

## 第4章

### 体内埋込型超小型観察装置の開発

#### 4.1 プローブ型血管新生観察装置 (Type I)

##### 4.1.1 設計概念

生体内において血管新生を観察するにあたり、既存の手法では実現しえなかった課題を解決すべくプローブ型血管新生観察装置 (Type I) を設計した。第1に麻酔や筋弛緩剤を用いずに観察を行う事を可能にする事。第2に非侵襲・低侵襲に観察すること。第3に長期間安定に連続して観察できること。第4に生体内のあらゆる場所で観察可能であること。この4つの課題を満たすべく設計・開発を行った。これまでの手法では体外に設置した顕微鏡を用いる手法がほとんどで、その大きさや焦点距離の問題から非常に制限が大きく上に掲げた課題を満たすことはできてない状況にある。この状況を打破するブレイクスルーとなり得る技術が、近年の光学技術の進歩による固体撮像素子 (CCD - Charge Coupled Device Image Sensor) を用いたカメラの小型化である。特にレンズ・光ファイバーを用いた内視鏡技術が進んだため、観察部位の選択範囲が広がってきている。そこで、超小型の CCD カメラユニットを用いて、生体内に埋め込み可能な観察装置を開発した。長期間安定に観察を行うために Scaffold を用いて、その Scaffold に血管を新生させることで、視野を固定した状態で長期間安定に観察可能なデバイスの開発を行った。

#### 4.1.2 デバイス

図 4-1-1 にプローブ型血管新生観察装置 (Type I) の構成概念図を示す。開発したプローブ型血管新生観察装置を生体内に埋め込み、生体内で Scaffold に新生する血管の様子を連続的に CCD ユニットで撮影する。撮影した信号を体外のモニターにて受信する。

観察装置 Type I の主な構成要素は 3 つからなり、CCD プロブユニット、Scaffold、光源ユニットから構成した。使用した CCD プロブは 1/7 インチ、34 万画素 (CCN3412、(株) フォルテシモ、東京) のものを用いた。CCD プロブのセンサー部は直径 7.5mm、長さ 42mm で、焦点距離は 2.1mm のものを用いた。図 4-1-2 に使用した CCD プロブユニットを示す。Scaffold には第 2 章で選定したポリグリコール酸 (PGA) の不織布で作られた厚さ 0.3mm の Scaffold (ネオベール NV-M-03G、グンゼ (株)、京都) を用いた。図 4-1-3 に使用した Scaffold の

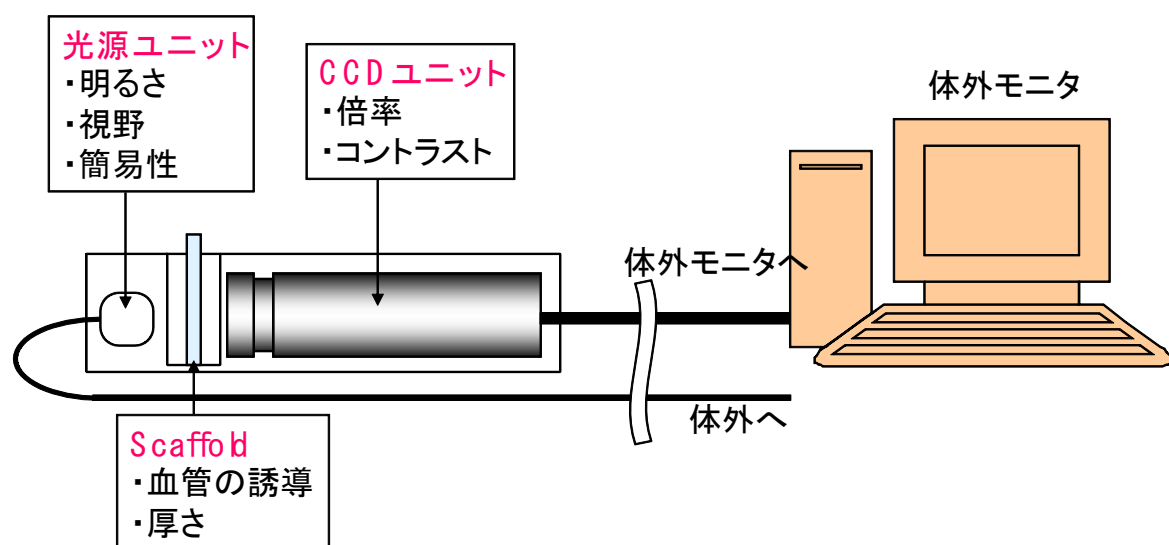


図 4-1-1 CCD を用いた観察装置の構成概念図



図 4-1-2 使用した CCD カメラユニット (CCN3412)

