

201308020A

厚生労働科学研究費補助金
医療機器開発推進研究事業

脳内留置型微細内視鏡の開発と前臨床試験研究

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 祖父江 憲治

平成 26(2014)年 5 月

目次

I. 総括研究報告書	
脳内留置型微細内視鏡の開発と前臨床試験研究	
祖父江 憲治	1
II. 分担研究報告書	
1. 脳内留置型微細内視鏡の開発と前臨床試験研究	
小笠原 邦昭	17
2. 脳内留置型微細内視鏡の開発と前臨床試験研究	
ヒトに使用可能な蛍光プローブの開発研究： 血管イメージングと光毒性の基礎的検討	
佐藤 洋一	23
3. 脳内留置型微細内視鏡の開発と前臨床試験研究	
平 英一	27
4. 脳内留置型微細内視鏡の開発と前臨床試験研究	
弘瀬 雅教	29
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	33
IV. 研究成果の刊行物・別刷り	37

厚生労働科学研究費補助金(医療機器開発推進研究事業)

総括研究報告書

脳内留置型微細内視鏡の開発と前臨床試験研究 (H23-医療機器-指定-001)

岩手医科大学 医歯薬総合研究所 副学長 祖父江 憲治

研究組織

研究代表者	祖父江 憲治	岩手医科大学	医歯薬総合研究所	副学長
研究分担者	小笠原 邦昭	岩手医科大学	医学部 脳神経外科学	教授
	佐藤 洋一	岩手医科大学	医学部 解剖学	教授
	平 英一	岩手医科大学	医学部 薬理学	教授
	弘瀬 雅教	岩手医科大学	薬学部 分子細胞薬理学	教授

研究要旨

本研究は、重症頭部外傷やくも膜下出血重症例に術後脳内に留置し、術後の血流管理や血管動態のモニターを可能とする脳内留置型微細内視鏡の開発を目指し、医療用機器としての臨床応用を目的とした前臨床試験研究である。光学ファイバーを採用した微細な形態の撮像および照明装置において、脳内留置試験に向けてさらに細径化および改良・機能追加を行った。撮像に十分な光量を被写視野に均一に照射しながら、反射を低減した細径の先端構造および仕様を開発した。この微細内視鏡によって太い脳血管はもとより直径 100 μ m 前後の微小血管まで詳細に観察可能であることが確認された。さらに血流を可視化する安全性が高い蛍光色素としてインドシアニングリーン (ICG) を採用し、微細内視鏡に蛍光撮像機能を装備した。ラット、ウサギ、さらに脳サイズと脳構造的がよりヒトに近いミニブタを用いた動物実験により脳血管観察を行い、可視光条件での血管連続撮像および ICG 蛍光による血管および血流状態を選択的かつ高感度に観察が可能であることを確認した。さらに脳槽内で良好な視界を維持するために生理食塩水を注水できる機能を持たせるなど、高い光学的観察性能を有することを確認した。

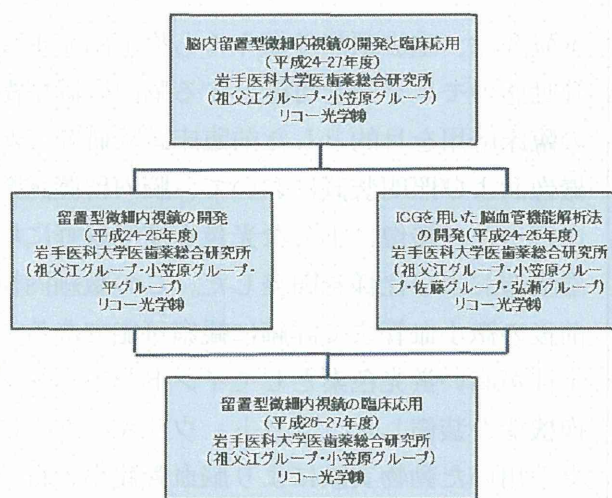
A. 目的

近年、内視鏡はその精度・応用範囲・手技において飛躍的進歩を遂げ、臨床各科で有力な診断と治療のツールとなっている。脳血管疾患領域において、内視鏡は水頭症の脳室開放術・脳室内腫瘍摘出術・開頭脳動脈瘤クリッピング術の支援・下垂体手術時の支援等に用いられるが、手術室内での術中使用に限定されている。脳血管疾患の診断に関しては、MRI・PET など診断法の進歩と内視鏡の手術室外使用の困難さから導入を試みられることはなかった。MRI・PET 等の神経放射線学的検査は、無侵襲であることに加えて頭蓋内環境の状態を詳細かつ的確に把握できる利点がある。しかしながら、それは検査時のある時点のことであり、脳血管疾患は時間あるいは日の単位で頭蓋内環境が変化する。臨床では連続的頭蓋内環境のモニタリングを必要とする症例に多数遭遇するが、これに対処するための手段は非常に限定されていた。一部でエコーによる脳血流状態の観察が試みられているが、手技に熟練が必要な事と長時間の連続モニターは困難である。くも膜下出血 (SAH) は、脳血管の破裂により発症する。重症くも膜下出血では発症後4日目から14日目頃にかけて遅発性に生じる脳血管攣縮と呼ばれる脳動脈の狭窄が頻発する。この脳血管攣縮は患者の生命予後を左右する重要な合併症であるが、早期の適切な処置で危機的状況を脱することが可能となる。重症頭部外傷においても、術後の脳圧コントロールと脳血管攣縮は予後を大きく左右する。この場合も脳血管攣縮と脳圧コントロールの指標として脳血流・脳血管の持続的観察が出来れば、直ちに

適切な処置が可能となる。このように日本国内において、脳外科領域で対象となる脳血管動態の観察を必要とする症例は、年間 20,000 例にも及ぶ。

本研究の目的は、岩手医科大学とリコー光学株式会社による脳内留置型微細内視鏡の共同開発と前臨床試験研究であり、臨床応用へ橋渡しをすることにある。脳内留置型微細内視鏡は急性脳血管障害や脳外傷の開頭手術を必要とした際の閉頭時に脳内に留置し、術後の脳血管攣縮をモニターするものである。内視鏡自体を脳内に挿入する為の侵襲を必要とせず、留置した患者への負担も少なく、不要となれば抜去が容易であるのが大きな特色である。これまでに類似の製品は現在報告がなく、従来の内視鏡イメージを革新する細さと用途を目指す。

図 1. 研究計画



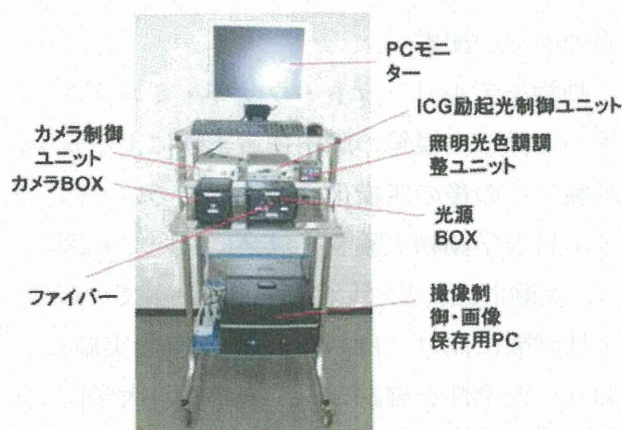
B. 研究方法

図 1 に示す研究体制によって前年度まで得られた研究成果を基盤に脳内留置型微細内視鏡の開発・改良および臨床応用に向けた安全性に関する研究を行った。

1. 留置型微細内視鏡の開発とそれを用いた性能試験

(祖父江グループ、小笠原グループ、平グループ、リコー光学㈱)

