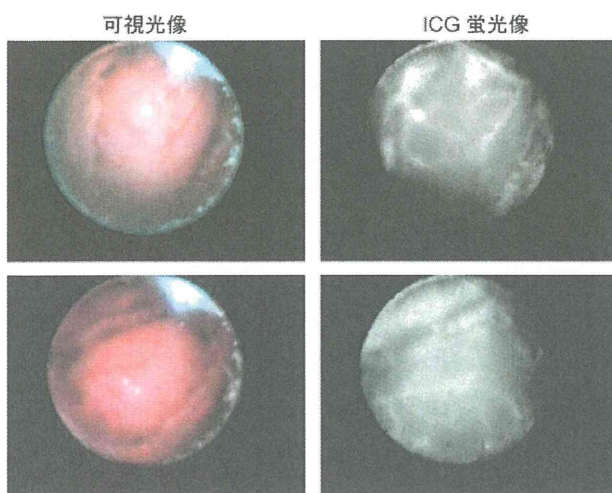


3. 脳内留置型微細内視鏡内視鏡ファイバーに連結する光源開発

可視光用の光源として高出力白色LEDを用いて、照明ファイバーへの入力の際に出力および赤・青・緑の色調を微調整することが可能な仕様とした。出力の調整が可能となることにより不必要な反射の低減を抑え、適切な光量での撮像によって解像能力の向上にもつながった。また、頭蓋内に留置した際には脳槽内への血液の流入などが想定されるが、照明光の色調を最適化することにより少しでも血管の状態を観察し易い条件を設定可能とした。

また上述であるが、ICG色素の蛍光観察を行うため、高輝度赤外ダイオードレーザーを搭載した。ICG励起波長である近赤外光780 nmの波長の励起光を取りだすために図10の性質の光学フィルターを設計した。フィルターによって780 nmの励起波長が取り出されていることを確認した(図12)。脳外科手術下では、ICGを急速静注した後、蛍光観察用のフィルターを通して観察す

図 13. ラット脳血管における ICG 蛍光による選択的血管検出



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る。H24年型内視鏡においてICG撮像機能を実装した。ラット脳を用いたICG蛍光を用いた撮像試験によって血管の選択的観察が可能であることが確認された(図13)。また、前項で記載した通り、H24年型微細内視鏡から先端構造を細径化したH25年型を開発するために照明ファイバーを従来の1 mm径からより細い0.5 mm径のファイバー2本とした。この際に、ICG励起のための近赤外励起光の照射光量が著しく弱くなる状態が生じた。ファイバー径を小さくすることによる面積の減少による影響が、近赤外光ではより強く生じた。そのため可視光観察のための白色LED光源もより高出力のものに変更したが、加えて近赤外光のための高輝度レーザーダイオードに関してさらに高出力のものに変更した。

高出力光源を採用したことで、ICG蛍光観察時

図 14. 近赤外光 (ICG 励起光) による被写体温度上昇試験

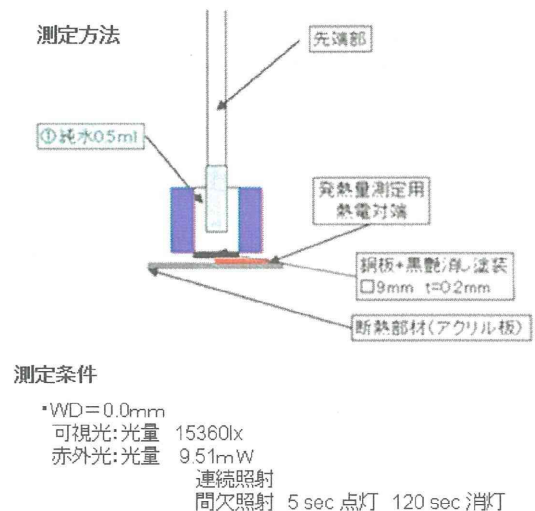
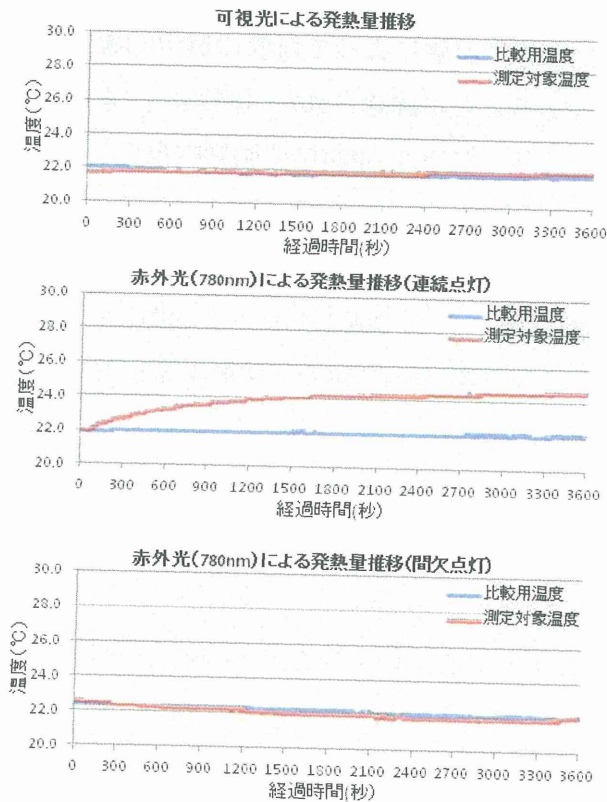


