

臓器微小循環の生体内解析のためのセルフオックレンズ CCD 顕微鏡の開発と応用

梶谷 文彦, 矢田 豊隆, 平松 修, 木村 昭洋, 後藤 真己, 立花 博之,
小笠原康夫, 辻岡 克彦

レーザーの開発に始まる光エレクトロニクスの発展, 光 IC 技術の進歩など光技術はめざましい発展をし, さまざまな分野でその波及効果がみられている. 循環器分野でもしかりであり, 血流分野でも光エレクトロニクスの展開がみられている. われわれの研究課題である冠循環は, 心筋の栄養血管であるが, その血流障害の結果として, 狭心症や心筋梗塞を引き起こす. しかし, 心拍動に伴って冠血管も拍動しているので, これまでの方法では心筋内微小血管での血流や血管イメージは不可能であった.

そこで, 我々は, 新しく開発したニードル型 CCD (Charge Coupled Device) 顕微鏡 (日本光電と共同研究) を用いることによって, 初めて拍動下心内膜側微小血管の血管イメージングを得ることに成功し, 同部での血管動態評価が可能となった. 今日の結果を要約すると, 1) 心内膜側細動脈および細静脈の血管径は拡張末期から収縮末期にかけて約 20% 減少した. 2) 心内膜側細動・細静脈ともに血管径が小さいほど, 径の拍動変化が小さい傾向が見られた. 本法は他臓器にも応用可能であり腎微小循環, 口腔内微小循環の研究が進んでいる.

(平成 5 年 11 月 29 日採用)

Development and Application of CCD Videomicroscope with Gradient Index Lens for Intravital Analysis of Organ Microcirculation

Fumihiko Kajiya, Toyotaka Yada, Osamu Hiramatsu, Akihiro Kimura,
Masami Goto, Hiroyuki Tachibana, Yasuo Ogasawara and
Katsuhiko Tsujioka

Direct and continuous observation of subendocardial (deep myocardial) microcirculation provides essential information on coronary circulation, since cardiac contraction affects subendocardial vessels most vigorously. To achieve this aim, we developed a portable needle-probe video-microscope with a charge coupled device (CCD) camera to visualize the subendocardial microcirculation. Images of the subendocardial microcirculation of porcine beating heart were successfully observed in all cases. The vascular compression by cardiac contraction decreased the diameter of subendocardial arterioles and venules by about 20%. Renal and oral microcirculation is being investigated by our newly developed method. (Accepted on November

29, 1993) *Kawasaki Igakkaishi* 20 (1): 7-11, 1994

Key Words ① Videomicroscope ② Microcirculation
 ③ Coronary circulation ④ Subendocardial microvessels
 ⑤ Subepicardial microvessels

はじめに

レーザーの開発に始まる光エレクトロニクスの発展, 光 IC 技術の進歩など光技術はめざましい発展をし, さまざまな分野でその波及効果がみられている. 循環器分野でもしかりであり, 血流分野でも光エレクトロニクスの展開がみられている. われわれの研究課題である冠循環は, 心筋の栄養血管であるが, その血流障害の結果として, 狭心症や心筋梗塞をひきおこす. しかし, 心拍動に伴って冠血管も拍動しているので, これまでの方法では心筋内微小血管での血流や血管イメージは不可能であった. 筆者らは, 光技術を応用することにより, 冠微小血管血流計測や心内膜側微小血管イメージを得ることに成功した.

循環の血管径の変化を計測することが可能となった^{1)~3)}. しかし, 生理的な状態において, 収縮期に上昇した左室圧による冠血管圧迫作用は, 心内膜側の方が心外膜側に比べ強いことが知られている. また, 病的な状態である狭心症や心筋梗塞などの虚血性心疾患においても, 心内膜側の方が心外膜側に比べ虚血に陥りやすいことが知られている. このため, 心内膜側冠血管のイメージングは冠循環系の解析者にとっては一つの夢とされてきた. 最近, 筆者らは, 新しく開発したニードル型 CCD (Charge Coupled Device) 顕微鏡 (日本光電と共同研究) を用いることによって, 初めて拍動下心内膜側微小血管の血管イメージングを得ることに成功し, 同部での血管動態評価が可能となった^{4),5)}.

