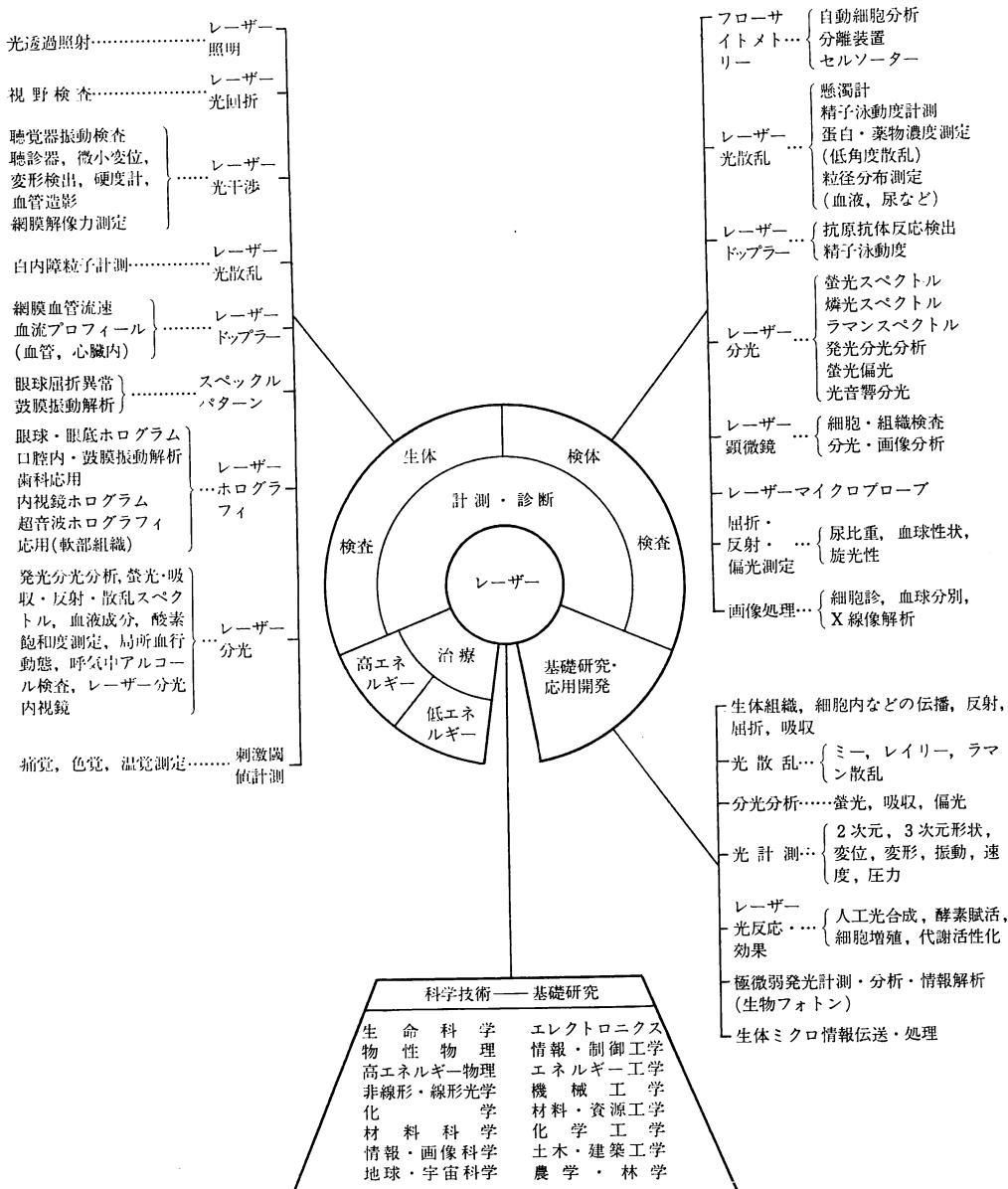


図 1 レーザーの生体計測・診断への応用

研究結果を交えながら記すこととする。

## 2. フローサイトメーター

個々の生体細胞にレーザー光を照射すると散乱や螢光が生じるが、それらの強度やスペクトル分布と生体細胞の構造や性質の間の相関関係を利用して、高速で流れてくる細胞流について短時間に多量の特徴抽出、識別処理を行なうことのできる装置をフローサイトメーターと呼んでいる<sup>6)</sup>。さらに、この細胞流より所望の細胞を電気的に選別することも可能であり、これらの機能を結合し