図 2. 前年度までに開発した脳内留置型微細内視鏡試作機

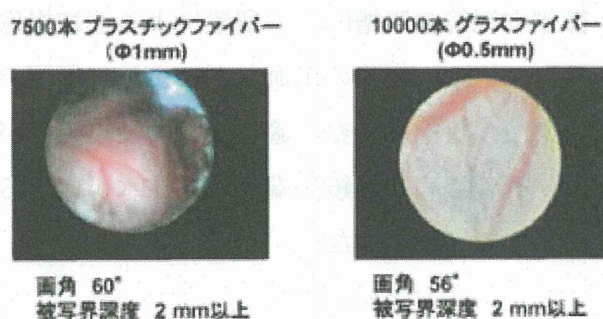


前年度までに、微細光学ファイバーを束ねて精細な可視光およびICG蛍光撮像を可能としながら細く柔軟な形状の微細内視鏡を開発した。微細ファイバーは細く柔軟な機器形状のため狭い頭蓋内への留置を可能とし、また照明光もファイバーによって引き込む。本年度は、前年度に完成していた脳内留置型微細内視鏡試作機(図2)を基盤として、さらに細径化しながら撮像性能の改良を行った。また、留置時に標的血管に向けて内視鏡先端部の角度を保持する機能、脳槽内で撮像状態を維持するために生理食塩水を注水できる仕様を開発した。

①撮像性能の改良

前年度までに解像度、画像の明るさおよびファイバーの柔軟性の観点から直径 $10\mu\text{m}$ のプラスチックファイバーを7500本束ねた光学ファイ

図 3. ファイバー材質による比較 (前年度)

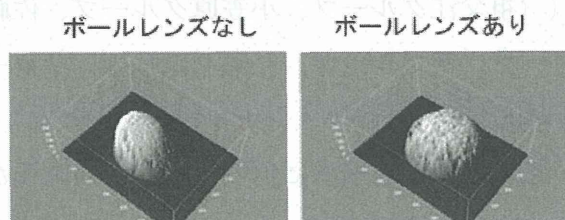


バーを採用した。プラスチックファイバーは柔軟性に優れ、光学的に明るい画像の取得が可能である。このプラスチックファイバーによる撮像装置のより細径化および先端構造の改良を行った。

②照明ファイバーの改良

本開発では、照明は光源からの光を照明ファイバーによって微細内視鏡先端部まで引き込む形状を取り、脳内留置部で光源による発熱を避ける仕様としている。通常の照明先端構造では中心部が明るいのにに対して周辺の光量低下が認められる(図4左)。このことから前年度で様々な先端構造を検討し、中心に偏らず周辺まで明瞭な照明として微小ボールレンズを入れた仕様を採用した(図4右)。今年度は先端構造のさらなる細径化に伴い、照明ファイバーおよび先端構造に大幅な改良を加えた。

図 4. 照明先端レンズによる視野照度



③連続撮像および安全性を考慮した機能追加

微細内視鏡の脳槽内への留置による連続撮像条件において、術後の出血などによって周囲の脳脊髄液の状態が観察に適さなくなる可能性がある。そのため内視鏡先端部より注水ができる仕様を検討、開発した。

2. ICGを用いた脳血管機能解析法の開発

(祖父江グループ、小笠原グループ、佐藤グループ、弘瀬グループ、リコー光学株)

可視光下での血管・脳組織観察に加えて、より選択的に血管および血流の動態を確認可能とするために、インドシアニングリーン (ICG) 蛍光色素を用いた観察について検討を行った。ICGは既に臨床で使用され、脳外科手術において血管の選択的な可視化を目的として用いられる人体への安全性が確認されている色素である。ICG使用による脳血管撮像および血流動態の観察について検討した。内視鏡細径化に伴う照明ファイバー構造改良に際して、先端構造の検討と光源の出力変更も行った。またICG蛍光による脳血管・血流観察に際して、継続的撮像における細胞・組織レベルでの安全性に関する試験を実施した。

3. 留置型微細内視鏡の脳内留置試験

(祖父江グループ、小笠原グループ、佐藤グループ、平グループ、弘瀬グループ、リコー光学株)

微細内視鏡を脳内に留置中に患者の動作などの突発的な事象によってファイバーに力がかかっても安全性を確保するため、ジョイント部を

作り容易に外れることで内視鏡先端部に無理な力が伝わるのを防止する仕様を検討、開発した。

また、微細内視鏡の脳内留置時における安全性を確認するため、機器の材質や形状、表面処理などについて検討を行った。また、可視光およびICG蛍光撮像による細胞・組織レベルでの安全性に関する試験を実施した。

倫理面への配慮

動物モデル (ラット・ウサギ・ミニブタ) を用いた微細内視鏡の脳内留置実験による安全性試験とその後の組織化学的解析については、岩手医科大学動物実験委員会において承認を受けた実験計画に基づいて行った。ヒトでの臨床安全性試験に向けてはPMDAとの相談を実施しており、安全性を確認の上で岩手医科大学医学倫理委員会に申請予定である。承認後に、同委員会ガイドラインと厚生労働省「臨床研究に関する倫理指針」に従って研究を遂行する予定である。

C. 研究結果

1. 留置型微細内視鏡の開発とそれを用いた性能試験

前年度までの性能に加えて以下の改良・機能追加を行い、脳内留置試験を実施するための微細内視鏡を完成させた (図5、6)。

①撮像性能の改良

撮像には、前年度に開発した素線を細径にした10 μm 径のプラスチック製の微細光学ファイバーを7,500本束ねたイメージファイバー (外径1mm) を採用した。このプラスチックファイバーは非常に柔軟であり、脳深部への留置に関して

図 5. 改良・機能追加を行った微細内視鏡

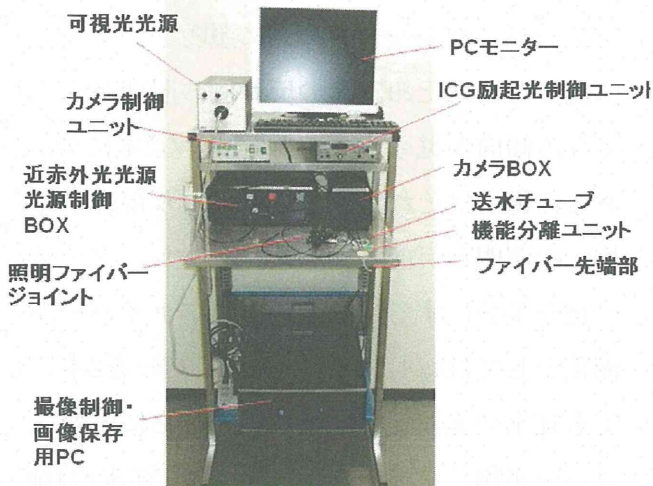


図 6. 現行微細内視鏡の性能概要

項目	データ
赤外光量	光量 9.51mW
可視光量	光量 15360 lx
先端洗浄水噴出量	吐出量範囲 毎時0~2ml
形状保持コントロール 特性測定	形状保持直後から2時間測定し 変化量0.4mm
本体と先端部の切り 離しジョイント	外れ力量 平均 0.22kg
新規設計先端レンズ の画像性能測定	画角 78.8° WD=4.1mm時 視野φ7.0mm 被写界深度 WD=4.1mm~50 mm

も有利であると考えられる。このプラスチックファイバーは視野の解像度、視野の明るさいずれも良好な結果を得た。前年度作製した微細内視鏡はこの外径1 mmのイメージファイバーと同じく外径1 mmの照明ファイバーから構成されていたが、注水などの機能を追加しながら脳内留置に関わる部分を細径化するために先端構造の改良を行った（図7）。