図 15. 近赤外光 (ICG 励起光) の照射状況による被写体温度上昇



に微細内視鏡先端部から照射される近赤外光による被写体の温度変化について検証を行った。脳槽内の観察条件を模した図13に示す実験系を用いた。可視光光源 (白色LED) については高出力に変更しても連続照射によって有意な温度上昇を生じさせなかった (図15上)。一方、ICG励起近赤外光は高出力条件で連続照射すると温度上昇のための昇が確認された。近赤外光の照射自体には細胞・組織への障害性がないことを確認しているが、被写体としての脳組織における温度上昇は避ける必要がある。そのため、連続的な観察の場合においても、間欠的な励起光照射による蛍光観察を行うことによって被写体の温

度上昇を避けられることを確認した (図15下)。

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。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。また、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。具体的には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) の利用を検討した。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。リピジュア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、いずれもリピジュア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。

脳内留置時には、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先端角度を保持することができる(図16、図21)。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。

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。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さげなければいけない。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、

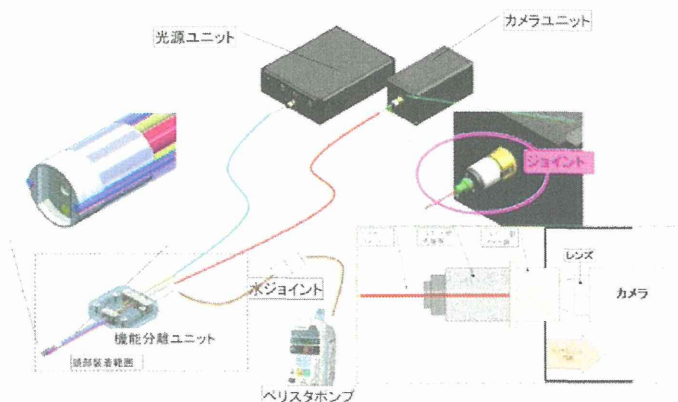
図 16. 形状保持部材による先端部保持



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に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(図17)。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プレイとして、衛生面の問題も生じさせない構造とする。

また、微細内視鏡の脳内留置による連続撮像

図 17. 注水機能及び先端着脱機能



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13)。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。

5. 微細内視鏡による脳血管・血流観察

①現行モデルの仕様

前項までに記載した研究・開発によって作成した現行の微細内視鏡の仕様および性能の概要について図18、図19に示す。イメージファイバーは10 μm径のプラスチック製光学ファイバーを7,500本束ねた外径1 mm、照明ファイバーは0.5径のファイバーを2本用い先端に微小ボールレンズを組み込むことで均一な光照射を可能としている(図20、図21)。画角は78.8°と広く、被写界深度は4.1 mmから50 mmの範囲としている。イメージファイバー先端には偏光フィルターを組み込み、被写体中心からの強い反射を低減している。

このH25年度に新規に開発した先端部は外形3 mmを下回る細さを実現しながら、先端部形態保持機能および注水機能を持つ(図20)。また内視鏡基部のカメラ接続部および光源接続部は光

