

Fig. 3 Concept of retinal vessel model with curved surface structure

を小さくすることはできるが、眼底血管のように血管が表面付近に存在し、マイクロカニューレ手術のように外部からのアプローチを考慮した作製はなされていない。

そこで本稿では、医師によるカニューレ訓練や実験条件の再現性を保証した上で眼科手術支援システムの定量的評価を行うため、フォトリソグラフィや水圧転写などの加工技術を利用して、実際の人間の眼底血管の物理特性・表面形状を模擬した円形断面を持つ眼底血管モデルの作製を行ったので報告する。図3に本稿のコンセプトを示す。

2. 物理特性の再現

眼底血管モデルの材料としてPDMSを使用した。PDMSは熱硬化性シリコンゴムであり、主剤と硬化剤の割合を調整することでヤング率や引き裂き強度などの物性値を調整することが可能である。本研究において手技評価の対象としているマイクロカニューレ手術ではマイクロピペットを用いて眼底血管に穿刺を行う。この際にピペットの穿刺性に大きく影響を与えるパラメータが、血管の脆さすなわち引き裂き強度と、血管の硬さすなわちヤング率である。Parkらは冠動脈縫合手術手技のトレーニングモデルとして血管モデルを作製しており、この手術手技は血管への穿刺を伴うものである。モデルを作製するに当たり医師による官能評価試験を行うことで、血管の引き裂き強度およびヤング率の再現が重要であることを明らかにし、引き裂き強度およびヤング率の値を手術対象となる血管に近付けることで実際の血管への穿刺性を再現している[10]。本研究でも血管モデルの作製において、引き裂き強度およびヤング率の再現が重要と考え、PDMSの混合比の調整を行うことで、引き裂き強度およびヤング率の調整を行った。我々が最終的に再現したい血管は網膜静脈であるが、この血管に対してこれら物性値の測定は行われていないため、今回はParkらが作製した血管モデルの引き裂き強度の値である $0.6 \pm 0.13 \text{ N/mm}$ とヤング率の値である $0.13 \pm 0.02 \text{ MPa}$ を目標値と定めた。

血管モデルの作製に使用するPDMSの混合比を決定するために引き裂き強度試験および引張試験を行った。引き裂き強度の測定用のPDMS試験片として、PDMSの硬化剤の混合比を10-66%に調整した試験片を作製した。

引き裂き強度およびヤング率の測定結果を図4、図5にそれぞれ示す。図中のラインが目標値と定めた引き裂き強度およびヤング率の値である。この結果から、PDMSの硬化剤の比率を66%に調整することでPDMSの引き裂き強度に関しては $0.68 \pm 0.05 \text{ N/mm}$ に調整することができ、目標値としていた $0.60 \pm 0.13 \text{ N/mm}$ に近付けることができた。また、ヤング率に関しては $0.14 \pm 0.08 \text{ MPa}$ に調整することができ、目標値としていた $0.14 \pm 0.05 \text{ MPa}$ に近付けることができた。

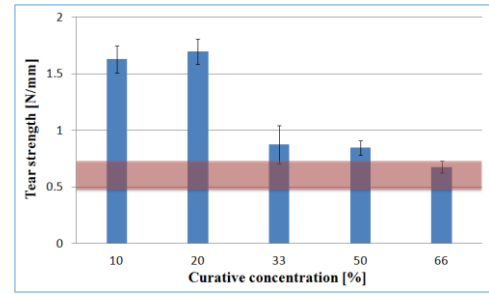


Fig. 4 Result of tear test

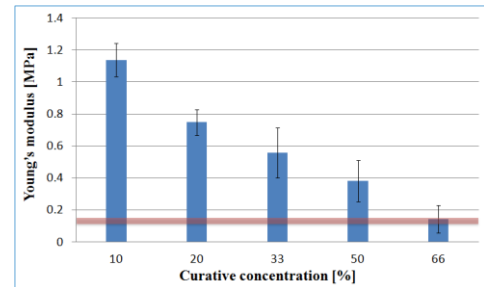


Fig. 5 Result of tension test

3. 円形断面の作製

円形断面形状を持つ血管モデルの作製について述べる。本研究で作製対象としている網膜静脈は網膜表面から深さ70-150 μm の位置に多く存在しており、この深さで円形断面を再現した血管モデルの作製を目指す。なお、深さとはモデルの表面から血管モデルの円形断面の中心までの距離とする。作製する血管は直径100 μm 、深さを70 μm とし、半円形状の断面を重ね合わせることで円形断面を作製する。半円形状の断面を持つレジストパターンはフォトリソグラフィプロセスによりシリコン基板上に作製する。