新規に開発した先端部は外形3 mmを下回る細

図 7. 微細内視鏡先端部

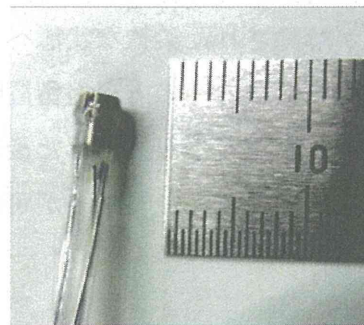
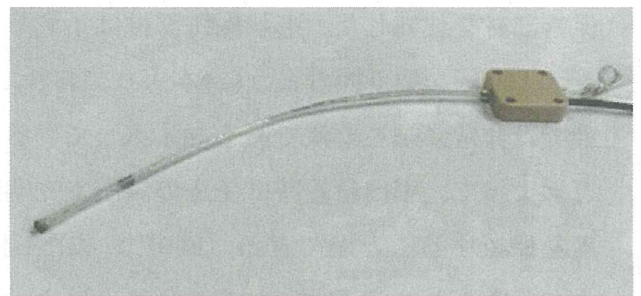
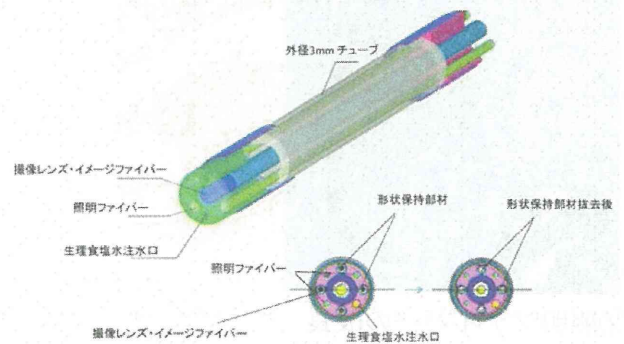


図 8. 微細内視鏡先端部図解



さを実現しながら、前年度に備えた均一な照明および被写体からの反射を低減する性能は維持し、さらに注水機能と先端の形態保持機能を装備した（図8）。先端部中心には撮像用のイメージファイバーが位置し、被写体からの反射を低減するために微小な偏光フィルターを組み込んだ。画角は78.8°と広く、被写界深度は4.1 mm以上で撮像可能である。

また、この微細内視鏡先端部には脳内留置時

に血管観察に適した視野を維持するため、形状保持部材を装備した。形状保持部材はイメージファイバーを取り囲むように4本入っており、単独では非常に細く柔軟である。4本入っていることによって、脳内留置時に任意の箇所では先端角度を保持することができる（図9）。また1本1本では柔らかく、1本ずつ抜去することによって先端部は形状保持が解除された柔軟な状態へと変化する。これによって脳内への内視鏡留置時には視野を確保しながら、観察が終了した後は周辺組織に負荷をかけることなく抜去が可能となる。

図9. 形状保持部材による先端部保持

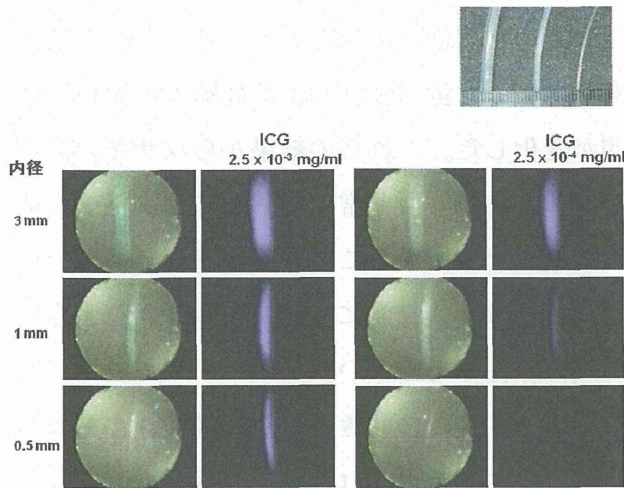


②照明ファイバーの改良

前年度作成した微細内視鏡試作機では、被写視界に対する照明の偏りについて微小なボールレンズを装備することで光量を減らすことなく均一に照射することを可能とした（図4右）。その前年度の試作機は1本の1mm径の照明ファイバーがイメージファイバーに並行する構造であったが、脳内留置に向けて先端構造をさらに微細化するにあたり、照明ファイバーを細くしながら光量を落とさず、さらに均一な照明に向けた改良を行った。図8に概要を示すが、照明ファイバーとして従来の半分の径（直径0.5mm）

の微細ファイバーを2本、イメージファイバーを挟む位置に配置する構造を採用した。従来ではイメージファイバーの片側に照明ファイバーが位置していたため、その反対側の照度がやや弱くなる傾向が見られていた。今回の2本に分散させる仕様ではそれが改善され、より視野全体に均一な照明が可能となった。しかし、ファイバー径を半分にするにより、ファイバー端の面積としては1/4となり、ファイバーを2本としても従来の光量とはならない。さらに照明ファイバーが細くなったことによって、従来の1mm照明ファイバー用のボールレンズは使用できなくなったため、径を半分の微小ボールレンズを搭載した。ファイバー当たりの光量が減り、さらに均一な照明のために光量を視野に分散させることで従来の光源の強度では不足が生じた。精細な画像取得のために撮像に十分な照度を実現するため白色LEDによる可視光光源を高出力モデルに変更を行った。また、この光量の減少は特にICG蛍光撮像のための励起光で顕著であり、従来の近赤外光レーザーダイオード出力では蛍光検出感度の低下が認められたため、高出力タイプのレーザーダイオード光源を搭載した。この新規近赤外光光源は9.51 mWであり（図6）、この新規の近赤外光光源を用いてICG蛍光検出について確認した（図10）。被写体として内径0.5~3mmに見立てたシリコンチューブ内にICGをウシ血清と混合した溶液を封入したものを用いた。結果として、内径0.5mmという細い血管に見立てたチューブを用いた場合でも、 2.5×10^{-4} mg/mlという非常に低濃度のICG蛍光の検出が可能であることが確かめられた。これらの光源

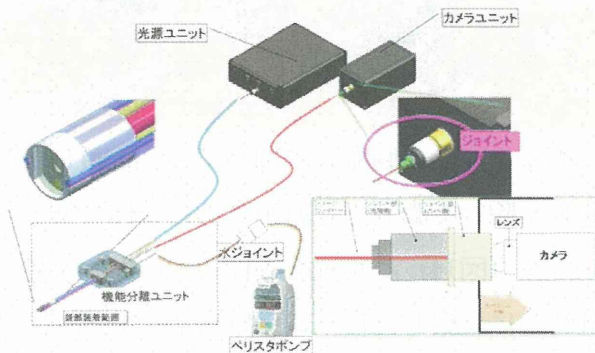
図 10. 細径チューブ内の ICG 蛍光



出力の変更によって照明ファイバーを細径化しても適切な光量を供給することが可能となった。

③連続撮像および安全性を考慮した機能追加
微細内視鏡の脳内留置による連続撮像では術後の出血などによって脳脊髄液に濁りが生じるなど、観察に適さなくなる可能性がある。そのため内視鏡先端部から必要に応じて生理食塩水または人工脳脊髄液が注水できる仕様を検討、開発した。図8に示すように先端部に開口部があり、生理食塩水などをペリスタポンプによって性能的には最大毎時2 mlの液体を吐出できる(図11)。必要に応じて濁りのない良好な視界を確保する。注水によって増加した脳脊髄液は、微細内視鏡