た装置は、生体細胞自動分析分離システム<sup>7)</sup>、または通称セルソーターと言われている。

図2はその装置の概要を示すものである。レーザーには主として可視光領域のArイオンレーザー、または色素レーザーが用いられている。細胞浮遊液と生理食塩水は合わせられフローノズルから放出される。また印加した超音波振動信号に同期して一列になって落下していく個々の細胞は、円筒レンズで細長い形状に整えられたレーザー光によって照射される。そこで生じた散乱光は前方の光検出器で、また螢光は一度ダイクロイックミラーに

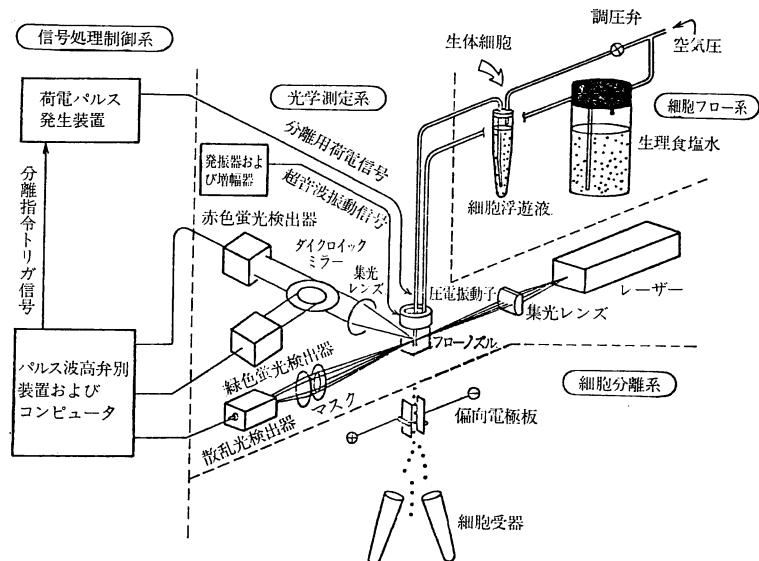


図2 生体細胞自動分析分離システム（セルソーター）の基本的構成

よって、たとえば赤と緑の波長成分に分離された後、それぞれ光電子増倍管によって検出される。その後これらの細胞列は圧電振動子によって細胞がそれぞれ一個ずつ含まれているような微小な水滴群に変えられ、そのおののには検出した必要な情報に応じて適当な電荷が加えられる。すなわち、それぞれの細胞の散乱および蛍光強度信号は細胞が下側の偏向電極板を通過する前に迅速に解析され、その情報に応じて電極板に加える電圧を制御することによって個々の生体細胞を分離することができる。この方法によって毎秒数千個程度から、高速のものでは2万個以上<sup>8)</sup>の生体細胞を計測、分離処理することが現在可能になっている。

このような原理に従うフローサイトメーターでは、ミー散乱に基づいて散乱光強度から生体細胞の寸法、あるいは体積に関する情報が得られ、生体細胞を生きたままの状態で比較、解析することができる。一方、生体細胞自身からの蛍光強度は一般に非常に微弱なため、蛍光測定は通常染色を施して行なう。その際、染色する色素として励起レーザー光の波長で強い吸収をもち、しかも核や細胞質などに特異的に結合するようなものを選ぶことによって、細胞内構成成分を定量的に測定、解析することができる。このような色素としてはDNA, RNAに結合するアクリジンオレンジ(AO)やプロピジウムアイオダイド(PI), アミノ酸との結合の強いフローレセイシンイソチオシアネート(FITC)などがよく利用される。このうちPIとFITCはいずれもArイオンレーザー光の波長488 nm付近に吸収ピークをもち、PIは赤色、

FITCは緑色の蛍光を発するため、生体細胞を二重に染色し、両者の蛍光強度を比較することによって、核と細胞質の量の相対的な比を知ることができる。このことを利用して、染色体数に異常のあるガン細胞の診断や検出が行なわれる<sup>6)</sup>。また、散乱光強度分布の測定によって、腎臓などの生体臓器移植後の急性拒否反応の原因となる、正常のものより大型な幼若化したリンパ球数の増加を検出して、その早期診断を行なうこともできる<sup>9)</sup>。このような自動生体細胞分析分離装置は近年飛躍的な進展を遂げ、細胞内の核酸、酵素、タンパク質の相対量の計測や、細胞の活性、抗体の産生性、細胞周期などの細胞機能の情報収集、細胞動態の解析など細胞学、免疫学、遺伝学、腫瘍学、ウイルス学、生化学などの諸分野におけるきわめてユニークな測定手段を提供している。最近ではさらに測定精度の向上と情報量の拡大、高速化を目指して、双ビーム方式や三波長方式のソーター、フリンジスキャニ型やスリットスキャニ型、ピコ秒励起型のフローサイトメーターなどが開発されており<sup>8)</sup>、とくに染色体への応用が注目されている。このような新しい計測・診断法はDNA組換え技術の普及化に伴って、バイオテクノロジーの支援のために不可欠な位置を占めつつあり、今後の広範な寄与が期待される。