図 18. 改良・機能追加を行った微細内視鏡



図 19. 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~50mm

学ジョイントとなっていて無理な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加わることを防ぐ。この光学ジョイント部は容易に再接続が可能であり、留置を施した患者の搬送・移動などを安全に執り行う上でも有用だと考えられる。先端部の角度を維持する形態保持部材は図20下の写真の右側に見られる機能分

図 20. 微細内視鏡先端部拡大

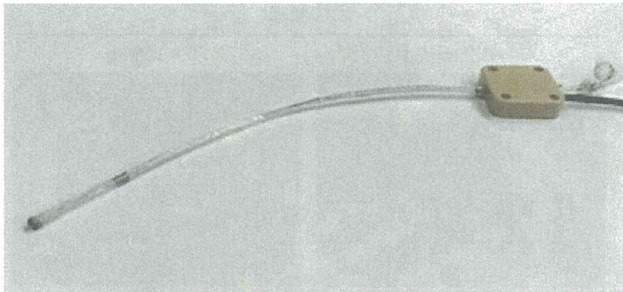
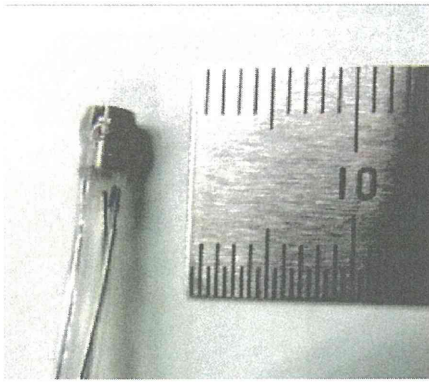
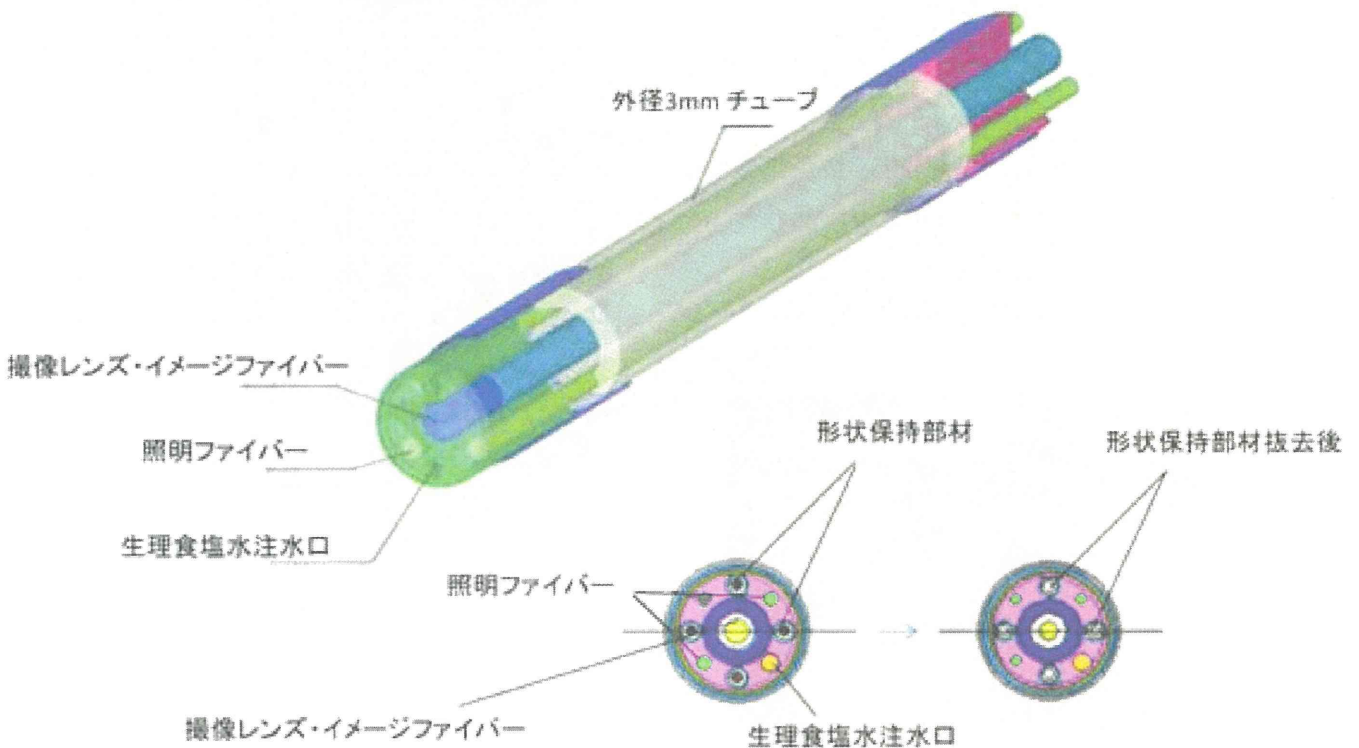


