

201308020B

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 23 年度-平成 25 年度 総合研究報告書

研究代表者 祖父江 憲治

平成 26(2014)年 5 月

目次

I. 総合研究報告書	
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. 研究成果の刊行に関する一覧表	・・・・・・・・・・ 33
III. 研究成果の刊行物・別刷り	・・・・・・・・・・ 43

総合研究報告書

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。脳内留置による熱や電磁波などの脳障害を回避するため、撮像装置は柔軟な微細な光学ファイバーを用いて開発した。狭小な脳槽内への留置試験のために内視鏡の細径化を行いながら撮像性能を向上させ、さらに蛍光色素インドシアニンググリーン (ICG) を用いた血管および血流動態の選択的撮像を可能にする光学性能を装備した。微細な内視鏡先端部には微小レンズおよびフィルターによる被写視野に照明を均一に照射しながら、反射を低減した仕様を開発した。内視鏡の留置に関わる部分はディスプレイとして衛生面を考慮しながら、術後の脳槽内で良好な視界を維持する注水機能、留置した先端角度を維持しながら抜去時には柔軟になる機能を持たせるなど高い観察性能を持たせた。ウサギおよび脳のサイズ・構造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、可視光条件において太い脳血管はもとより直径 100 μ m 前後の微小血管の鮮明な連続撮像が可能であり、ICG 蛍光を用いて血管および血流状態を選択的かつ高感度に観察ができることが確認された。脳内留置に関する安全性については更なる検証が必要であるが、今後の臨床応用が可能な医療機器としての完成を目指した。

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
	人見 次郎	岩手医科大学	医学部 解剖学	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

A. 目的

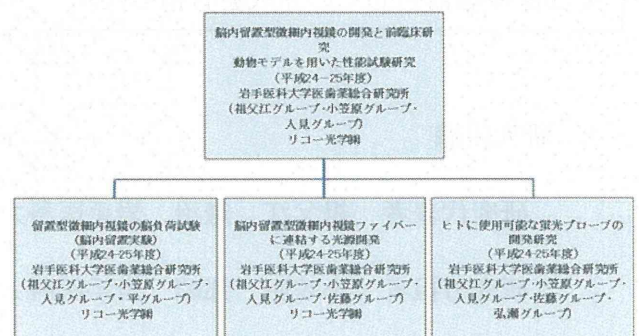
近年、内視鏡は小型化や多機能化をはじめ、その精度・応用範囲・手技において飛躍的進歩を遂げ、臨床各科で有力な診断と治療のツールとなっている。脳血管疾患領域において、内視鏡は水頭症の脳室開放術・脳室内腫瘍摘出術・開頭脳動脈瘤クリッピング術の支援・下垂体手術時の支援等に用いられるが、手術室内での術中使用に限定されている。脳血管疾患の診断に関しては、MRI・PET など診断法の進歩と内視鏡の手術室外使用の困難さから導入を試みられることはなかった。MRI・PET 等の放射線学的検査は、機器および解析・診断法の進歩によって頭蓋内環境の状態を詳細かつ的確に把握できることに加え、何より無侵襲だという大きな利点がある。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。MRI・PET などの検査では持続的なモニタリングには対応できない。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

脳神経外科学、神経科学、解剖学、薬理学的観点および工学的観点から微細内視鏡の脳内への留置による脳血管の継時的モニタリングというアプローチについて、医学的有益性、実現の

ための性能要求、安全性における課題などについて検討を行い、図1に示す体制によって開発研究を行った。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

微細な光学ファイバーを束ねて高精細画像の取得を可能としながら、柔軟な形状の微細内視鏡を開発した。近年、微小でありながら高解像度のカメラが開発されているが、脳内への留置というアプローチであるが故に脳内でカメラおよび光源などからの発熱や電磁気の発生を避けるため、光源やカメラを体外に置いて光学ファイバーによって照明・撮像する仕様を採用した。微細ファイバーは細く柔軟な機器形状のため、狭く限定された頭蓋内脳周辺部においても圧迫負荷を与えることがなく、また照明光もファイバーによって引き込む。ファイバーについては素材、素線径、素線数などによって解像度、柔軟性、外径、画像明るさなどの光学的性能によって比較検討を行った。また先端レンズやフィルターによって画角・被写界深度の仕様や被写体からの反射の低減について改良を行った。血管の状態を鋭敏に観察できる撮像性能を高めながら、狭小な脳槽内への留置のためにより細い形状への改良を進めた。