### 3. レーザー光による血流測定

運動している物体に光を照射すると、物体から散乱された光はドップラー効果によって物体と光源との速度差に応じた周波数偏移を受ける。このことを血液の流速計

測に応用したものが、レーザードップラー血流流速計である<sup>10)</sup>。血液の速度が数 m/s あるとすると、照射レーザー光の周波数に対する偏移量の割合は  $10^{-8}$  程度となり、このような微小な偏移を直接検出することは非常にむずかしいため、通常は光ヘテロダイイン検出法が用いられる。

また、レーザー光のような干渉性の良い光を物体に照射すると散乱光による干渉効果としてスペックルが生じる。物体が動いている場合にはスペックルも変動するのが、この変動信号を解析することによっても血流の状態を測定することができ<sup>11)</sup>。末梢循環系の血行状態の計測などに応用されている。

この他、循環系中の色素の吸収や散乱などを利用した微小循環測定法が開発されている<sup>12,13)</sup>。この方法は色素の吸収ピークと吸収の非常に小さい二つの波長での反射、散乱、または吸収強度の差分を求ることにより、血液中の色素濃度変化を測定しようとするものである。図3に実験に用いたインドシアニングリーンの吸収スペクトル特性を示す。この色素は780 nm付近に強い吸収をもっているが900 nm以上では吸収は急速に低下する。そこで光源に発振波長784 nmのAlGaAs半導体レーザーダイオード(LD)と中心発光波長940 nmの

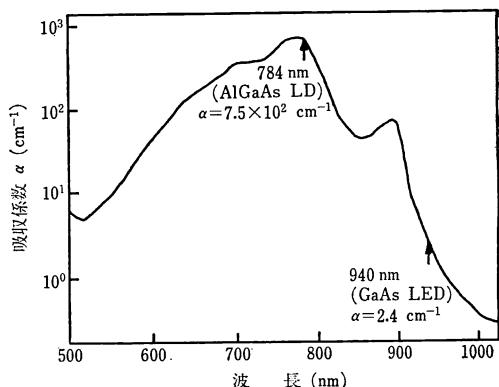


図3 インドシアニングリーンの吸収スペクトル特性

GaAs 発光ダイオード(LED)を用いて、図4のような構成の微小循環測定用色素計が試作されている。LD および LED を互いに位相を  $\pi$  ラジアンだけずらしてパルス動作させ、同期検波回路により二つの信号を分離している。この装置を用いた測定例を図5に示す。図中1の曲線は、リンパ浮腫の患者にインドシアニングリーンを静脈注射した後の下腿部での信号強度の時間的変化を示すもので、色素の到来後、その希釈に伴い信号強度が緩やかに減少している。一方、2で示した曲線は、治療