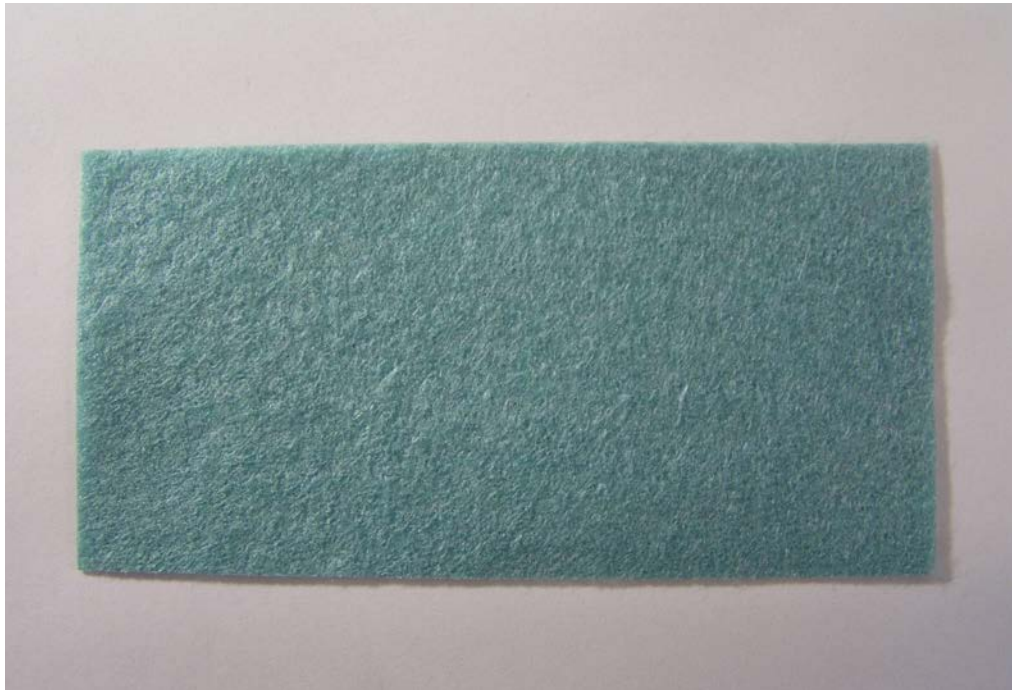


図 4-1-3 使用した PGA Scaffold

写真を示す。光源ユニットは直径 5mm の LED (SDL5N3PW、SANDER、台北) と厚さ 3.3mm の拡散板 (46163-G、Edmond Optics、東京) を組み合わせて、対象に光を均様に照らすように設計した。またこの光源ユニットと CCD カメラユニットで、Scaffold を挟みこむ構造を作り、Scaffold に新生する血管・組織を透過する像が CCD カメラへと映るように設計した。その概念図と実際に作製したものを図 4-1-4 に示す。これらを防水用の ABS 樹脂製のケースと医療用エポキシ樹脂・シリコン樹脂を用いて防水処理を施し、動物実験用の CCD 観察装置を図 4-1-5 のように作製した。作製した観察装置のサイズは直径が 12mm で長さが 60mm(ケーブルを除く) となった。この観察装置から出力される信号の形式は NTSC のコンポジット映像信号で、RCA 端子から出力される。そのアナログ信号をデジタル信号変換器(RCA-DAV、プリンストンテクノロジー(株)、東京)を用いて外部のコンピュータに入力する。その時の画像の解像度  $740 \times 480$  [pixel] であった。体内から体外へと貫通する観察装置を駆動のための電源および信号線は一本のケーブルで構成した。