図 21. 微細内視鏡先端部図解

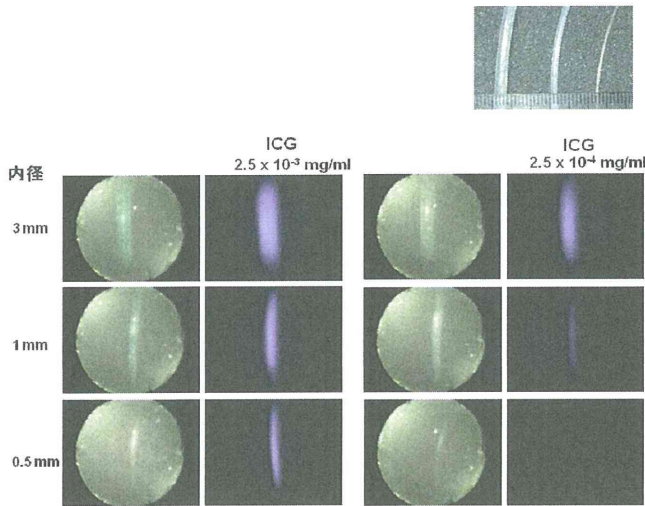


離ユニットにより抜去することができる。また注水チューブもこの機能分離ユニットから先端部へと接続されている。

このH25年現行型は可視光用の高出力白色LED光源およびICG蛍光観察のための高出力近赤外線レーザーダイオード光源を装備し、電動で切り替えが可能である。それぞれの光源は詳細な出力調整が可能であり、留置位置および標的部位などの撮影条件によって最適化できる。

この微細内視鏡を用いて、被写体として内径0.5~3 mm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を用いた。その結果、内径0.5 mmという細い血管に見立てたチューブを用いた場合においても、 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(図22)。

図 22. 細径チューブ内の ICG 蛍光の検出



②現行型微細内視鏡を用いての血管・血流観察

H24年度前半までの主に可視光での血管撮像試験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。今年度、現行型が完成し、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23、図24）。