図 11. 注水機能および先端着脱機能

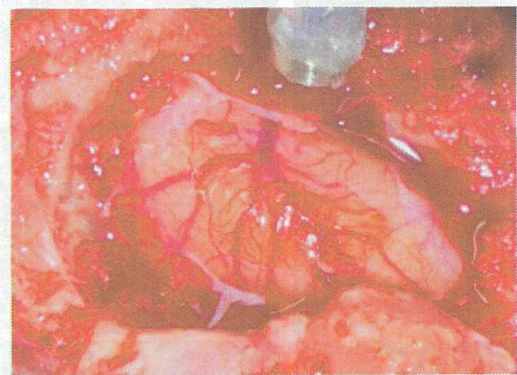


とともに脳圧亢進に対処するために留置する脳槽ドレンチューブによって排出される。

2. ICGを用いた脳血管機能解析法の開発

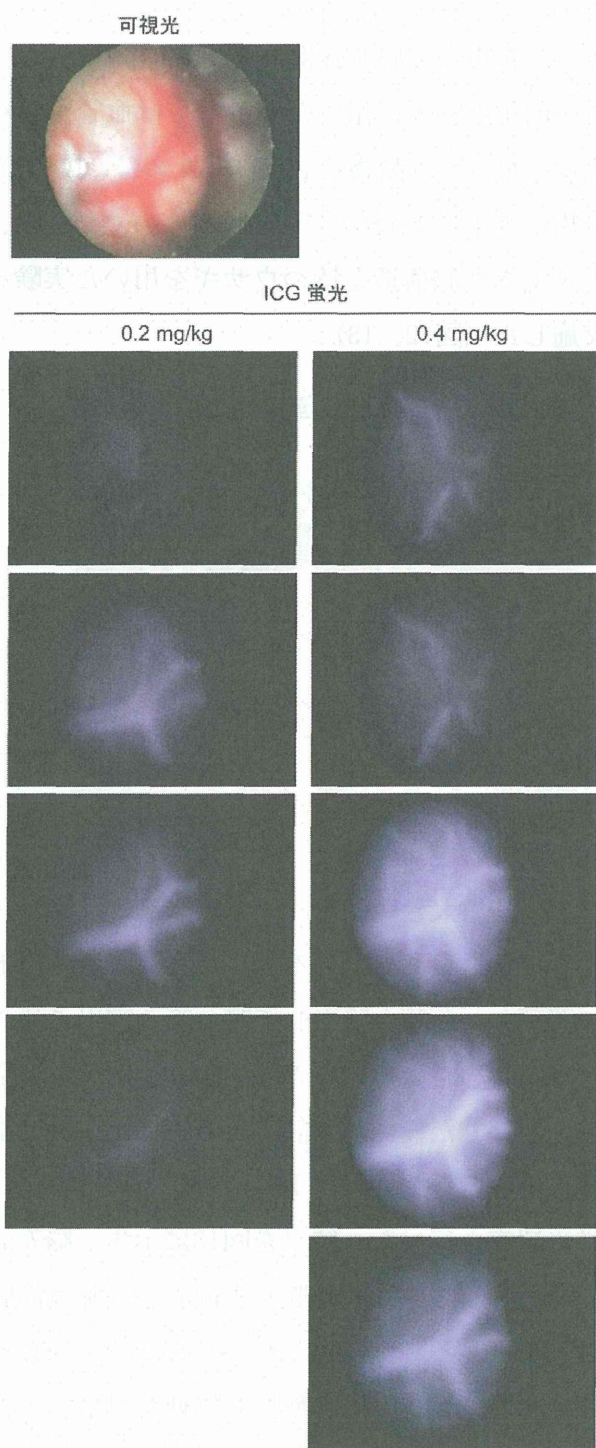
前年度の主に用いたラットでは血管が細く、脈拍も早い上に動物対も小さいために、ICG蛍光を用いた継続的観察は困難だったが、今年度、より大きな脳構造を持つウサギを用いた実験を実施した(図12、13)。

図 12. ウサギ脳表面の血管



ウサギの脳血管はラットよりも一回り大きく、頭部構造も大きいため、外科的な手技が実施しやすいという利点がある。ウサギを麻酔存在下で開頭し、硬膜を除去して脳血管を露出させた(図12)。このウサギの脳血管を可視光で一定時間観察した後、耳介静脈よりICG/生理食塩水溶液を急速静脈注射によって導入し、継続的な蛍光観察を行った。結果を図13に示す。脳表面では側面から中大脳動脈が走向し、静脈は静脈洞を形成する。可視光でも100 μm程度の細い血管まで確認でき、また動脈の脈動も観察できる。これに加えてICG蛍光観察では、血流のある血管が選択的に観察できることからより詳細な観察が可能であることが確認された(図13)。脳外科領域の臨床で脳血管観察のために用いられる

図 13. ウサギ脳血管の可視光および ICG 蛍光観察

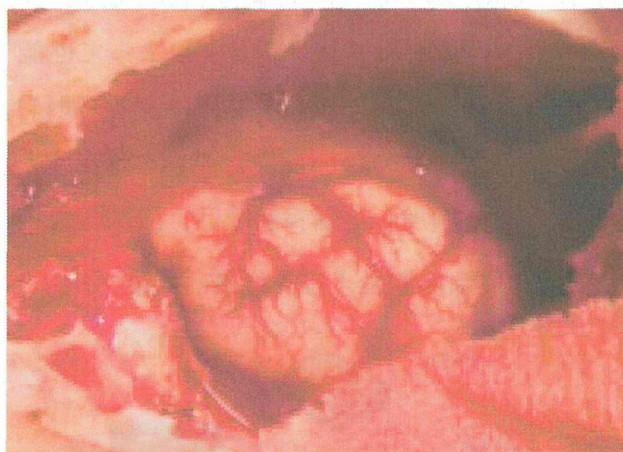


ICG濃度は0.1~0.3 mg/kgであり、ウサギ脳血管のサイズであっても鋭敏に継時的なICG蛍光が可能であることが確認できた。ICG蛍光は投与後

速やかに脳動脈に移行し、その後静脈洞に流れ込み、長い時間蛍光が持続する様子が観察された(図13)。急速静注によって導入するICG量を変化させると蛍光強度および静脈の蛍光持続時間が変化した。これらの結果からウサギの微細な血管であっても非常に高感度に血流状態を観察することが出来ることが確認された。しかし、ウサギでは頭蓋骨内に内視鏡を留置するような空間は存在していない。