2. ヒトに使用可能な蛍光プローブ - ICGを用いた脳血管機能解析法の開発

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、蛍光色素を用いた観察について検

討を行った。実用性と安全性を検討した結果、脳外科手術において既に血管の選択的な可視化を目的として用いられるインドシアニンググリーン (ICG) の使用に向けて開発を行った。ICGは肝機能検査、脳外科手術、腫瘍細胞のリンパ節転移の確認など、既に臨床で使用され、人体への安全性が確認されている色素である。近赤外光によって励起され蛍光を発するICGを使用して血管撮像および血流動態の観察について検討した。

3. 脳内留置型微細内視鏡内視鏡ファイバーに連結する光源開発

頭蓋内留置による使用における鮮明な画像の取得と血管動態の明確な判断のため、光源および光源ファイバーの仕様についても開発・改良を行った。可視光光源としては、プロトタイプでも用いた高輝度白色LEDを採用した。

さらに新たに蛍光撮像のために必要となる励起光光源の開発を行った。使用する蛍光色素に応じてフィルターおよび光源を切り替えられる仕様とし、血流動態を観察するためにICG検出に必要な光源およびフィルターの開発を行った。ICGは780 nmという長波長(近赤外光)で励起され、845 nmの蛍光を発する。励起光源として高輝度赤外ダイオードレーザーを用い、励起波長のみを取り出す光学フィルターを設計した。

4. 留置型微細内視鏡の脳内留置に関わる安全性試験

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。

また、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。これら機能を持たせた内視鏡先端部はディスプレイ可能な仕様として、衛生面も考慮した。

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。

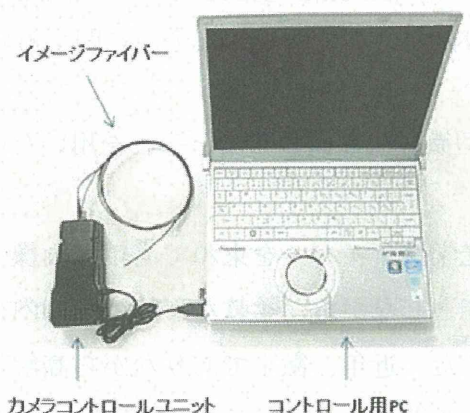
C. 研究結果

1. 留置型微細内視鏡の開発とそれを用いた性能試験

①撮像性能の改良

最初に完成させた微細内視鏡プロトタイプは一本あたり径14 μm (モニターへの投映上、1画素に相当) プラスチックファイバーを4,000本束ねたおよそ外径2 mmのイメージファイバーを備え

図2. 23年度に最初に作成した微細内視鏡試作機



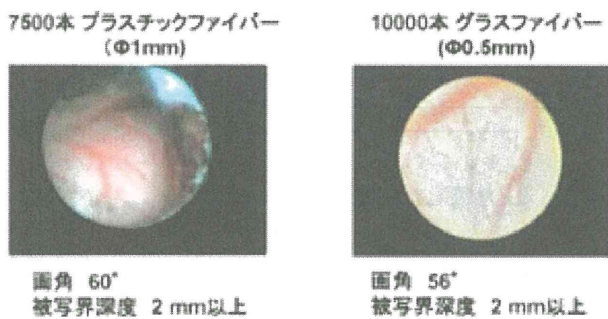
ていた (図2)。被写界深度2 mm、画角40度であった。微細内視鏡プロトタイプの解像度でもラット脳の微小血管まで観察可能であったが、画質はまだ粗く、被写体の近くで照明するために反射が画像中心部で撮影の障害となることが見られた (図3)。撮像性能の向上のために素線を細径にした10 μm 径のプラスチックファイバーを7,500本束ねた (7,500画素に相当) イメージファイバー (外径1 mm) を作製した。このプラスチックファイバーは非常に柔軟であり、脳深部への留置に関しても有利であると考えられる。このプラスチックファイバーは視野の解像度、視野の明るさいずれも良好な結果を得た (図4左)。