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

図 23. ウサギ脳表面の血管

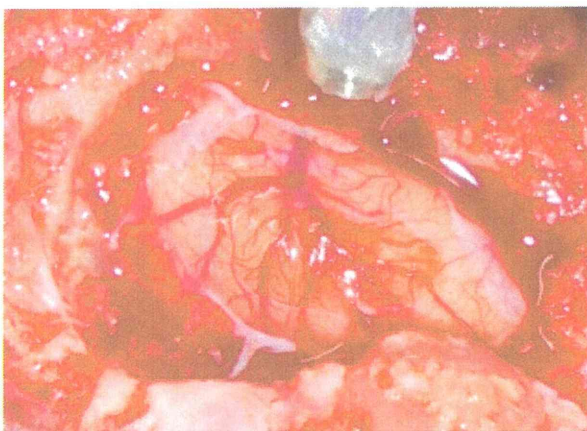
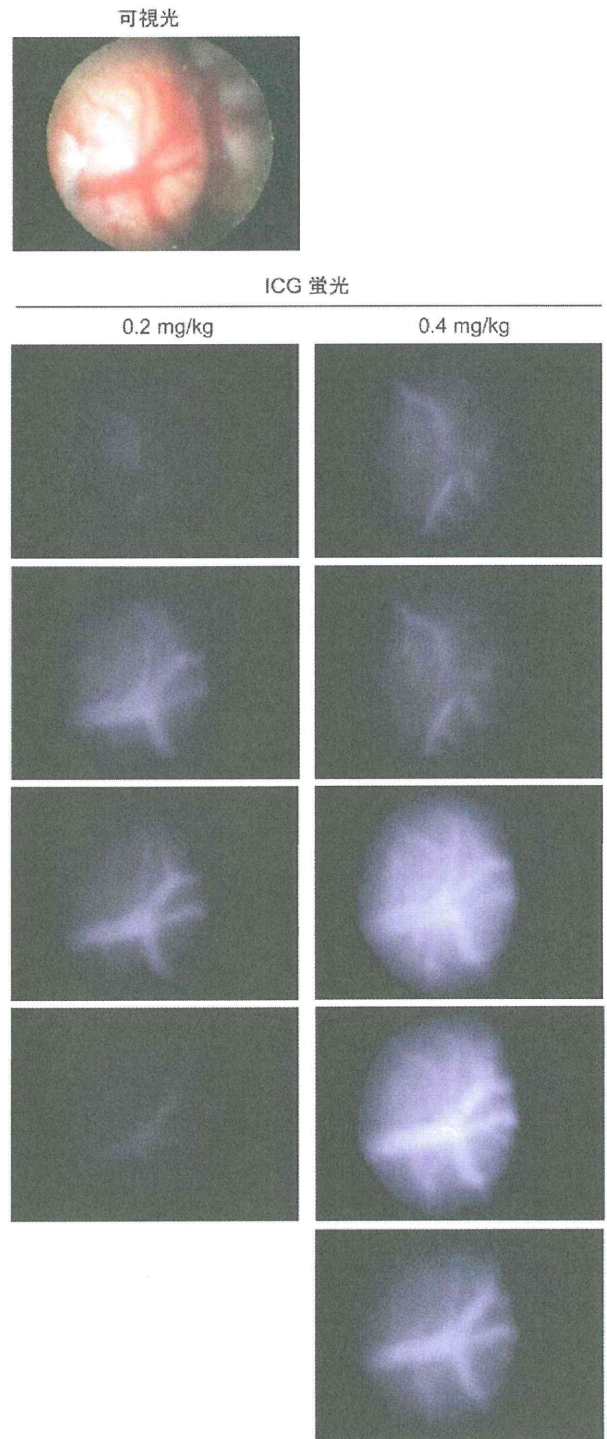


図 24. ウサギ脳血管の可視光および ICG 蛍光観察



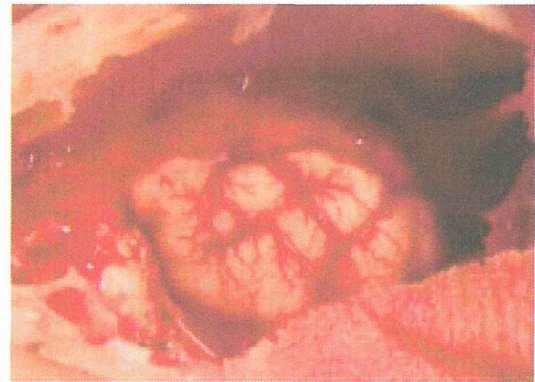
で開頭し、硬膜を除去して脳血管を露出させた

(図23)。現行型微細内視鏡では高精細画像での動画撮影およびインターバル撮影が可能になっている。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、継時的な蛍光観察を行った。結果を図24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 μ mほど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24)。脳外科領域の臨床で脳血管観察のために用いられる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、ウサギの脳は脳溝に乏しくラット脳よりは大きいものの頭蓋骨内に微細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(Göttingen minipig)を用いた動物実験を実施した。ミニブタは様々な外科手術に関する試験で用いられ、脳外科領域でも脳梗塞モデルなどの形で使用されている。ミニブタは体重にしてウサギのおよそ10倍となる30 kg