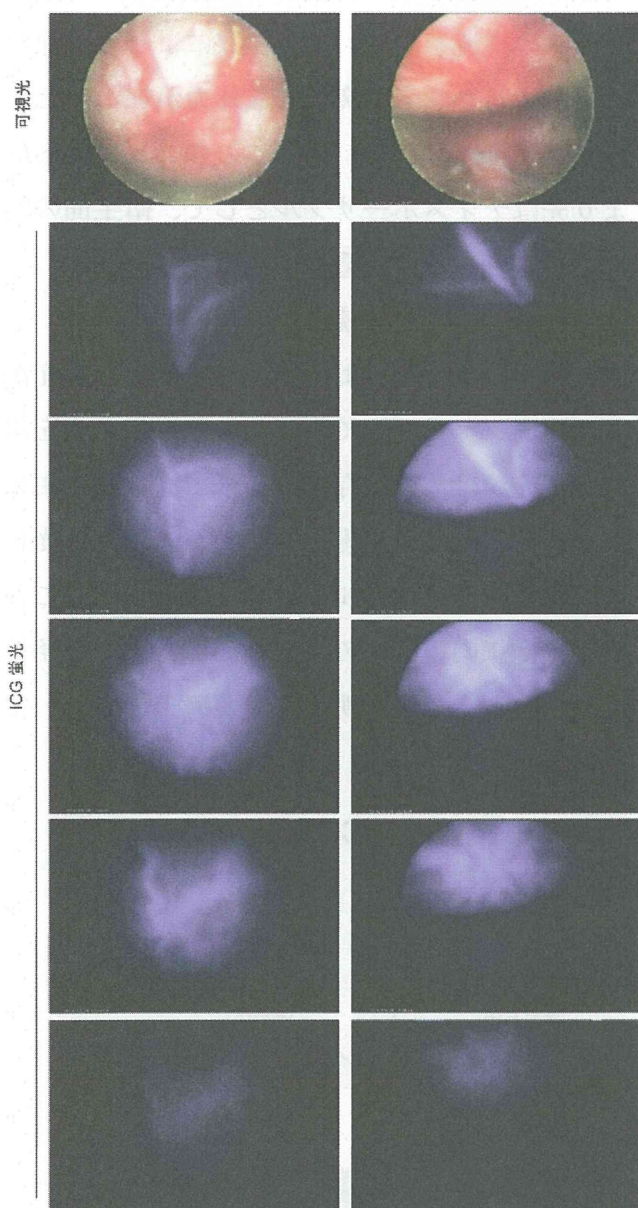
そこで、頭部の大きさや脳の構造がよりヒトに近いミニブタ (Gottingen minipig) を用いた動物実験を実施した。ミニブタは体重にしてウサギのおよそ10倍、30 kgの個体を用いた。ミニブタは個体が大きく、また頭蓋骨も厚く硬い。そのため岩手大学農学部共同獣医学科宇塚雄次教授の協力を受け、岩手大学附属動物病院の設備によって実施した。ミニブタの脳はウサギに比較して大型で、比較的深い脳溝を持つ(図14)。

図 14. ミニブタ脳表面の血管



このミニブタの脳血管に関しても、開頭した後、硬膜を除いて脳表面を露出させた条件で観察を試みた(図14)。可視光条件下で中大脳動脈を継時的に観察した後、耳介静脈よりICG生理食塩

図 15. ミニブタ脳血管の可視光および ICG 蛍光観察



水を急速静脈注射によって導入し、蛍光条件下で継時的な観察を行った（図15）。

ミニブタにおいて、脳表面に出ている中大脳動脈由来の動脈は、細いものの可視光でも継時的な観察が可能であった。さらにICGの導入（0.2 mg/kg）によった観察では細い血管までもが明確に撮像できることが改めて確認された。図15に

示すようにICG導入後にまず動脈が蛍光によって明瞭に描写された後に静脈系に蛍光が認められるようになる。そして次第に静脈系に残った蛍光が減弱していく様子が観察される（図15）。図15左は脳表面に対して垂直方向に内視鏡観察を行ったもの画像であり、図15右は留置時のように脳溝に沿って内視鏡を沿わせて観察を行った画像である。血管に対する角度が小さくなるため被写視界は狭くなるが、設計の被写界深度に対応したおよそ4 mm先にある脳表面の血管が鮮明に観察され、可視光照明ムラ、反射が非常に低く抑えられていることが確認された。

3. 留置型微細内視鏡の脳内留置試験

①微細内視鏡構成素材、コーティングの安全性検証

微細内視鏡の脳内留置に関する安全性を確認するため、機器の材質や形状、表面処理などについて検討を行った。内視鏡の表面を構成する素材はこれまでに医療機器に用いられている素材を選定し、成分の溶出などの問題が生じる可能性が低いものとなっている。また、機材は全てEOG滅菌が可能な素材として無菌的に手術室に搬入できるものを選定した。本微細内視鏡は一定期間脳内への留置を想定しているため、留置中に器具に血球系を中心とした細胞が付着する可能性が考えられる。そのため、内視鏡ファイバー先端のカバー部分を始めチューブ表面に細胞付着を妨げる処理を検討した。既に実用化されている細胞膜のリン脂質を模した構造を持つコート剤（リピジュア）を検討した。リピジュアは生体親和性が高く細胞毒性を持たないた

め高い安全性を持ち、血小板活性化の抑制・細胞付着低減が可能だと考えられる。リピジューコートを施した内視鏡表面素材に対して、ラット血球系細胞および皮膚繊維芽細胞の付着試験を行った結果、いずれもリピジューコートによって細胞付着が抑制されることが確認された。しかし、脳内という特殊な条件での利用となるため、動物モデルを用いた安全性試験によりさらに詳細な評価を行う必要がある。

②ジョイント式の接続部の採用

内視鏡留置中に患者が動くなどの事象により留置部に無理な力がかかることは避けなければいけない。そのため、留置部から出るファイバーおよびチューブは一定の外力が加わった際には外れることによって留置部に力がかかるのを防ぐ仕様を開発した。まずイメージファイバー、照明ファイバーともに中間部に光学ジョイントを導入する仕様を検討した。結果として、照明ファイバーについては特に問題はなかったが、イメージファイバーの途中で光学ジョイントを形成すると、撮像画質の劣化と取得光量の減衰（特にICG蛍光）が生じた。光学ジョイントを構成するレンズやファイバー端面の最適化などを行った上でも光学ジョイントを導入する前と比較すると根本的な改善は困難であった。そのため、イメージファイバーについてはファイバー途中で光学ジョイントを導入せずに長さを維持し、外力に応じてファイバーのカメラ挿入部のジョイントで脱落可能な仕様とした。照明ファイバーでは画像や照明強度に大きな影響が生じなかったが、同じく光源接続部に導入したジョイントで脱落可能とした。注水機能に関わる送

水チューブにもジョイント部分を導入して脱落可能とした。流路にはフロートバルブおよびチェックバルブを配し、脱落時に空気の混入や脳槽内液の逆流を防ぐ。この仕様によって画像の劣化は生じさせずに突発的な外力が加わった際の安全性を確保した。また、このジョイント部より先はディスポーザブルとして、衛生面の問題も生じさせない構造とする。

③近赤外光による連続撮像条件の検討

ICG蛍光観察時にはレーザーダイオード光源より照明ファイバーで引きこんだ近赤外光を用いる。光源は体外に存在するので光源装置由来の発熱や電磁波等の影響はないが、近赤外光自体が被写体に熱エネルギーを与える。このことから、微細内視鏡での撮影条件に見立てた条件に置いて近赤外光照明の連続照射条件について検討を行った（図16）。