この観察装置を用いてスライドフィルムとヤギの赤血球標本を観察したものを図 4-1-6 に示す。この観察装置で撮影したスライドフィルム上の  $400 \mu\text{m}$  のサイズの文字は 15 インチのモニターにおいて約 75cm で表され、鮮明に映し出された。その時の観察可能な視野範囲は  $1.6\text{mm} \times 1.2\text{mm}$  であった。また、ヤギの赤血球 (約  $8 \mu\text{m}$ ) も確認することができた。

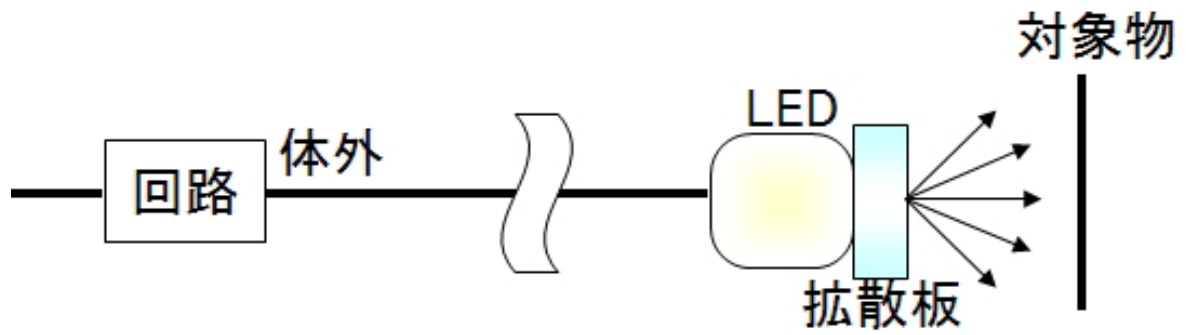


図 4-1-4 作製した光源ユニットと概念図

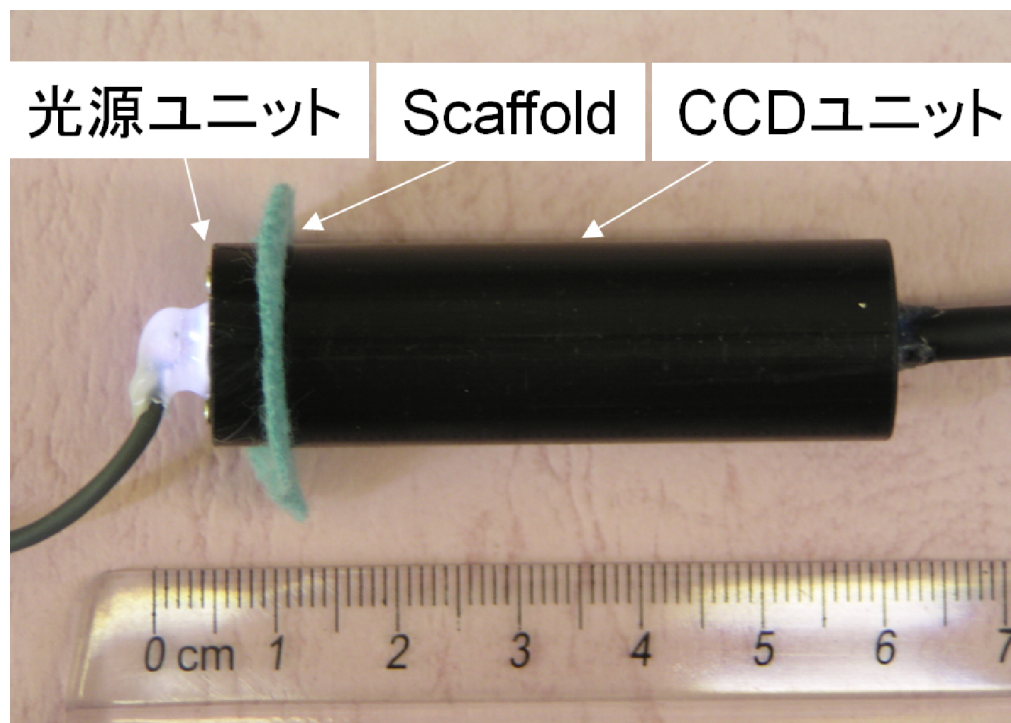


図 4-1-5 作製したプローブ型血管新生観察装置 (Type I)