フォトリソグラフィプロセスにおいて、半円形状レジストパターンを作製する代表的な方法には、例えばリフロー法、グレイスケールリソグラフィ法、オーバー露光法がある。本研究では、工程が容易であるリフロー法を選択した。リフロー法は図6に示す流れで半円形状パターンを作製する方法である。まず、フォトリソグラフィプロセスでレジストパターンを作製し、現像後、ホットプレートによって下部からハードベイク温度で加熱することでレジストを再び液状にする。この液状の時に、表面張力によってレジストが球面構造になり、冷却して再び固まることで半円形状レジストパターンが作製される。この際のレジストパターンの直径はリフロー処理前のレジストパターンの幅と考えるものとする。この方法は、表面張力によって球面を作製するため、パターンの形状特に高さの制御が難しくなる。ただしこの問題は、レジストをスピコートで塗布する条件調整である程度解決できる。

続いて、フォトレジストの膜厚について説明する。使用するフォトレジストとしてはポジ型フォトレジストであるPMER P-LA900PMを用いた。このレジストをスピコート

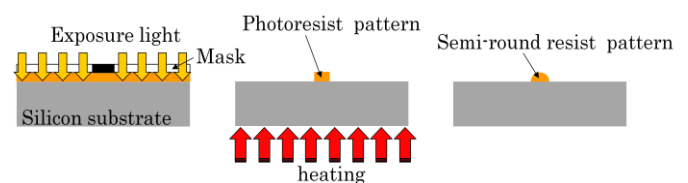


Fig. 6 Reflow method

することで目標とする膜厚を得る。作製目標とする血管モデルの直径は 100 μm であるため、レジストパターンはその直径の半円形の断面形状を持つ必要がある。図 7 に示すようにリフロー処理を行う前のレジストパターンの高さを h 、幅(直径)を d とすると次式の関係が成り立つ。

$$h = \frac{\pi d}{8} \quad (1)$$

この式から直径が 100 μm となるレジストパターンの高さを算出すると 39.3 μm であり、この膜厚になるようレジストのスピコートを行う。

リフロー法を用いて作製した半円形状のレジストパターンを PDMS に転写したものの断面図を図 8 に示す。高さ 49.5 μm 、幅 101.3 μm 、真円度 0.98 の半円形状を持つレジストパターンを作製することができた。

4. 曲面構造の作製

曲面構造の作製には水圧転写法を用いる。水圧転写法とは、工業的に用いられている曲面印刷技術の一つである。図 9 のように特殊フィルムを水面に浮かべた後、被転写体をその上方から押し入れることにより、表面張力や水圧を利用して成形体表面に模様層を転写する方法である。この方法を用いることにより、三次元曲面を有する形状の成形体に均一に模様を転写できる[11]。本研究では PDMS 薄膜を被転写体に転写することで曲面形状を持つ眼底血管モデルを作製する。PDMS 薄膜を転写する被転写体として、三次元光造形機を使用して光硬化性樹脂製の構造体を作製する。構造体は半径 12 mm の半球を有している。一般的な水圧転写においては、薄膜もしくは構造体に接着剤が塗布されており、それによって水圧転写後の薄膜と構造体は接着される。しかし、今回の血管モデルの作製では構造体に転写した PDMS 薄膜を剥離させる工程を含んでいるため、接着材を使用することができず、また、PDMS 薄膜と構造体は接着性がよくなく、そのままでは水圧転写を行うことができない。そこで PDMS の接着性を利用することとした。硬化剤と主剤の割合を 1 : 40 で作製した粘着性の高い PDMS をディップコートにより樹脂構造体にコーティングし、構造体と PDMS 薄膜の接着性をよくしたうえで水圧転写を行うこととした。

流路の深さの調整は、PDMS を 2 回に分けてスピコートして PDMS 薄膜を作製することで行う。レジストパターンを PDMS 薄膜に転写する際、あらかじめ犠牲層上にスピコートにより厚さ 20 μm の PDMS 薄膜を作製し、その上にさらに