図 16. 近赤外光（ICG 励起光）による被写体温度上昇試験

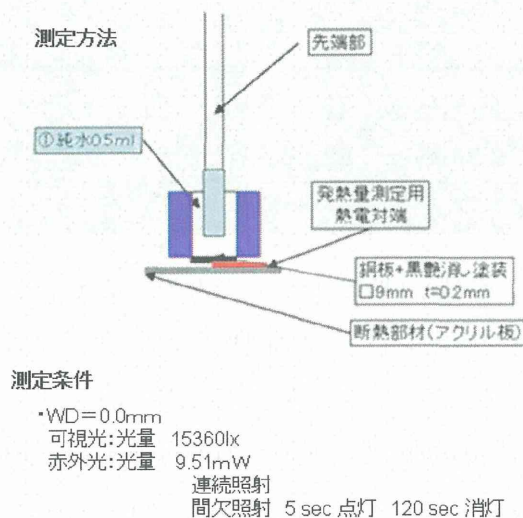


図 17. 近赤外光 (ICG 励起光) の照射状況による被写体温度上昇

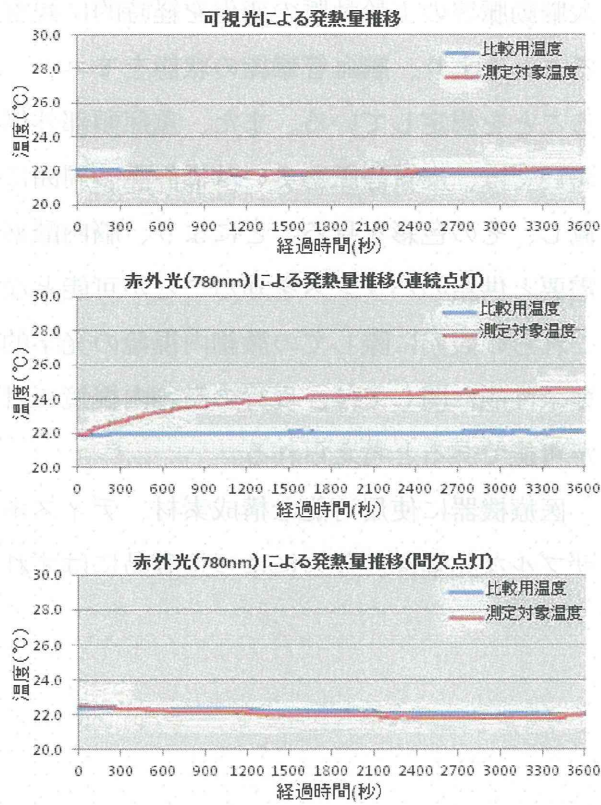


図16に示した条件に置いて、可視光では全く温度上昇はなかった(図16上)。それに対して、近赤外光では連続照射を行うと、次第に温度が上昇し、およそ5分で0.7°C、10分で1.3°Cの温度上昇が認められた(図16中)。これほどの連続照射は実際の観察条件としては想定されないが、脳内でこのような温度上昇はあってはならない。そのため、5秒間の近赤外光照射と2分間のインターバルを繰り返す間欠的な連続照射条件を確認したところ、照射による温度上昇は全く認められなかった(比較用対照 $\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ 以内)(図16下)連続的なICG蛍光観察が必要な場合においても、間欠的な励起による経時的撮像によって細胞に熱による障害を与えることなく観察が可能

であることが確かめられた。

D. 考察

前年度開発した微細内視鏡の可視光およびICG蛍光の撮像性能をさらに高めながら、より細径化を実現した内視鏡先端部を開発した。より微細な内視鏡先端部、撮像性能の向上、安全性に関する対策などを施した微細内視鏡の撮像システムを構築した(図18)。従来は基本的にイメージファイバーと照明ファイバーの2本のファイバーを単純に束ねた構造になっていたが、新規に開発した先端部は、従来の1本の照明ファイバーではなく、細い0.5 mm径ファイバー2本にしてイメージファイバーの対角に配置し、その周りに注水機能、形態保持機能を担うチューブや保持部材を配置する仕様となるなど大きな革新を遂げた。より細い照明ファイバーを使用することによって、ボールレンズおよび反射低減フィルターも微小のものを使用する必要性が生じ、また光源の出力も強いものを必要とするなど技術的な課題は生じたがそれらをクリアし、結果的に照明ファイバーを分散させることによってより均一で反射が低減された撮像が可能となった。

前年度まで主に用いていたラットでは頭蓋内の空間に乏しく脳血管も微細なため、撮像分解能やICG検出感度の検証には有用であったが、経時的な脳血流動態の撮像試験に関しては困難であった。今年度、ウサギおよびミニブタといったより大型の実験動物を用いることによって脳動脈の可視光およびICG蛍光を用いた選択的な血流動態の経時的な観察が可能となった。現行

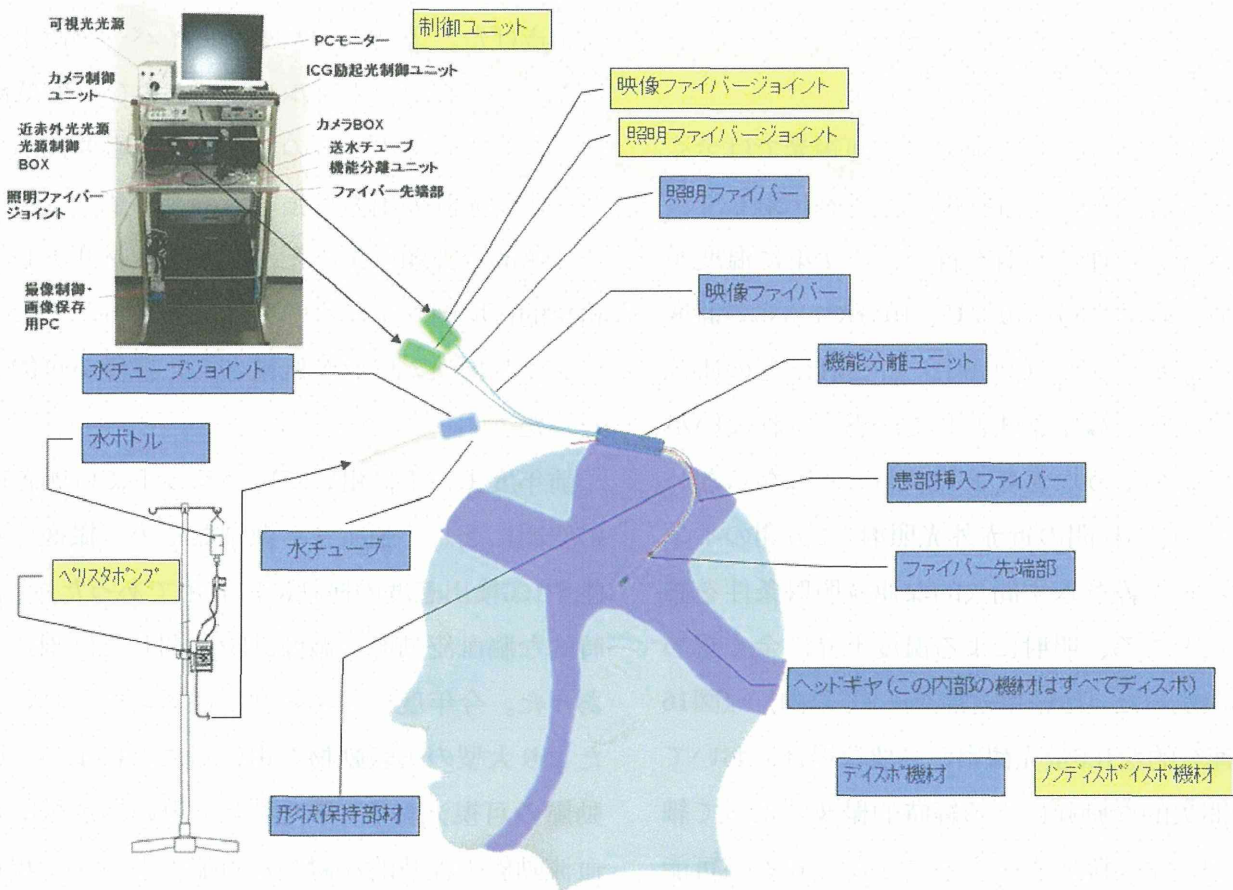
の微細内視鏡では現在脳外科の臨床で血流確認の為に用いられている0.1-0.3 mg/kg (急速静注) という ICG 濃度で十分に蛍光を観察でき、さらに低濃度での観察が可能であった。ICG 投与の後に動脈に蛍光が観察されるのは非常に短い間であり、動脈の血流状態について ICG を用いて観察するためには複数回の ICG 投与が必要になる。高感度に検出できることで使用する ICG の量が少なくて良いのであれば、ICG 投与による検出の回数を増やすことが可能であることは継続的な観察に置いて有利な点だと考えられる。