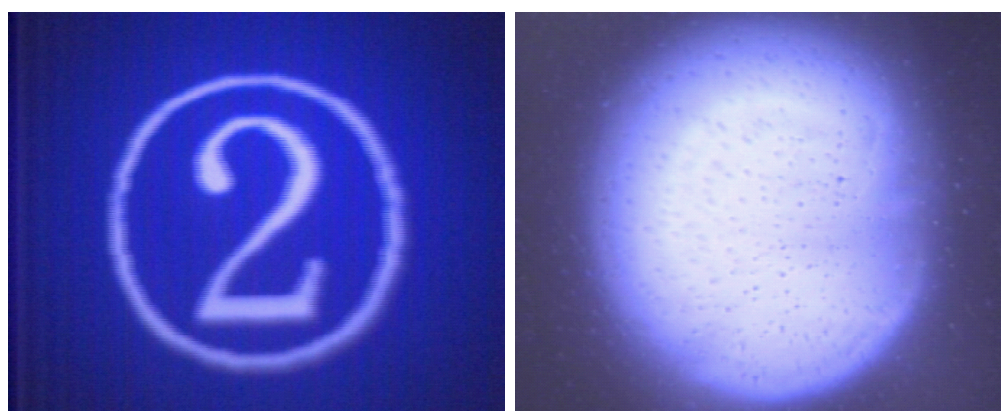
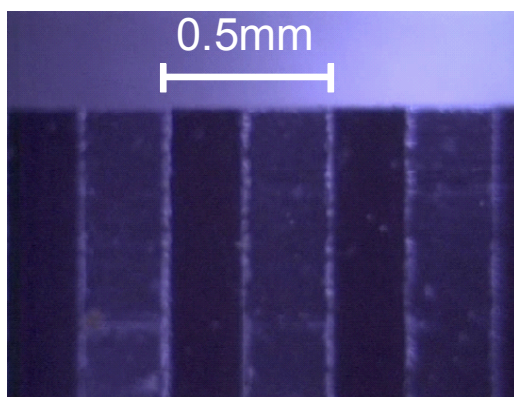


図 4-1-6 作製したプローブ型血管新生観察装置 (Type I) で観察した画像  
(上: 定規 左: スライドフィルム 右: ヤギの赤血球標本)

#### 4.1.3 動物実験方法

3.3.2項と同様な実験方法で、開発したプローブ型血管新生観察装置(Type I)を、成ヤギ(45kg、メス、ザーネン種)の皮下(広背筋近傍)に埋込みを行った。観察装置は縫合糸を用いて広背筋に固定し、足場に血管が新生する様子を観察した。図4-1-7に動物実験での埋込の様子を示す。実験は埋込後56日まで継続した。実験終了後はプローブ型血管新生観察装置(Type I)を生体から摘出し、Scaffold部に新生した組織の観察を行った。