CCD 顕微鏡は, 光ファイバおよび CCD を用いてカメラプローブを観察したい部位に直接, 装着することにより, 容易にその部位の立体的拡大像を得ることができる^{6),7)}. また, CCD 装置の最も大きな特徴の一つは, ダイナミックな形

CCD 顕微鏡による血管径計測

近年, 生体顕微鏡の開発により心外膜側微小

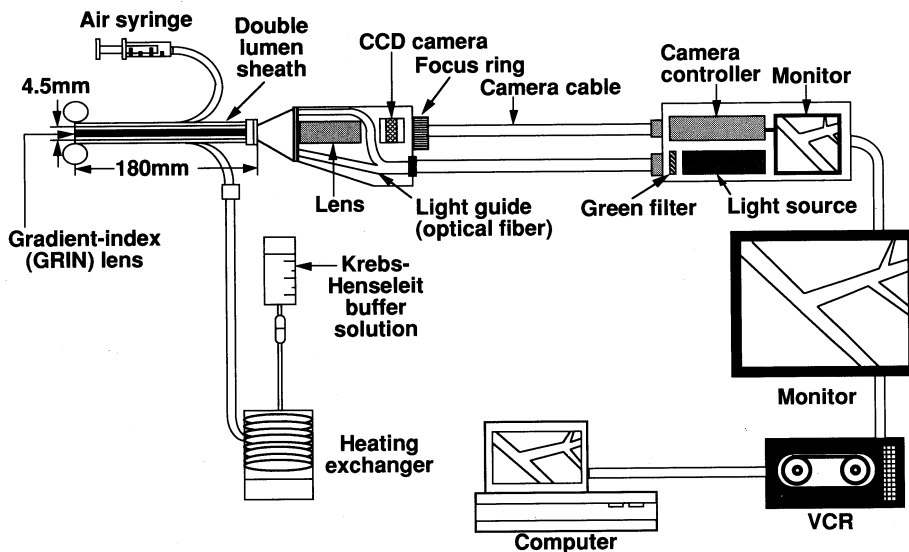


Fig. 1. System of the portable needle-probe video-microscope with a CCD camera

態変化をリアルタイムにとらえることが可能な点である。これにレンズの付いたニードルをカメラプローブの先端に付けることによって、心内膜側血管径の計測が可能となった。また、アクセス法の問題で、生体顕微鏡で計測が困難であった心臓の側壁や心尖部の測定も可能となった。

1. CCD 顕微鏡のシステム構成

Figure 1 は、CCD 顕微鏡のシステム構成を示す。CCD は本体ユニットとカメラプローブよりなり、さらにプローブの先端にニードルを取りつけた。ニードル内にあるレンズは Gradient - Index (GRIN) Lens で直径 4.5 mm、長さ 180 mm である。この GRIN レンズは円筒状で厚み変化はないが、中央部と周囲に屈折率の変化を持たせているため通常のレンズと同じ効果を持つ。ニードルの部分

には、血管を圧迫しないように先端にドーナツ型バルーンの付いた Double Lumen Sheath を付け、また、Sheath 内には、37度で加温された Buffer が流れる。これによって測定部位の生理的條件の維持と心室腔内の血液の排除が可能である。光源はハロゲンランプ (150W) を使い、光源より出た光は Green filter を通り、光ファイバを通してカメラプローブ先端のレンズ周囲にある集光ガイドに集められ被写体を照射する。この Green filter により、血管はより鮮明に描出可能となった。被写体像は対物レンズにより拡大され、CCD (約 25 万画素) に結像され、ここで電気信号に変換される。この電気信号は、テレビ信号に変換され、テレビモニター上に被写体像がリアルタイムに 200 倍または 400 倍に拡

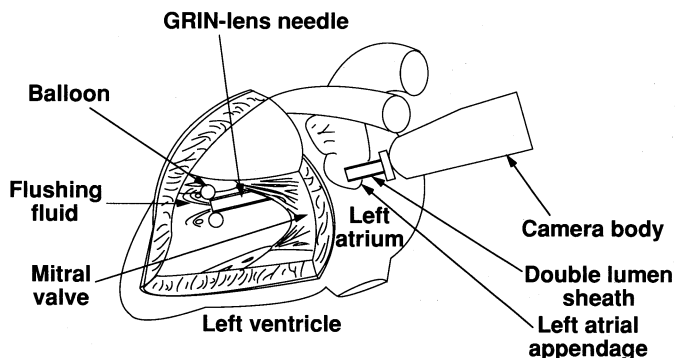


Fig. 2. Experimental preparation to obtain on access for the needle-probe to subendocardial microvessels