臨床での使用に関して、重症くも膜下出血においては、内視鏡を脳底槽あるいはシルビウス

裂、大脳半球間裂などのくも膜下腔に留置し、脳内主幹動脈である内頸動脈、中大脳動脈、前大脳動脈等の主幹動脈の変化を経時的に観察することにより、脳血管攣縮の状態をモニターすることを想定している。また、重症頭部外傷においては、皮質静脈あるいは橋静脈の周囲に留置し、その色彩を見ることにより、脳内酸素の需要と供給のバランスを知ることが可能となる。これらの観察に際しての微細内視鏡の光学的な要求性能に関しては、現行の微細内視鏡で対応が可能であると考えられる。

医療機器に使用可能な構成素材、ディスプレイザブルな先端部、外力によって容易にはずれる

図 18. 脳内留置型微細内視鏡全体図



ことで安全性を確保するジョイント部など安全・衛生面の開発も進めた。さらに可視光、近赤外光の連続照射による温度上昇、細胞障害性および細胞機能変化、メカニカルストレスに対する細胞応答など、微細内視鏡の脳内留置および経時的観察時に影響が考えられる血管平滑筋や血管内皮細胞などを用いた組織、細胞レベルでの解析を行った。

一方で、脳内留置による継続的頭蓋内観察という前例のないアプローチに関して、実験に用いる動物の頭部および脳構造の大きさに関する問題から動物実験によって安全性、有効性に関する試験の実施について困難があったことは事実である。脳内留置に関する試験に際して、前臨床試験としては実際に臨床試験に進める器具を用いて安全性を確認する必要がある。しかし、ヒトと類似した頭蓋内容量および脳構造を持つ実験動物の使用というのは非常に困難である。実験動物の頭蓋内および脳のサイズに応じた小型の器具を用いて安全性を確認することは可能ではあるが、臨床試験に進めるには検証が十分ではないと判断される。そのため、当初比較的小型ではあるが、飼育を含めて扱いやすく体格に比べて脳が大きいイヌを用いる予定だったが、より大型の脳構造を持つものとしてミニブタを使用するに至った。ミニブタは体格が大きく、外科領域の手技習得を始め脳外科領域でも実験材料として用いられている。ミニブタを用いた試験を実施した結果、脳血管などウサギなどより太く、また一部脳溝などの構造も認められた。脳槽として現行の微細内視鏡を留置できる空隙はないが、脳溝にそって微細内視鏡を固定した

後、人工硬膜にて閉鎖して留置することは可能と考えられる。この条件にて持続的な留置、可視光およびICG蛍光による経時的観察で得られる結果を急ぎ検証し、臨床試験へとつなげる試金石とする。

また、今回開発した内視鏡は微細なファイバー先端から励起光を照射しICG蛍光を観察することができるため、当初の目的の留置観察のみならず、脳外科手術中に従来の表層から励起光を照射する機器では観察が困難な脳深部の血流状態の確認を行うことが可能であると考えられる。非常に微細な形状を持ち、広い画角および高感度のICG蛍光検出性能を持つ光学機器としては、脳外科領域に限定されない医療応用の可能性を持つものであると考えられる。

E. 結論

脳内留置型微細内視鏡はこれまで困難であった脳外科手術閉頭後の頭蓋内環境を正確にモニターし、より迅速かつ的確な処置を可能とする画期的なアプローチとなり得る。本年度は前年度までに完成させた試作機を基盤として、脳内に留置される内視鏡先端部の一層の細径化を進めながら、可視光およびICG蛍光撮像機能の改良を進めた。脳内留置に際する撮像性能維持および安全性を高める新たな機能の追加と、動物モデルおよび組織・細胞レベルで障害性試験によって性能と安全性について確認を進めた。今後、前臨床試験としてミニブタ等の大型動物を用いた留置試験による多面的な安全性確認を行い、臨床試験に臨む予定である。安全で優れた医療機器としての完成を目指し、安全性の確認と機能の洗練を更に進める予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 結果発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

国際学会

Manabu Kubokawa, Kazuyoshi Nakamura,
Taira Mayanagi and Kenji Sobue
Expression of exogenously transfected ROMK
K⁺ channel activity favors the polarized apical
membrane of cultured M-1 collecting duct cells
37th International Congress of Physiological
Sciences, Birmingham, UK 2013年7月25日

Kenji Sobue and Taira Mayanagi
PSD-Zip70 regulates synaptic remodeling via
the regulation of Rap2 activity
International symposium New Frontier of
Molecular Neuropathology 2014, Tokyo, Japan
2014年3月17日

国内学会

久保川 学、中村 一芳、真柳 平、祖父江 憲治
培養M-1集合管細胞へのROMK遺伝子導入による
チャネル活性発現の細胞膜極性に対する特異性
第56回日本腎臓学会総会東京国際フォーラム 東
京 2013年5月10日

岸 隆行、赤坂 俊英、真柳 平、祖父江 憲治
MRTFによる細胞接着活性制御を介した悪性黒色
腫細胞に対する遊走・浸潤抑制効果の検討
日本皮膚科学会岩手地方会学術大会第364回例会
岩手医科大学 岩手 2013年11月16日

Manabu Kubokawa, Kazuyoshi Nakamura,
Taira Mayanagi, and Kenji Sobue
Characteristics of exogenous expression of
ROMK K channels with EGFP fused to the
different terminus in polarized and
non-polarized membranes in cultured M-1 cells
第91回日本生理学会大会 鹿児島大学 鹿児島
2014年3月17日

祖父江 憲治

ストレスホルモン曝露に伴うシナプス形成・可
塑性障害の分子メカニズム
新学術領域研究『シナプス病態』夏の班会議 名
古屋国際会議場 2013年9月1日 名古屋

祖父江 憲治

ストレスホルモン曝露に伴うシナプス形成・可
塑性障害の分子メカニズム
新学術領域研究『シナプス病態』冬の班会議 鎌
倉 2013年12月21日

祖父江 憲治

やわらか頭、してますか？
岩手県立水沢高等学校 スーパー・サイエン
ス・ハイスクール 矢巾 2013年09月25日

祖父江 憲治

こころと身体を健康をめざして
大船渡市健康講演会 大船渡 2013年10月
4日

祖父江 憲治

やわらか頭してますか？—脳の秘密を探る—
岩手看護短期大学 滝沢 2013年10月5日

祖父江 憲治

いわてに懸ける夢

いわて進学支援ネットワーク事業「医学部進学
セミナー」 盛岡 2014年3月15日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願

出願番号：特願 2013-228091

名称：光ファイバ型内視鏡装置

出願日：2013年11月1日

出願人：リコー光学株式会社、学校法人岩手医
科大学

発明者：西在家 英樹、祖父江 憲治、小菅 信
一

出願番号：特願 2013-087731

名称：PSD-Zip70 遺伝子ノックアウト非ヒト動
物

出願日：2013年4月18日

出願人：学校法人岩手医科大学

発明者：祖父江 憲治、真柳 平

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

分担研究報告書

脳内留置型微細内視鏡の開発と前臨床試験研究 (H23-医療機器-指定-001)

研究分担者 小笠原 邦昭 岩手医科大学 脳神経外科学 教授

研究要旨

脳外科手術において術後の頭蓋内の血流状態を把握することは予後管理において非常に重要である。本研究は、脳外科手術後の血流管理や脳組織腫脹のモニターを目的として、頭蓋内に留置可能な微細内視鏡の開発を目指す。脳外科手術閉頭後にこれまでも経頭蓋的ドップラーなどを用いて脳血流状態のモニターは行なわれてきたが、これまで経時的に頭蓋内の視覚的観察を行うことは不可能であった。術後に脳槽ドレナージとともに術野に留置するという形態には侵襲性がなく、これまでの頭蓋内状態のモニター法では困難であった血流変化の速やかな検出や、危険な状態への予兆を見出せる可能性を持っている。今年度は前年度まで作製した試作機を基盤に機能の改良を実施し、大型動物を用いた血管撮像および ICG 蛍光による血流動態観察を行った。