さらに素線の数を増やしながら細径化を実現するために4 μm /本のガラスファイバーを10,000本束ねた (10,000画素に相当) イメージファイバーを作成し、その撮像性能を確認した。そのため解像能力を向上させるためにガラスファイバー製イメージファイバーは外径0.5mm径で、ファイバー数は増加したが径は細くなっている。

図 3. 初代微細内視鏡の撮像



図 4. イメージファイバーの種類による撮像性能比較

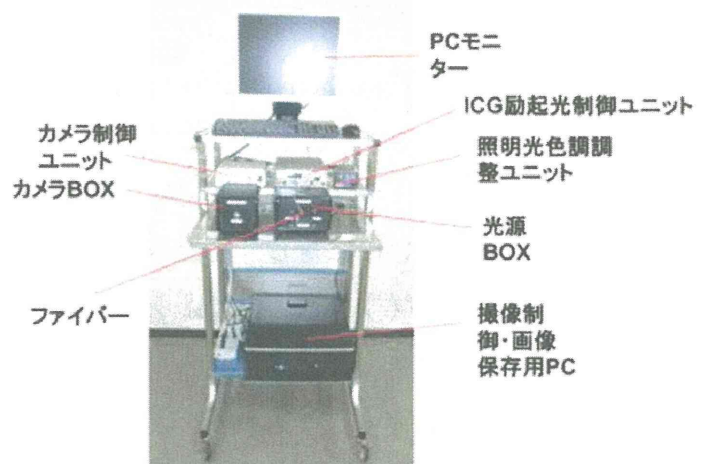


10,000本ガラスファイバー製イメージファイバーはより精細な血管の撮像が可能となった(図4右)。これは視野に対する画素密度が高くなっていることによるところが大きく、ファイバー径および開口数が小さくなったために視野は狭くなっている。

一方で、ガラスファイバーは細径ながら柔軟性に関してプラスチックファイバーに劣る。これは材質によるものであり、術中および留置中などにファイバー折れる可能性は避けなければならない。また脳内の特定の部位に留置、抜去する際に留置位置や撮像角度などに制限が加わる要因となると考えられる。さらにガラス素材の

開口数と素線の径が細くなっていることによってファイバー中の光路伝達率が低く、次項以降で述べる蛍光検出においてプラスチックファイバーに劣ってしまうという結果が生じた。血管の詳細な観察および血流量の変化を鋭敏に感知するためには、できるだけ微弱な光でも効率よく捉えられる必要がある。一方で、プラスチックファイバーについても素線数の細径化や素線数の増加ができれば明るさおよび柔軟性を保ちつつ、解像度を上げられる可能性があるが、素線数を増やしたプラスチックファイバーには素線抜けが出ることによって画質に難が生じ、太くなることによって柔軟性の低下が認められた。これらの要因から内視鏡のイメージファイバーとしては直径10 μ mのプラスチックファイバーを7,500本束ねた光学ファイバーを採用し、その後の開発を進めた。

図 5. H24 年度に作成した微細内視鏡試作機

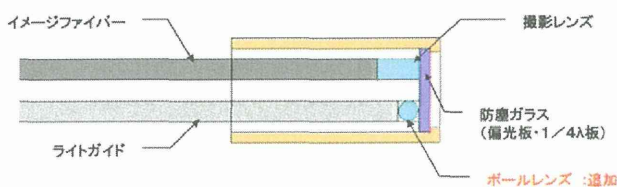


②照明装置の改良

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。そのため先端部に複数種の光源を組み込む必要はなく、任意の波長・光量で照明ファイバー基部から入射するだけでファイバー先端部より照射が可能である。この構造は可視光だけではなく、蛍光色素を用いることによって血流動態を鋭敏に観察するには優れた仕様である。現在は安全性が確認されていることから近赤外光励起のICGを用いているが、将来的に細胞障害マーカ―や酸素飽和度などについて安全性の高い蛍光色素が用いることができるようになれば、その励起に必要な光源に切り替えることによって多彩なアプリケーションに対応できる。