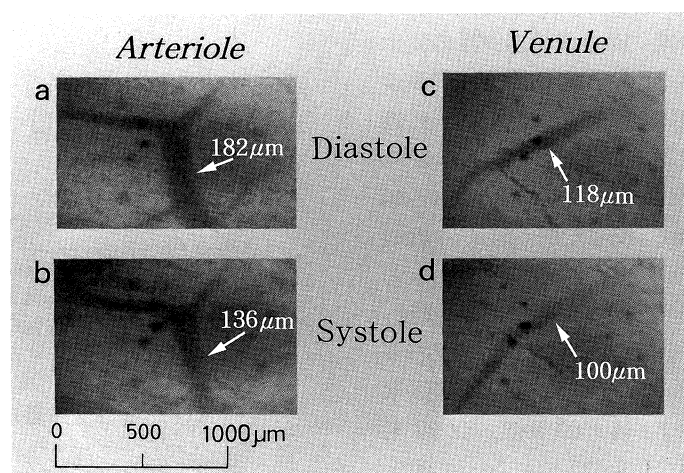


Fig. 3. Images of a subendocardial arteriole (left) and venule (right) in end-diastole (a and c) and end-systole (b and d)

大された映像が得られる。これをビデオデッキで録画後、最終的にコンピューターを使い、血管径の計測を行った。なお、この CCD 顕微鏡は、30 フレーム/秒の標準テレビ画面の転送機能を持つ。

2. 動物実験における計測結果

Figure 2 は、動物実験での心内膜側微小血管の血管径計測時の Setup を示す。これはわかりやすくするために左心室を切り開いた図である。CCD プローブのニードルの部分に、Double lumen のバルーン付きシースを付け、これを左心耳より僧帽弁を通して左心室内に挿入した。プローブの先端はバルーンを膨らませ、心内膜側の微小血管を圧迫しないように観察した。

Figure 3 は、心内膜側細動・静脈の拡張末

期と収縮末期の血管イメージを示す。心内膜側細動・静脈の血管径は、拡張末期から収縮末期にかけて減少した。しかし、収縮期にこれらの血管の虚脱は観察されなかった。極くまれに、segmentalな虚脱や、心内膜側細動静脈の部分的なpinchingやkinkingが観察された。

Figure 4は、心内膜側細動・静脈の拡張末期から収縮末期にかけての血管径の変化率を示す。心内膜側細動脈の血管径 (Fig. 4-A) は、拡張末期から収縮末期にかけて $24 \pm 6\%$ (拡張末期: $114 \pm 46 \mu\text{m}$, 収縮末期: $84 \pm 26 \mu\text{m}$, $p < 0.001$, $n = 13$) 減少し、心内膜側細静脈の血管径 (Fig. 4-B) は、拡張末期から収縮末期にかけて $17 \pm 4\%$ (拡張末期: $134 \pm 60 \mu\text{m}$, 収縮末期: $109 \pm 45 \mu\text{m}$, $p < 0.001$, $n = 15$) 減少した。これに比較して心外膜側細動脈の血管径 (Fig. 5-A) は、拡張末期から収縮末期にわずかに 2% 減少 (拡張末期: $169 \pm 12 \mu\text{m}$, 収縮末期: $166 \pm 12 \mu\text{m}$, $p < 0.01$, $n = 5$) するのみであった。一方、心外膜側細静脈の血管径 (Fig. 5-B) は、拡張末期から収縮末期にかけて 19% 増加 (拡張末期: $97 \pm 18 \mu\text{m}$, 収縮末期: $122 \pm 29 \mu\text{m}$, $p < 0.001$, $n = 8$) した。

Figure 6は、心内膜側細動・静脈の拡張末期から収縮末期にかけての血管拍動特性を比較的大きな細動・静脈 (内径 $> 100 \mu\text{m}$) と比較的小きな細動・静脈 (内径 $< 100 \mu\text{m}$) において比較したものである。比較的大きな細動・静脈は

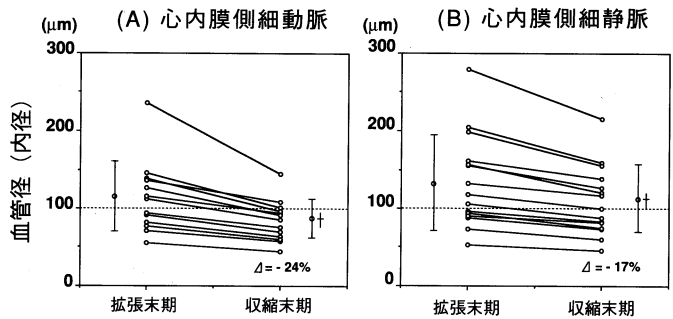


Fig. 4. Diameter change in subendocardial arterioles and venules from end-diastole to end-systole