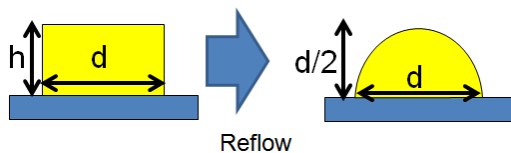


Fig. 7 Change in shape by reflow process

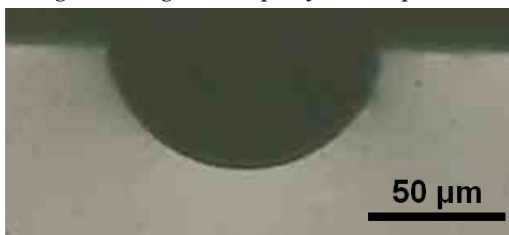


Fig. 8 Cross-section of microchannel by reflow method

PDMS をスピコートし、高さ 50 μm のレジストパターンを転写することにより深さが 70 μm となる PDMS 薄膜が作製される。

以上を踏まえて血管モデルの作製を行う。加工手順を下記に記す (図 10)。

1. シリコン基板上に PMER をスピコート。
2. 流路形状を持ったフォトマスクを用意し、露光。
3. PMER の現像液を用いて現像。純水を用いてリンス。
4. 基板を 145 $^{\circ}\text{C}$ で 60 秒間加熱することで、リフロー処理。
5. PDMS 構造体を作製。
6. PDMS 構造体に LOR5B をスピコートし、犠牲層を形成。
7. 犠牲層上に PDMS をコートし、荷重をかけつつ 85 $^{\circ}\text{C}$ のオーブンで加熱し、PDMS 薄膜にレジストパターンを転写。
8. 手順 6,7 を繰り返すことで PDMS 薄膜を 2 枚作製する。
9. 2 枚の PDMS 薄膜に酸素プラズマ処理を施し、その面を合わせて接着する。これにより円形断面の流路を形成。
10. パターンが転写された箇所の PDMS 構造体を切り抜く。
11. 犠牲層を除去し、流路が形成された PDMS 薄膜を得る。
12. 流路が形成された PDMS 薄膜を水面に浮かべ、樹脂構造体を 1 mm/s で降下させ、水圧転写を行う。
13. PDMS 薄膜を曲面形状で固定するために薄膜下部を PDMS に付けて硬化させる。
14. 構造体から PDMS モデルをはがす。
15. PDMS モデル下部にチューブ接続用の流路を形成。
16. パンチで穴をあけ、下部流路と上部の血管を模擬した流路を接続。
17. 樹脂構造体に Polyvinyl alcohol(PVA)と PDMS をディップコートし、犠牲層と PDMS 薄膜を形成。