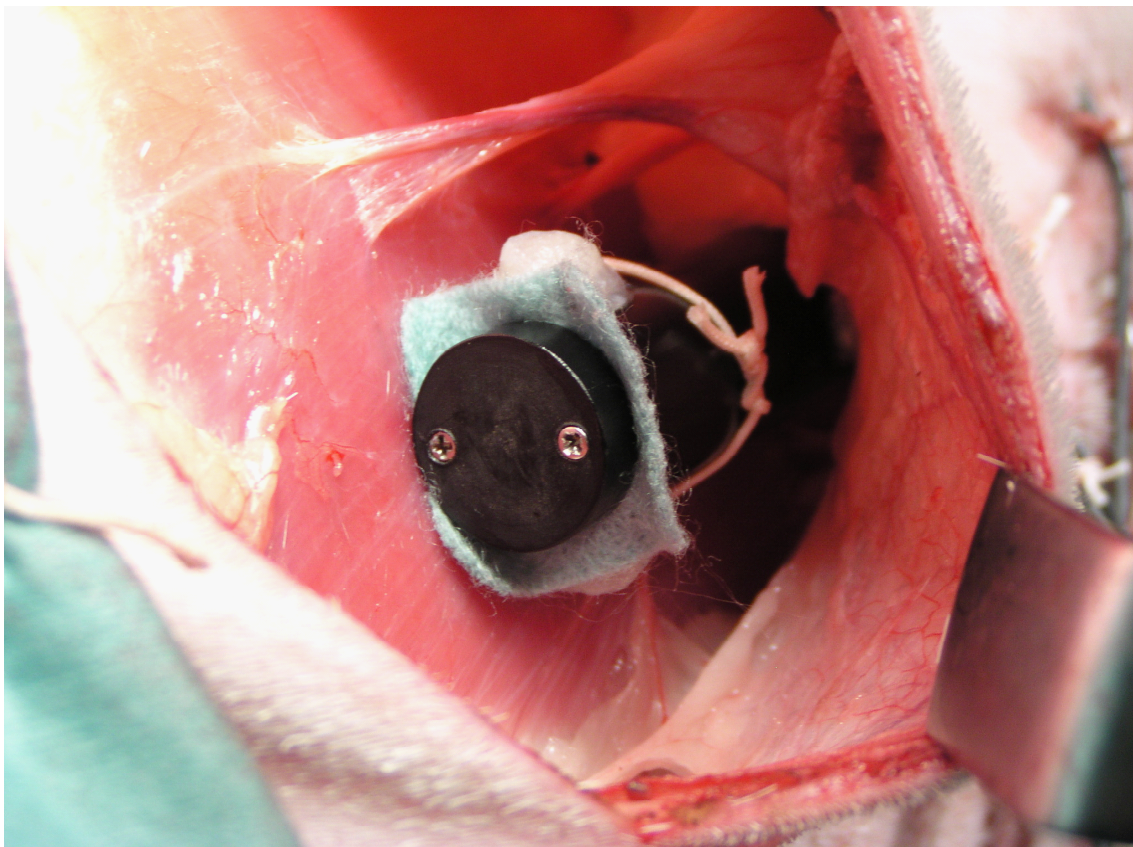


図4-1-7 プローブ型血管新生観察装置(Type I)の埋込時の様子

#### 4.1.4 動物実験結果

生体に CCD 観察デバイスを埋め込み、Scaffold に血管・組織が新生した結果を図 4-1-8 に示す。埋込直後は Scaffold の繊維が鮮明に観察・撮影された。埋込後 35 日および 50 日では、不鮮明ではあるが、組織および血管が観察された。

実験終了後に生体からプローブ型血管新生観察装置 (Type I) を摘出した写真を図 4-1-9 に示す。大半の Scaffold は生体内で加水分解され、組織へと置き換わっていた。しかし Scaffold 中央部にはまだ加水分解されていない Scaffold が残っていた。観察デバイスを取り出した周囲に感染や拒絶反応は見られなかった。