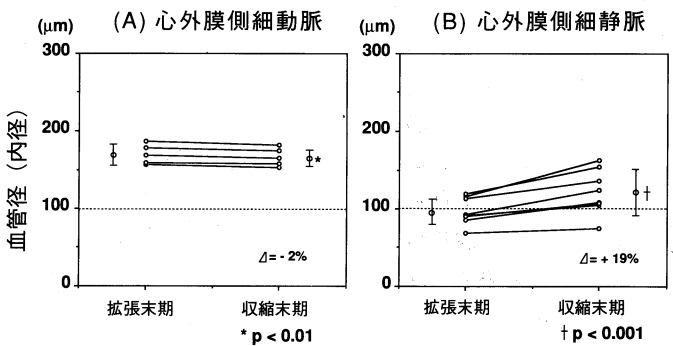


Fig. 5. Subepicardial arteriolar and venular diameter change during a cardiac cycle

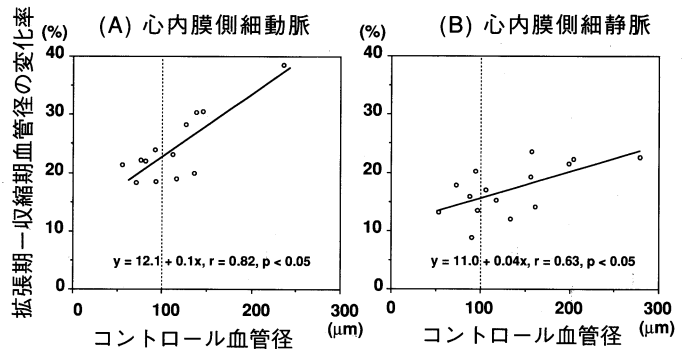


Fig. 6. Diastolic-to-systolic diameter changes in subendocardial arterioles and venules during a cardiac cycle plotted against their end-diastolic diameter

比較的小きな細動・静脈に比べ、大きな拍動変化率を示したが、統計的有意差を認めなかった。しかし、心内膜側細動・静脈の拡張末期の血管径と拡張末期から収縮末期への血管径の変化率を対比すると、両者の間に良好な正の相関 (細動脈: $r = 0.82$, 細静脈: $r = 0.63$, ともに $p < 0.05$) を示した。

結 語

CCD 顕微鏡を用いて心周期(拡張末期および収縮末期)における心内膜側細動・静脈の拍動特性を心外膜側細動・静脈の拍動特性と対比しながら解析, 評価した。結果を要約すると, 1) 心内膜側細動脈の血管径は拡張末期から収縮末期にかけて約20%減少したが, 心外膜側ではほ

とんど変化しなかった(約2%減少)。心内膜側細動脈径は拡張期から収縮期にかけて約20%血管径が減少したが, 心外膜側では逆に約20%増大した。2) 心内膜側細動・静脈ともに血管径が小さい程, 径の拍動変化が小さい傾向が見られた。

本研究に対して助成をいただいた川崎医科大学のプロジェクト助成に深甚の謝意を示します。

文 献

- 1) Ashikawa K, Kanatsuka H, Suzuki T, Takishima T: Phasic blood flow velocity pattern in epimyocardial microvessels in the beating canine left ventricle. *Circ Res* 59: 740-711, 1986
- 2) Chilian WM, Layne SM: Coronary microvascular responses to reductions in perfusion pressure. *Circ Res* 66: 1227-1238, 1990
- 3) Kurz MA, Lamping KG, Bates JN, Eastham CL, Marcus ML, Harrison DG: Mechanisms responsible for the Heterogenous coronary microvascular response to nitroglycerin. *Circ Res* 68: 847-855, 1991
- 4) Kajiya F, Goto M, Yada T, Kimura A, Yamamoto T, Hiramatsu O, Ogasawara Y, Tsujioka K, Yamamori S, Hosaka H: In vivo evaluation of endocardial blood vessels by a new needle-type CCD microscope. *Circulation* 84 (Supple II): II-271, 1991
- 5) Yada T, Hiramatsu O, Kimura A, Goto M, Ogasawara Y, Tsujioka K, Yamamori S, Ohno K, Hosaka H, Kajiya F: In vivo observation of subendocardial microvessels of the beating porcine heart using a needle-probe videomicroscope with a CCD camera. *Circ Res* 72: 939-946, 1993
- 6) 佐藤陽二, 澤田佑介, 加藤治文, 山森伸二, 中山 直: 新しいビデオ顕微鏡の開発と応用. *医のあゆみ* 153: 385-386, 1990
- 7) 山森伸二, 中山 直, 大野浩平, 鎗田 勝, 保坂栄弘, 佐藤陽二: 微小循環観察用ポータブルビデオ顕微鏡システムの開発および評価. *医用電子と生体工学* 28: 450, 1990