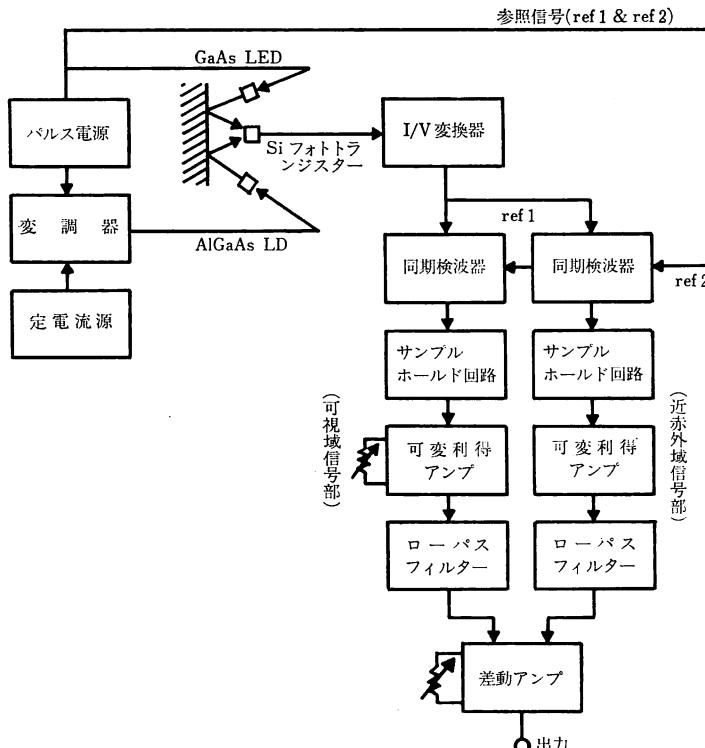


図4 微小循環測定装置のブロック図

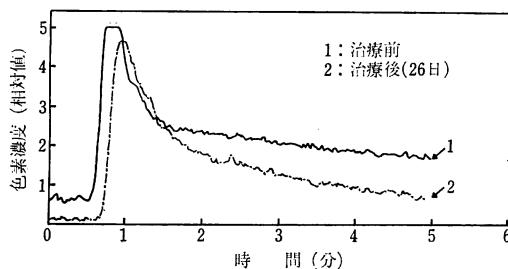


図 5 リンパ浮腫を示す下腿部（女性左足）の治療前および治療後の色素曲線の経時的变化の比較

によって 26 日後に症状が軽減したときのもので、1に比較して色素の希釈が速まっていることがわかる。このことは末梢循環障害が改善されて、血液の流れがスムーズになったことを意味している。

#### 4. レーザー光励起蛍光顕微鏡

秀でたコヒーレント光を発生するレーザー光を顕微鏡の画像用光源として用いることは 20 年近く前から試みられており、このような顕微鏡は一般にレーザー顕微鏡と呼ばれている。レーザー顕微鏡は 2 種類に大別され、一つはレーザー光の優れた集束性を生かして対物レンズによって小さなスポットにレーザー光を絞り込み、そのスポットを試料上で 2 次元的に走査することによって各点からの反射、散乱あるいは蛍光などの強度情報を得る方法であるが<sup>14,15)</sup>、その詳しい特徴や応用例などについては本号の中に別の報文<sup>16)</sup>があるので、そのほうを参照されたい。ここではもう一方の、レーザー光を試料全面に均一に照射して、その蛍光像を得るタイプであるレーザー光励起蛍光顕微鏡<sup>17-20)</sup>について応用例を中心述べる。

蛍光顕微鏡は蛍光抗体法などによる検査、診断には不可欠な装置であるが、従来のハロゲンランプや水銀ランプなどのインコヒーレント光源の代りに、スペクトル幅が狭くて高輝度なレーザー光を励起し用いているのがレーザー光励起蛍光顕微鏡の特色の一つである。そのため、高い効率で測定試料内の蛍光物質を励起することができるので、高いコントラストの蛍光像を比較的弱い励起光強度で、短時間に得ることが可能となり、生体試料などに対してきわめて有効なことが実証されている。図 6 はその一例として、われわれが試作開発した高感度高速多元画像処理方式レーザー光励起蛍光顕微鏡システムのブロック図を示すものである<sup>20)</sup>。本システムは単一の生体細胞を対象とし、励起光源には Ar レーザーを用いているが、波長可変な色素レーザーに置き換えること