図 6. H24 年型微細内視鏡の先端部モデル



通常の可視光による観察には白色LED光源を用いた。H24年度型の試作機までは1本のイメージファイバーに沿って1本の照明ファイバーが用いられていた(図6)。通常の照明先端構造では中心部が明るいに対して周辺の光量低下が認められる(図7左)。そのため照明ファイバー先端部に凹レンズ、セルフオックレンズ、GRINレンズ、ボールレンズ等を追加することによって照射光を分散させ、出来る限り被写視界に均一な照射を可能とするための検討を行った。その結果、照明ファイバー先端部に微小なボールレンズを追加することで、最も良好な照明条件を可能とした(図6、図7右、下)。

さらに被写体からの反射は単純に可視光照明を減光するだけでは改善されないものであることから、この反射を低減するためにイメージファイバーの先端に偏光フィルター、1/4λ板などの追加を検討した。偏光フィルターおよび1/4λ板は、乱反射する光をカットすることにより反射の低減が認められた(図8)。

図 7. 照明ファイバー先端構造による照度分布

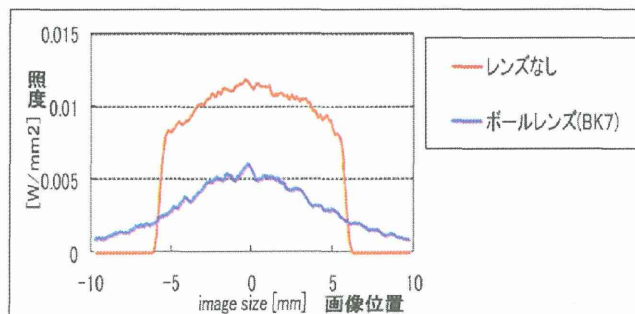
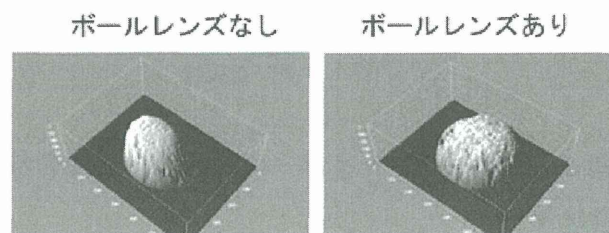
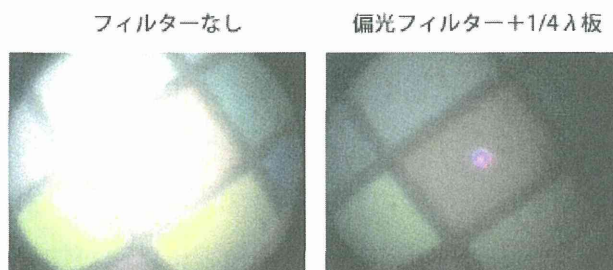
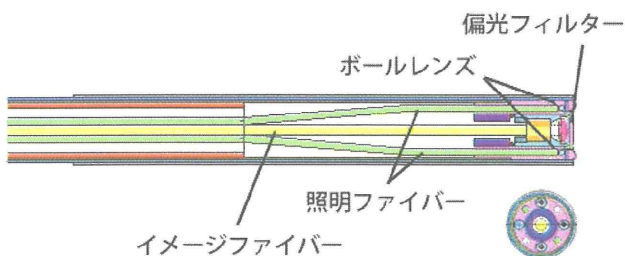


図 8. フィルターによる被写体中心部からの反射低減



H25年度には微細内視鏡先端部のさらなる細径化を目指し、照明ファイバーの仕様を変更した。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。半分径（直径0.5 mm）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。図9に概要を示す。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、一部強い照明光の映り込みやその反対側の照度がやや弱くなることが認められていた。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だけで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、反射低減のために偏光フィルターも搭載した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。