A. 目的

脳組織は酸素および栄養要求性が非常に高く、脳血管に生じた血流の障害は限定的なものであっても脳組織に大きな影響を与える。脳血流障害によって生じる脳機能障害は麻痺や意識障害を引き起こし、後遺症はその後の生活の質を落とし、介護が必要となるなど福祉を論じる上でも予防と、機能障害を残さない適切・迅速な対応が必要となる。

脳外科で診療するくも膜下出血 (SAH) は、多くの例では脳動脈瘤の破裂によって発症し、強い頭痛や意識障害、嘔吐の症状を引き起こす。現在ではごく初期の段階で発見し、適切な処置を行えば高い生存率と機能障害を起こす可能性も低く抑えられるようになった。しかしくも膜

下出血の 30~40%において、発症後 4 日目から 14 日目頃にかけて遅発性に生じる脳血管攣縮と呼ばれる脳動脈の可逆的狭窄が起こる。脳血管攣縮は生命を脅かし、重篤な障害を残す結果となる場合も少なくない。早期の適切な処置で急性期を脱した患者の機能および生命の予後を左右する重要な合併症だといえる。脳動脈瘤はウィリス動脈輪近傍に生じることが多く、脳の動脈支配にはウィリス動脈輪より先に側副血行路がないため、この領域に血流障害が生じると重篤な状態に陥り易い。脳血管攣縮の詳細な発生機序は未解明な部分も多い。これまでは経頭蓋的ドップラーによって脳血管攣縮中大脳動脈水平部の血流速度を指標としていたが、確定診断には血管造影が必要であり、そこには時間的な

遅延が生じやすい。水分・電解質調節と血圧を高めに維持することで血流を確保するといった予防措置や、Rho キナーゼ阻害薬、トロンボキササンA2 合成阻害薬によって血管収縮阻害など一定の有効性を示す方法も報告されてきた。しかし、より詳細に頭蓋内血管近傍に生じる変化、攣縮の予兆を捉える事が可能となればよりの確なタイミングで必要な処置を施すことが可能となる。また脳内留置に関しては、これまでも頭蓋内にドレーンを留置して血腫の溶解、排出を促す脳槽ドレナージは、脳血管攣縮の抑制的処置として安全かつ効果的に行なわれてきた方法である。このことから実際に用いる太さ5mm程度のドレーンよりも細い内視鏡の留置について、空間的な問題は生じないと考えられるものである。

他にも外傷性の脳損傷後の脳圧の管理など様々な場面において、頭蓋内の状態をモニターすることで適切なタイミングで必要な処置を施すことが可能となり得る。

本研究では臨床での利用を念頭においた脳内留置による侵襲性が低い細径の微細内視鏡の開発を進めた。

B. 研究方法

本年度は岩手医科大学とリコー光学㈱との共同開発により、脳内留置を可能とする微細な内視鏡について、その使用に必要な様々な機能性について検討を行い、試作機の開発を行った。

撮像は微細ファイバーを束ねた撮像ファイバーによって行い、光源も同様にファイバーを用いて撮像部に照射を行う。検出に関しては可視光に加えて、既に脳外科手術で使われているインドシアニングリーンを用いた蛍光検出を検討する。

また、既にヒトへ臨床応用されているベンゾジアゼピンレセプター密度を反映するiomazenil SPECT および脳血流 SPECT 上のcrossed cerebellar diaschisisの程度が、脳内留置型微細内視鏡をヒトに応用する場合の脳組織への影響の評価として、用いることができるかどうか検討する。

開発に際しては、今後の脳内留置試験に必要な安全性を考慮した機器形状、素材を用いたものとした。

倫理面への配慮

動物モデル（ラット・マウス）を用いた微細内視鏡の脳内留置実験による安全性試験とその後の組織化学的解析については、岩手医科大学動物実験委員会において承認を受けた実験計画に基づいて行った。ヒトでの臨床安全性試験に向けてはPMDAとの相談を実施しており、安全性を確認の上で岩手医科大学医学倫理委員会に申請予定である。承認後に、同委員会ガイドラインと厚生労働省「臨床研究に関する倫理指針」に従って研究を遂行する予定である。

C. 研究結果

今年度はこれまでに開発した試作機を基盤として様々な機能の改良・追加を行い、今後の臨床試験への展開を想定した脳内留置型微細内視鏡の開発を行った。

昨年度までに、血管動態を選択的に可視化する手段として、インドシアニンググリーン（ICG）の利用を採用し、それを用いた蛍光検出システムの開発・改良を行ってきた。ICGは、肝機能検査など既に生体への安全性が確認されている。これを静注することで、ICG色素と、血清中のタンパク質が結合し血流中で蛍光を発するよう

になる。これはFDAでも認められた安全性の高い色素である。ICGは比較的長時間血流中で蛍光が観察できる試薬である。今年度は内視鏡の先端構造の改良および光源装置の変更によって装置をより小型化しながら、鮮明な可視光およびICG蛍光による血管撮像性能が向上させられた。

実際にICGを用いた血流の動態観察については、ウサギを用いた観察によって明瞭な血流動態が観察可能であるが確認され、さらにミニブタを用いたよりヒトに近い脳構造における試験結果として有意義な知見が得ることができた。

また、今後十分な安全性試験をクリアした後に臨床試験に展開した際に、臨床で微細内視鏡の脳内留置による影響評価をどのように行うかを検討した。留置による影響評価については非侵襲的な方法であるiomazenil SPECTおよび脳血流SPECT上のcrossed cerebellar diaschisisによってヒトの脳障害の程度を評価し得ると考えられた。

D. 考察

微細内視鏡の撮像性能について改良が行われ、可視光および蛍光観察における光学性能は大きく向上した。脳内への留置および継続的観察という手法に対する安全性の確認は非常に重要であるため、今後臨床につなげるといった際には、ミニブタなど出来る限りヒトに近い脳構造を持った実験動物モデルを用いて十分な安全性試験を実施して行くことが何より必要である。安全性を入念に確認した上で、今後リアルタイムでの画像解析システムなど、ソフト面に関しても臨床応用に際して、より有用なインターフェイスを洗練して行くことも必要になると考えられ

る。臨床の実際を反映させた機能的かつ安全な医療機器としての今後の発展を目指していく。

E. 結論

脳内留置型微細内視鏡は脳外科手術後の術後管理において、有用なツールとなり得るものだと考えられる。今後さらに改良を加え、臨床試験に向けて機能性を高め、安全性を確認して行く必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 結果発表

1. 論文発表

Ohsawa M, Tanno K, Itai K, Tanvir Chowdhury Turin, Okamura T, Ogawa A, Ogasawara K, Fujioka T, Onoda T, Yoshida Y, Omama A, Kuribayashi T, Koyama T, Sakata K, Okayama A. Concordance of CKD stages in estimation by the CKD-EPI equation and estimation by the MDRD equation in the Japanese general population: The Iwate KENCO Study. International Journal of Cardiology 165(2): 377-379, 2013.

Ohsawa M, Tanno K, Itai K, Tanvir Chowdhury Turin, Okamura T, Ogawa A, Ogasawara K, Fujioka T, Onoda T, Yoshida Y, Omama S, Ishibashi Y, Nakamura M, Makita S, Tanaka F, Kuribayashi T, Koyama T, Sakata K, Okayama A. Comparison of predictability of future cardiovascular events between chronic kidney disease (CKD) stage based on CKD epidemiology collaboration equation and that based on