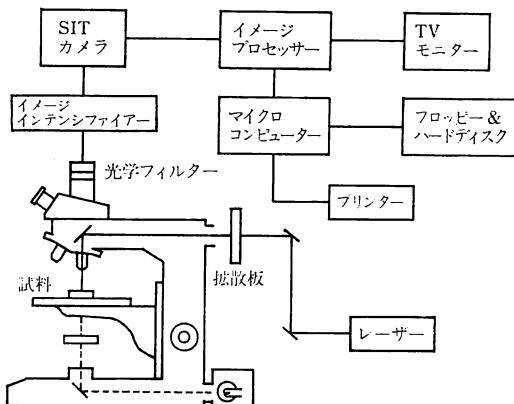


図 6 高速多元画像処理方式レーザー励起蛍光顕微鏡システムのブロック図

もできる。試料からの微弱な蛍光像はイメージインテンシファイアで増強された後、高感度 SIT カメラ（浜松ホトニクス C 2400-08）で検出してお、光検出系の倍率は  $10^7$  以上と見積もられる。とくに、イメージインテンシファイアの使用により、先に開発したシステム<sup>17-19)</sup>と比較して、検出感度が約 600 倍も向上し、通常は光子計数法を必要とする微弱な画像をも計測できるようになった。このシステムでは一画面の情報を 1/30 秒で取り込むことができるが、画像の SN 比を高めるために画像信号の積算処理を行なうようにしている。検出系から得られた画像信号は、画素数が縦、横ともに 512、輝度階調が 16 ビットのイメージプロセッサーへ転送され、マイクロコンピューターで GPIB インターフェースを介してハードディスクに蓄積される。この方式を採用することにより一画面分のデータ転送時間は約 20 秒に短縮され、蛍光強度の 2 次元的分布の経時変化を十分優れた時間分解能で測定することができるようになった。また、データ処理としてはスムージング処理、画像データ間での減算処理などの機能を備えるようにした。以下に述べるような本システムを用いた実験では、照射レーザー光電力密度が試料上で数十  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$  の場合、約 20 秒間の積算で十分コントラストの高い画像を得ることができた。さらにレーザー光強度を上げるなどして十分強い蛍光強度が得られる場合には、約 1 秒間で一画像を捉えることが可能である。次に測定例として、培養ガン細胞に取り込まれた制ガン剤からの蛍光強度分布について述べる。

一般に制ガン剤は前述した AO や FITC などの染色のための色素や、あるいはガンの光化学診断・治療法<sup>21,22)</sup>に用いられているヘマトポルフィリン誘導体などに比べて、2 衍程度以上も光の吸収強度が小さく<sup>20)</sup>、

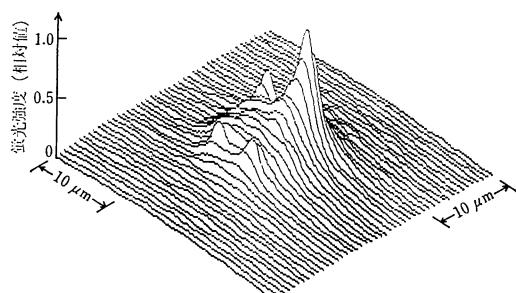


図 7 THP を取り込んだ HeLa 培養子宮ガン細胞からの蛍光強度分布の 3 次元グラフィック表示の一例 (THP 濃度 :  $5 \times 10^{-5} \text{ mol/l}$ )

また細胞内濃度を十分低くしないと細胞自体が不活性化されてしまうために、従来その細胞内分布の精密な測定がきわめてむずかしいものであった。図 7 はテトラヒドロピラニルアドリアマイシンハイドロクロライド (tetrahydropyryanyl adriamycin hydrochloride; THP) を取り込んだ単一の HeLa 子宮ガン培養細胞からの蛍光強度分布の 3 次元グラフィック表示の一例を示すものである<sup>20)</sup>。測定に際して培養ガン細胞は THP 濃度が  $5 \times 10^{-5} \text{ mol/l}$  の PBS 溶液中で 37°C にて約 1 時間培養している。レーザー光の照射強度は約  $60 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  で非常に弱いが、図のようにコントラストの優れた蛍光像が得られている。図より蛍光強度の強い部分が点状に存在していることが認められ、THP がこの培養ガン細胞中において局在化していることを示しているものと思われる。測定は他の制ガン剤と培養ガン細胞、すなわちア

ドリアマイシン (adriamycin) と TE-2 食道ガン細胞および MCF-7 乳ガン細胞についても行なったが<sup>20)</sup>、図 7 のような特異的な蛍光強度分布は他の組合せでは観測されなかった。

なお参考のために、図 8 にアドリアマイシンを取り込んだ HeLa 培養ガン細胞に連続的に Ar レーザー光を照射した場合の蛍光強度分布の経時的变化の 2 分 16 秒おきの 3 次元表示を示す。実際の測定では 34 秒ごとに変化を捉えており、図より時間が経過すると蛍光強度が弱くなるとともに、その範囲がやや広がっていくことがわかる。

## 5. レーザー光の生体細胞微小照射

### 5.1 生体細胞の微小手術

レーザーの第一世代的な医学的応用の代表例の一つにレーザーメスがある。これは主に Nd: YAG レーザー や CO<sub>2</sub> レーザーなどの近赤外、ないし赤外域の高出力レーザー光照射に伴う熱作用により、生体組織を気化蒸散させて切開していくもので、出血多量の可能性のある臓器や腫瘍部位の除去などの外科的治療手段として用いられている<sup>23)</sup>。これに対して、もう少し波長の短い比較的低出力のレーザー光を単一の生体細胞内の小器官などに照射することにより、その部位の機能を失わせたり、あるいは切開してしまうような新しい手法が近年開発されている。このレーザーによる微小手術<sup>24)</sup>ともよばれる技術によれば、レーザー照射後に生じる特定の細胞の形