図 9. H25 年型微細内視鏡照明ファイバー



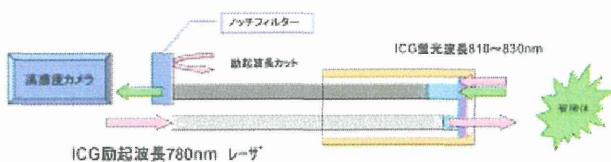
2. ヒトに使用可能な蛍光プローブ - ICGを用いた脳血管機能解析法の開発

可視光での撮像に加えて、蛍光色素を用いることによって明確に血管形状および血液動態の観察できる機能を追加した。血管動態や血流の観察にはこれまでに動物モデルでは数種の蛍光色素が用いられている。血管内皮の選択的染色色素、蛍光色素を付加した多糖類（デキストランなど）を静注による血流の蛍光観察などがそれに当たる。しかしこれらの方法はヒトへの臨床応用を考えた際に、安全性の確認プロセスを考慮すると実用化までの行程が長い。それに関して、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インドシアニングリーン（ICG）という色素が薬事承認を受け、既に臨床応用されている。ICGは肝機能検査をはじめ以前より臨床で使用されている色素であり、人体への安全性が確認されている。ICGは血清タンパク質と結合すると800nm前後の波長の光で励起され、845 nmの蛍光を発生する。生体における血管の蛍光観察を考える際には、どの程度の組織深度まで励起光、蛍光が届くのかということが重要になる。血管近傍に存在する主要な吸光物質としてはヘモグロビンと水であり、それぞれおよそ600nm以下、800nm以上の波長の光を吸収する。つまりICGの励起波長800nm(近赤外領域)と蛍光波長845nmという性質は生体内での蛍光観察に適したものであるといえる。脳外科手術下では、ICGを静注した後に蛍光観察用のフィルターを通して観察すると、血管を選択的に浮かび上がらせて観察することができるため、脳血管の走向や血流状態の確認に用いられている。当初の研

究計画では、新規の蛍光色素の開発も検討していたが、既に安全性が確認されて脳外科臨床で用いられている方法を採用することにした。

本研究の微細内視鏡においてこのICG色素に対して照明ファイバーからの励起光を照射し、発生した蛍光を検出可能とした(図10)。励起光源としては次項以降で述べる。励起光は図11によって設計した光学フィルターによってICG励起に必要な波長780 nmの光を取り出し使用する(図12)。ICGは単独では蛍光特性を持たないが、血漿中のタンパク質と結合することにより、蛍光を発生するようになる。蛍光は高感度CCDセンサー(EM-CCD)によって検出した。EM-CCDは従来品の1000倍高感度であり、波長域は350-1200nm(遠赤・可視・近紫外域)と今後異なる蛍光色素利用も踏まえて広範な波長の光の検出に対応できるものとした。ICG蛍光の検出について仕様の異なる撮像ファイバーを用いて試みた結果、7,500本プラスチックファイバーでは段階希釈したICGスポットを高感度に検出できるのに対して、10,000本ガラスファイバーではおよそ1/100倍ほど感度が低いという結果となった。この原因としてガラスファイバーの材質は光学的に励起光およびICG蛍光の透過に問題があるわけではないが、10,000本ガラスファイバーではガラスという障害の性質と素線一本一本が細くなっているため光路伝達率が低くなるのが原因と

図 10. 微細内視鏡による ICG 蛍光検出モデル



考えられた。可視光条件では光量が多いため問題とならないが、ICG蛍光の検出においてはより微弱な光を捉えなければいけないためと考えられる。この結果より可視光およびICG蛍光のいずれでも感度の高い撮像が可能なプラスチック製の光学ファイバーをイメージファイバーとして採用した。

図 11. 近赤外励起光源に用いるフィルター

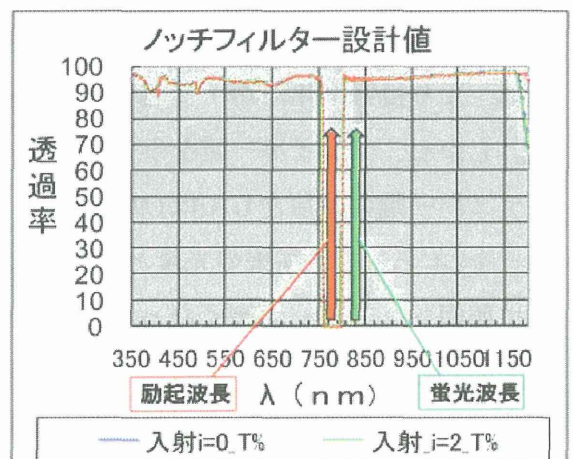


図 12. 近赤外励起光源の光学特性