前後の個体を用いた。ミニブタは個体が大きく、

図 25. ミニブタ脳表面の血管

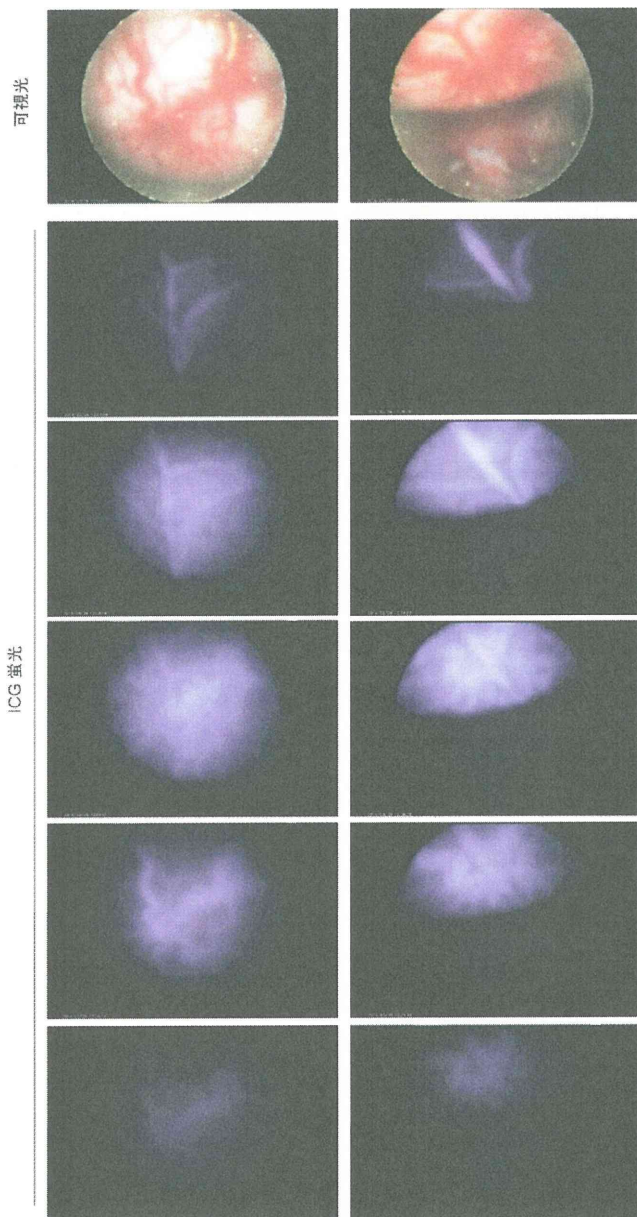


また頭蓋骨も厚く硬い。そのため岩手大学農学部共同獣医学科宇塚雄次教授の協力を受け、岩手大学附属動物病院の設備によって実施した。ミニブタの脳はウサギに比較して大型ではあるが大腦としておよそ4.5 cmの半球型をし、このサイズとしては比較的深い脳溝を持つ(図25)。

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した(図26上)。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生理食塩水を急速静脈注射によって導入し、蛍光条件で継時的な観察を行った(図26)。

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を導入(0.2 mg/kg)し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26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26)。図26左は脳表面に対して垂直方向に内視鏡観察を

図 26. ミニブタ脳血管の可視光および ICG 蛍光観察



行ったもの画像であり、図26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。

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27)。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より細く、前年度までの撮像性能を高めながら、注水機能、形態保持機能を備えた仕様として大きな革新を遂げた。