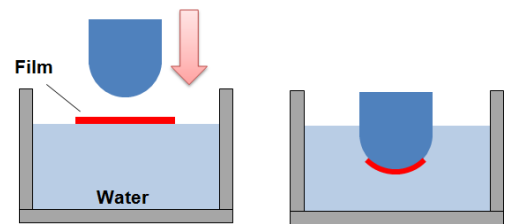


Fig. 9 Conceptual diagram of water transfer printing

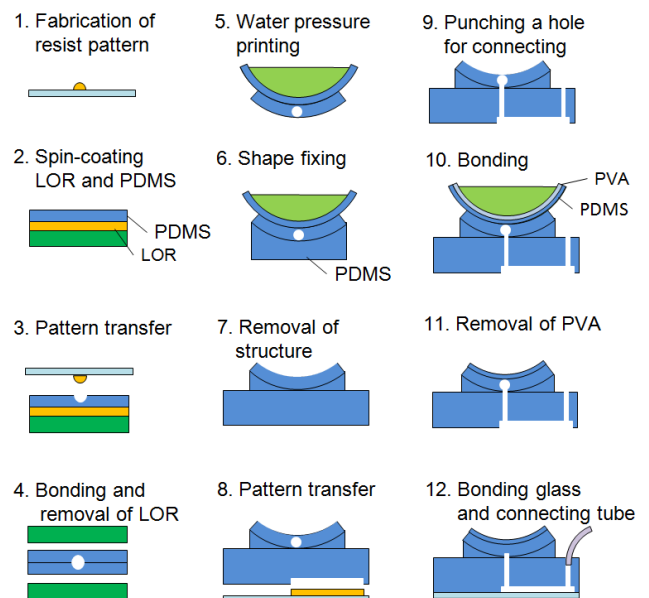


Fig. 10 Fabrication flow

18. 曲面形状をもつ PDMS モデルと PDMS 薄膜の表面に酸素プラズマ処理を施し、その面を合わせて接着。
19. PVA を除去することで、PDMS 薄膜を構造体から剥離。
20. PDMS モデル下部とガラス基板の表面に酸素プラズマ処理を施し、その面を合わせて接着し、下部流路のシール。
21. モデルにチューブを接続し血管モデルの完成とする。

図 11 に作製した血管モデルを示す。また、血管モデルを切り開いて、モデル断面を露出させ、顕微鏡下で断面を観察した。図 12(a)に示すとおりモデルは曲面構造を有していることがわかる。その曲率半径は 12.23 ± 0.47 mm であり、目標としていた 12 mm に近い値となった。

続いて流路断面を顕微鏡下で観察した。図 12(b)に示すとおり上部の PDMS 薄膜は高さ 50.9 μ m、幅 99.4 μ m の半円形状で、上部の PDMS 薄膜は高さ 51.1 μ m、幅 101.7 μ m の半円形状であった。真円度を計算すると、作製した血管モデル断面の短軸の長さは 97.8 μ m、長軸の長さは 102.5 μ m であるので、真円度は 0.95 になる。この値は、前節において作製した円形血管モデルの真円度と同程度であることから十分に高い値と考えられる。また、モデル表面から円形断面の中心までの深さは 72.5 μ m であり、目標としていた深さに近い深さで作製することができた。

次に、モデルに接続したチューブから下部流路を経由してモデル内に流体を導入し、続いて流路内に着色したエタノールを導入し、モデル内で液体の漏れがないことを確認した。

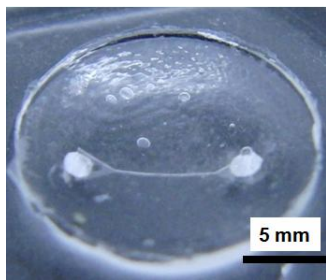


Fig. 11 Outside drawing of eyeground vessel model

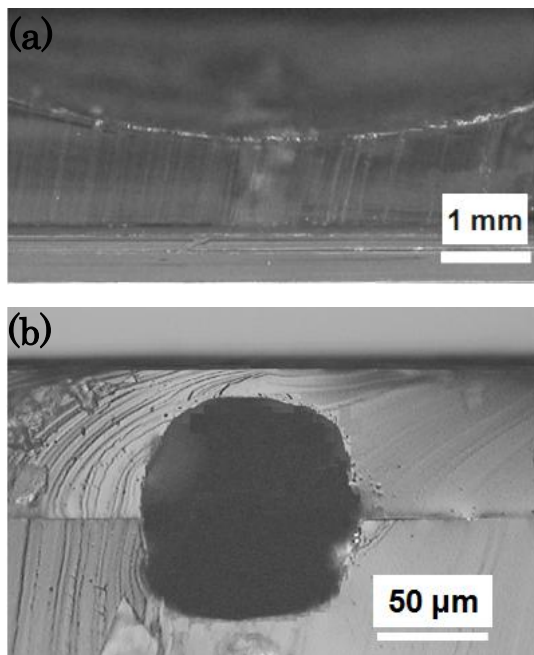


Fig. 12 (a) Cross-section image of vessel model with curved surface, (b) Cross-section image of microchannel

5. 結言

本稿では、円形断面形状を持ち、かつ網膜を模擬した曲面構造を有する直径 100 μ m の血管モデルの作製を行った。血管への穿刺の際に重要とされる物性値である引き裂き強度とヤング率を PDMS の主剤と硬化剤の混合比を調整することで再現することができた。また、円形断面の作製には半円形状のレジストパターンを転写した PDMS 薄膜を重ね合わせることで円形断面を作製し、作製した PDMS 薄膜を水压転写により曲面形状の流路を得る方法を提案してモデルの作製を行った。この方法を用いることで、人眼の網膜の曲率半径を模擬した曲面構造を有し、流路断面の短軸の長さは 97.8 μ m、長軸の長さが 102.5 μ m、真円度が 0.95 となる円形断面をもち、流路の深さが 72.5 μ m 円形血管モデルを作製することができた。さらに、このモデルにチューブを接続して流路内に液体を漏れなく導入することも確認できた。