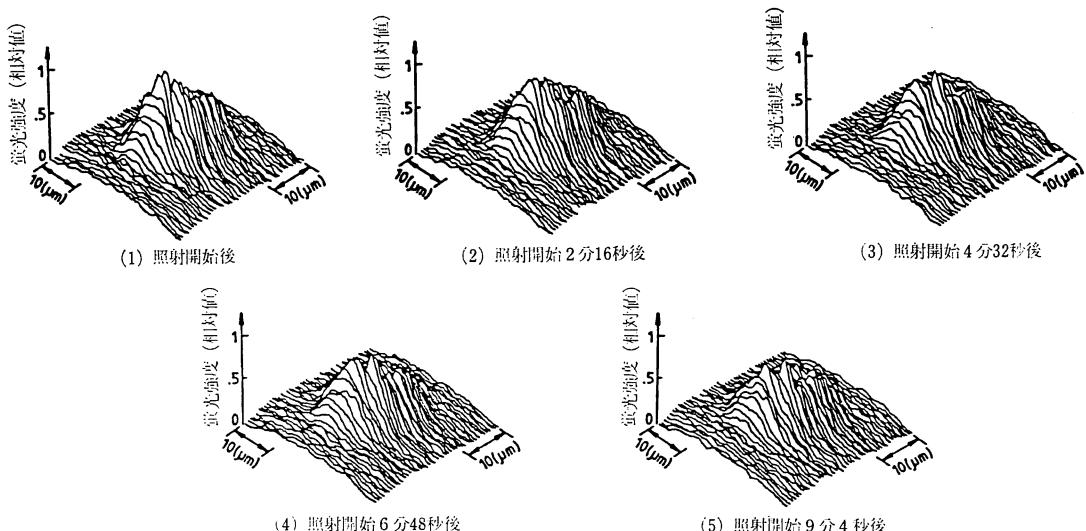


図 8 Ar レーザー光照射のもとでのアドリアマイシンを取り込んだ HeLa 培養子宮ガン細胞からの蛍光強度の経時的变化の 3 次元グラフィック表示 (アドリアマイシン濃度 :  $5 \times 10^{-5} \text{ mol/l}$ )

質の変化を観察して照射部位の機能を探ったり、自然界では通常生じにくい現象を人為的に起こさせることができるとなる。

原理的にはレーザー光照射によって細胞内小器官などに損傷を与えるわけであるから、使用されるレーザーは細胞による吸収の生じやすい波長域のものである。初期の頃には Ar レーザー光が主に用いられていたが、その後波長同調可能な色素レーザーや Nd: YAG レーザー光の種々の高調波も大いに利用されるようになってきた。ごく狭い領域にコヒーレントなレーザー光を集中して照射するため、1 光子吸収過程のほかに、多光子吸収効果やエネルギー移動を生じる光化学的な過程なども発生している可能性があると考えられるが、いまだそれらの詳細は明らかでない。損傷の生じる範囲はレーザー光のスポット径に大きく依存している。レーザー光はインコヒーレント光に比較すると格段に微小なスポットに集光できるが、その径はレーザー出力が TEM<sub>00</sub> モードと呼ばれる基本モードである場合に最も小さくなる。またこの径は用いるレンズの F 値と光の波長に依存し、原理的には最小ではほぼ波長程度の大きさまで集光できる。ところが TEM<sub>00</sub> モードの光はその進行方向に垂直な面内でガウス型の強度分布をしていて、レーザービームの中心で最も強く、周辺にいくに従い弱くなっている。そのため細胞内に実質的に損傷を与える範囲は、集光したレーザー光のスポット径よりも小さくすることができ、直徑 0.25 μm くらい、さらに場合によっては 0.1 μm 程度まで微小化することが可能となっている<sup>25)</sup>。