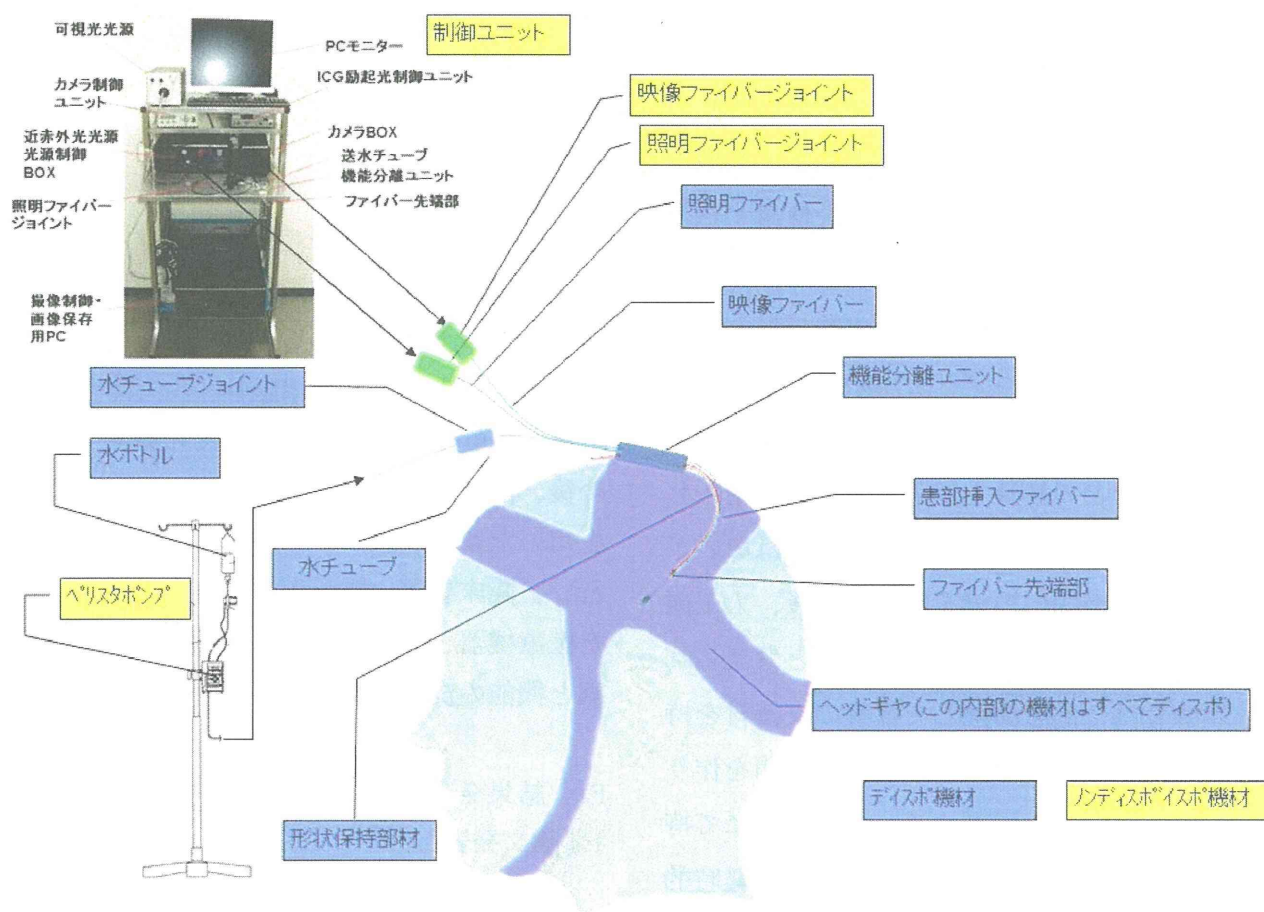
ラットでは頭蓋内の脳血管も微細なため、撮像分解能やICG検出感度の検証にはより高い評価基準となり、より大型の動物を用いた撮像試験では良好な結果が得られるかたちとなった。高められた光学性能をウサギおよびミニブタといったより大型の実験動物を用いることによって脳動脈の可視光およびICG蛍光を用いた選択的な血流動態の鮮明な経時的な観察が可能となった。現行の微細内視鏡では現在脳外科の臨床で血流確認の為に用いられている0.1-0.3 mg/kg (急速静注) というICG濃度で十分に蛍光を観察でき、さらに低濃度での観察が可能であった。ICG投与の後に動脈に蛍光が観察されるのは非常に短い間であり、動脈の血流状態について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。これらの継続的な

観察が可能となれば、従来から執られてきた水分・電解質調節と血圧を高め維持することで血流を確保する予防措置や、Rhoキナーゼ阻害薬、トロンボキサンA2合成阻害薬などによって血管収縮阻害を適切に行うことが可能になると考えられる。

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

図 27. 脳内留置型微細内視鏡全体図



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、実験動物の頭部および脳構造の大きさに関する課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だったことについては否めない。脳内留置に関する試験に際して、PMDAからの提言と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されることが望ましいとされる。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。頭蓋骨は一部を切除して代替の支持材を持ちることによって内視鏡を留置する空間を作りながら、観察位置を固定する。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、当初の目的である脳内へ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。本研究では可視光およびICG蛍光撮像に関する優れた光学性能を持つ外径3mm以下の微細なファイバー型内視鏡を開発した。脳内留置に必要な撮像性能維持および安全性を高める新たな機能を備え、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の確認を進めた。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. 結果発表

1. 論文発表