今後は、流路の形状を実際の網膜静脈に見立てて複雑化する。これはパターンを変えるだけで実現は容易である。また、作製した血管モデルを用いて、医師によるカニューレーション訓練や顕微鏡下眼科手術支援ロボット・システムの定量的評価を行っていく。

文 献

- [1] W. M. Tang and D. P. Han, "A Study of Surgical Approaches to Retinal Vascular Occlusions", *Arch Ophthalmol*, Vol. 118, No. 1, pp. 138-143, 2000.
- [2] Singhy, S.P.N. "Physiological tremor amplitude during retinal microsurgery", *Bioengineering Conference*, 2002. *Proceedings of the IEEE 28th Annual Northeast*, pp. 171-172, 2002.
- [3] Uneri A, Balicki MA, Handa J, Gehlbach P, Taylor RH, Iordachita I, "New steady-hand eye robot with micro-force sensing for vitreoretinal surgery", *Proc IEEE RAS EMBS Int Conf Biomed Robot Biomechatron*, pp.26-29, 2010.
- [4] Y. Ida, N. Sugita, T. Ueta, Y. Tamaki, K. Tanimoto and M. Mitsuishi, "Microsurgical Robotic System for Vitreoretinal Surgery", *International Journal of Computer Assisted Radiology Surgery*, Vol. 7, No. 1, pp. 27-34, 2012.
- [5] Becker BC, Voros S, Lobes LA, Handa JT, Hager GD, Riviere CN, "Retinal Vessel Cannulation with an Image-guided Handheld Robot", *Proceedings of International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, pp. 5420-5423, 2010.
- [6] N. Stergiopoulos, D. F. Young and T. R. Rowe, "Computer Simulation of Arterial Flow with Applications to Arterial and Aortic Stenoses", *Journal of Biomechanics*, Vol. 25, No. 12, pp. 1477-1488, 1992.
- [7] J. Fuchsa, S. W. Warmanna, P. Szavaya, H. J. Kirschner, J. F. Schäfer, A. Hennemuth, H. G. Scheel-Walter, H. Bourquain, H. O. Peitgen, "Three-dimensional Visualization and Virtual Simulation of Resections in Pediatric Solid Tumors", *Journal of Pediatric Surgery*, Vol 40, No. 2, pp. 364- 370, 2005.
- [8] S. Ikeda, F. Arai, T. Fukuda, M. Negoro, and K. Irie, "An in Vitro Patient-tailored Biological Model of Cerebral Artery Reproduced with Membranous Configuration for Simulating Endovascular Intervention", *Journal of Robotics and Mechatronics*, Vol. 17, No. 3, pp. 327-334, 2005.
- [9] T. Nakano, T. Itoyama, K. Yoshida, Y. Sawada, S. Ikeda, T. Fukuda, T. Matsuda, M. Negoro and F. Arai, "Multiscale Fabrication of a Transparent Circulation Type Blood Vessel Simulator", *Biomicrofluidics*, Vol. 4, No. 4, pp. 046505-1-10, 2010.
- [10] Y. Park, M. Shinke, N. Kanemitsu, T. Yagi, T. Azuma, Y. Shiraishi, R. Kormos, M. Umezu, "A Surgical Training Simulator for Quantitative Assessment of the Anastomotic Technique of Coronary Artery Bypass Grafting", *13th International Conference on Biomedical Engineering, IFMBE Proceedings*, Volume 23, 2009, pp 1179-1182.
- [11] Taisuke Masuda, Yuka Yamagishi, Natsuki Takei, Hirofumi Owaki, Michiya Matsusaki, Mitsuru Akashi and Fumihito Arai, "Three-Dimensional Assembly of Multilayered Tissues Using Water Transfer Printing", *Journal of Robotics and Mechatronics*, Vol.25, No.4, pp. 690-697, 2013.