これまでに試みられた種々の実験の中で染色体へのレーザー光照射例では、染色体の一部に損傷を与えると、分裂後その部分が消失してしまうという報告<sup>26)</sup>がある。このような方法によって染色体の照射部分の機能を探ることができるわけである。また細胞分裂の中期に染色体の動原体部分に照射すると、その染色体は赤道部分に残ったままとなり、どちらかの娘細胞内に取り残されてしまうという現象が見いだされている。このことは別の言いかたをすれば、染色体の欠除した細胞の作成が可能であることになる。さらに、中心小体、微小管、ミトコンドリア、筋原纖維などへのレーザー光照射実験が行なわれ<sup>27)</sup>、さまざまな新しい知見が得られている。

## 5.2 生体細胞への遺伝子の移入

レーザー光を細胞膜に集光した場合、細胞膜に可逆的な穴が生じることが実験的に認められ、この手法を遺伝子移入に応用する試みが行なわれている<sup>28,29)</sup>。照射するレーザー光強度が強い場合には細胞自体が破壊され、ま

た強度が弱ければ一見何も生じないが、適当な強度を選んでやれば細胞膜に修復可能な穴を開けることができる。この穴は短時間で元通りになるが、その時間内に穴を通して細胞外から物質が流入する。実際に照射するコヒーレント光として Nd: YAG レーザー光の第 3 高調波（波長 355 nm）を用い、この光を約 0.5 μm 程度のスポットに集光して生じた細胞膜の穴が約 0.5 秒で修復されたと報告されている<sup>28)</sup>。この現象を利用して細胞の外部を満たす培養液中に遺伝子などの生体高分子を混入しておけば、レーザー光照射による物質の移入が可能となる。

この手法の応用例として、ラット由来の腎臓培養細胞への Eco-gpt 遺伝子移入の実験が行なわれている。遺伝子移入が実際に起こったかどうかの判定は、この細胞をマイコフェノリック酸 (MPA) とキサンチンを含む選択培地で培養すると、MPA によりキサンチル酸を生成することができないため、結果的に DNA 合成が阻害されて分裂増殖が生じないのでに対し、この遺伝子が存在すればキサンチンからキサンチル酸への反応が起きて分裂増殖が生じるという性質を利用して行なわれる。遺伝子を含む選択培地中でレーザー光照射を行なったところ、分裂増殖する細胞が見いだされ、これによって遺伝子が細胞内に移入されたことが確認された。このほか、低出力の He-Ne レーザー光を用いたレーザー・マニピュレーターによる悪性黒色肉腫細胞の穿孔やレーザー光切断、巨細胞形成などの実験が最近報告<sup>30)</sup>されており、このような新しいレーザー細胞操作・計測処理技術は今後いっそうの飛躍的発展を遂げるものと予想される。

## 6. おわりに

レーザー光は従来のインコヒーレント光ではまったく実現できなかったような優れたコヒーレント特性に基づいてきわめて高い時間的ならびに空間的分解能をもたらすとともに、そのエネルギーを容易に制御することができるという特徴を備えている。これまでにそのようなレーザー光を利用した生体計測法は種々の領域にわたって開発され実用化が試みられて、その有効性が実証されつつあるとはいえる、いまだレーザーのもつ優れた特性を十分に活用しきれているとはとうてい言えないと思われる。本文では紹介できなかったが、最近広く関心がもたれている生体の 3 次元計測<sup>31,32)</sup>や、フェムト秒光パルスを用いた人の表皮内からの反射光計測<sup>33)</sup>、生体系や生体関連物質由来の極微弱な光である生物フォトンを通しての新しい生体情報計測、分析<sup>34-37)</sup>など、レーザーを中心

とする最新の光エレクトロニクス技術を駆使した新しい生体計測法の研究開発もとみに活発になりつつある。またレーザー光微小照射や光トラッピング<sup>38)</sup>などのような目新しい技術も單一生体細胞を対象とした細胞レベルの微細操作手段として、今後遺伝子工学や細胞工学などの分野で広く実用されていくものと考えられる。赤外域から紫外域、さらにはX線やγ線の領域にまでおよぶ多種多様なレーザーを自由に操り、高精度、高信頼度を備え、しかも高速で安全かつ無侵襲的なさまざまな生体計測・診断法がますます意欲的に開発されることを期待して結びとする。