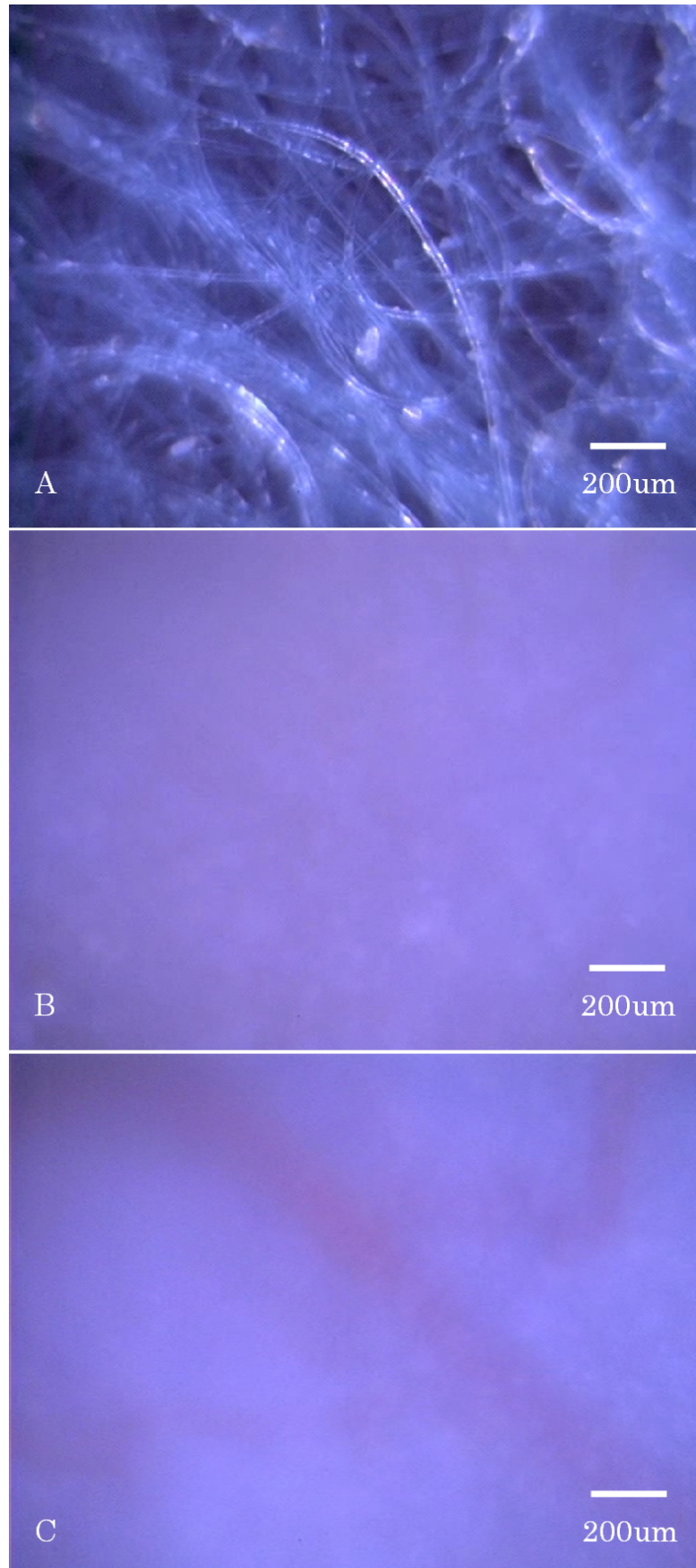


図 4-1-8 生体内での観察の様子 (A: 埋込直後 B:35 日目 C:50 日目)



図 4-1-9 Scaffold に新生した組織と一部残った Scaffold

#### 4.1.5 考察

実験の結果、プローブ型血管新生観察装置 (Type I) の Scaffold 中に血管・組織が新生しその様子を観察することができたが、問題点も明らかになった。

第一の問題点は、観察・記録した画像は不鮮明で、血管新生を観察するにあたって満足できる画質ではなかったことであった。画像の不鮮明な最大の問題点は焦点ずれであると考えられる。プローブ型血管新生観察装置 (Type I) の焦点設定は CCD ユニット密着させた Scaffold の繊維に焦点をあわせて埋め込みを行った。しかし、実験が進むにつれ Scaffold が加水分解されて生体組織が新生すると表面の深さに変化が生じ、観察対象である血管・組織から焦点がずれてしまったものと考えられる。この問題は焦点深度の長い光学系を設計するか、オートフォーカス機構を備えることで対応可能であると考えられた。次に、埋込後 50 日の画像では血管らしき像を得たが、赤血球を観察することはできず、血液の流れを観察することが出来なかった。より微細な領域を観察するためにはレンズを用いて倍率をあげる必要があるが、倍率があがると観察可能な視野範囲が狭まるという背反条件がある。したがって、Scaffold に新生する血管・組織を観察するために必要な倍率と視野範囲のバランス点を見いだす必要があった。また本システムは使用した CCD ユニットの特性上 CCD で受像した信号はアナログ信号として伝送される。その後体外でデジタル変換し、コンピュータで扱える画像データとしている。そのため信号変換時のノイズが生じる可能性がある。また伝送時のアナログ信号は

外部からのノイズ混入に対する耐性が低いことも検討すべき課題であった。

第二の問題点は、第3章の足場選定での実験に比べ、本実験では血管新生が誘導されるまでに要する時間が大きく、実験終了後に摘出した際には Scaffold が加水分解されずに一部が残存していたことであった。足場選定の際は Scaffold を生体組織面に対して平行に設置したのに対し、本実験では垂直に設置したことで Scaffold と生体組織の接触面積が小さくなり、血管の導入機会が減少したこと、設置安定度が低下したことが考えられ、これらの事から血管が新生されるに必要な時間の差が生じたと考えられた。