## 文 献

- 1) 稲場文男：日本レーザー医学会誌，7，No. 4 (1987) 1.
- 2) 戸川達男：医用電子と生体工学，24 (1986) 221.
- 3) 渥美和彦(編)：レーザー医学—基礎と臨床—(中山書店、東京, 1980).
- 4) 渥美和彦(監修)：レーザーの臨床 基礎・診断・治療・安全管理(メディカルプランニング, 札幌, 1981).
- 5) 稲場文男：治療学，17 (1986) 151.
- 6) 太田和雄、野村和弘(編)：フローサイトメトリー(蟹書房、東京, 1984).
- 7) 山岸昭雄、古川康夫、井沢庄次、稻場文男、田口喜雄、九里孝雄、谷村清明、丹 正義、葛西森夫：応用物理，49 (1980) 668.
- 8) 野口義夫、天神美夫：レーザー研究，15 (1987) 647.
- 9) 稲場文男：レーザーの臨床 基礎・診断・治療・安全管理、渥美和彦監修(メディカルプランニング, 札幌, 1981) pp. 93-106.
- 10) 新田 淳、瀬古淳也：病態生理，3 (1984) 634.
- 11) 藤居 仁、朝倉利光、野平久仁彦、新富芳尚、大浦武彦：日本レーザー医学会誌，5 (1985) 343.
- 12) 大原 到、田口喜雄、稻場文男：病態生理，5 (1986) 545.
- 13) 大原 到、田口喜雄、葛西森夫、芦 賢浩、鈴木隆之、稻場文男：日本レーザー医学会誌，7，No. 1 (1986) 3.
- 14) P. Davidovits and M. D. Egger: Nature, 223 (1969) 831.
- 15) C. T. R. Sheppard and A. Choudhury: Opt. Acta, 24 (1977) 1051.
- 16) 藤井陽一、尾崎政男：光学，17 (1988) 230.
- 17) 佐藤俊一、稻場文男：分光研究，32 (1983) 341.
- 18) 佐藤俊一、稻場文男：光学，14 (1985) 270.
- 19) S. Sato, H. Ito, H. Inaba, Y. Taguchi and M. Kasai: Opt. Quantum Electron., 18 (1986) 81.
- 20) 佐藤俊一、佐藤 学、稻場文男、木村道夫、植木浜一、田口喜雄：日本レーザー医学会誌，7，No. 4 (1987) 21.
- 21) Y. Hayata and T. J. Dougherty (Eds.): *Lasers and Hematoporphyrin Derivative in Cancer* (Igaku-shoin, Tokyo, 1983).
- 22) 佐藤俊一、稻場文男：日本臨床，45 (1987) 762.
- 23) レーザー医学の進歩特集号、日本臨床，45，4月号 (1987).
- 24) M. W. Berns: Exp. Cell Res., 65 (1970) 470.
- 25) M. W. Berns, J. Aist, J. Edwards, K. Strahs, J. Girton, P. McNeill, J. B. Rattner, M. Kitzes, M. Hammer-Wilson, L.-H. Liaw, A. Siemens, M. Koonce, S. Peterson, S. Brenner, J. Burt, R. Walter, P. J. Bryant, D. Van Dyk, J. Coulombe, T. Cahill and G. S. Berns: Science, 213 (1981) 505.
- 26) M. W. Berns, L. K. Chong, M. Hammer-Wilson, K. Miller and A. Siemens: Chromosoma, 73 (1979) 1.
- 27) K. R. Strahs, J. M. Burt and M. W. Berns: Exp. Cell Res., 113 (1978) 75.
- 28) M. Tsukakoshi, S. Kurata, Y. Namiya, Y. Ikawa and T. Kasuya: Appl. Phys. B, 35 (1984) 135.
- 29) 倉田俊一：日本レーザー医学会誌，7，No. 4 (1987) 19.
- 30) 茅野照雄、山本 雄：日本レーザー医学会誌，8，No. 2 (1987) 15.
- 31) D. A. Agard: Ann. Rev. Biophys. Bioeng., 13 (1984) 191.
- 32) R. W. Wijnendts van Resandt, H. J. B. Marsman, R. Kaplan, J. Davoust, E. H. K. Stelzer and R. Stricker: J. Microsc., 138 (1985) 29.
- 33) J. G. Fujimoto, S. De Silvestri, E. P. Ippen, C. A. Puliafito, R. Margolis and A. Oseroff: Opt. Lett., 11 (1986) 150.
- 34) 稲場文男：光学，12 (1983) 166.
- 35) 稲場文男：月刊BME(日本ME学会誌)，1 (1987) 628.
- 36) 稲場文男：O plus E, No. 95 (1987) 62, No. 96 (1987) 82, No. 97 (1987) 97.
- 37) 宇佐 史、稻場文男：パリティ，3，No. 3 (1988) 72.
- 38) A. Ashkin, J. M. Dziedzic and T. Yamane: Nature, 330 (1987) 769.