

原 著

エキシマレーザーの血管形成術への応用に関する基礎的研究

京都大学医学部心臓血管外科学教室 (指導: 伴 敏彦教授)

岡 林 均

〔原稿受付: 平成2年8月6日〕

Experimental Study of Application of Excimer Laser to Laser Angioplasty

HITOSHI OKABAYASHI

Department of Cardiovascular Surgery, Faculty of Medicine, Kyoto University

The possible application of excimer laser to laser angioplasty was studied. In the first experiment, the ablative effects of excimer laser at wavelengths of 248 nm and 308 nm on the pig myocardium were examined in vitro at an air-tissue interface. Crater depth increased with total delivered energy and energy per pulse. Very clear cuts could be observed by histological examination. There was no evidence of thermal damage at a wavelength of 248 nm, at 10 pps. Above 10 pps, a thin bordering zone of suspicious thermal damage was noted with the wavelengths of 248 nm and 308 nm. Thermal damage increased with pulse repetition rate. In the second experiment, the effects of excimer laser irradiation on blood were examined. Five vials, each of which contained 3 ml of blood, were exposed to 37.5 mJ laser beam at 10 pps in repetition rate for 10, 20, 30, 40, 50 seconds. One vial was left untreated as a control. No change in hematocrit value was observed after excimer laser irradiation. In contrast, the level of plasma free hemoglobin rose progressively with each increased duration of exposure. This result indicates that the lysis of erythrocytes does not occur in the laser-exposed cells. However, the damage to erythrocyte membrane took place as it was evidenced by progressive hemoglobin leakage into plasma. In the third experiment, the excimer laser was coupled to a 400  $\mu$ m quartz optical fiber and the laser energy transmitted through the fiber was measured. At a wavelength of 308 nm, pulse energies up to 9 mJ were noted at the tip of the fiber. At a wavelength of 248 nm, the fiber tip was destroyed. In the fourth experiment, acute and chronic healing responses of normal canine arteries to excimer laser irradiation were studied in 4 mongrel dogs. The artery healed completely at the 18th day after the excimer laser irradiation. There was no evidence of thrombus formation and intimal hyperplasia in these arteries. The results suggest the applicability of excimer laser to laser angioplasty.

Key words: Excimer laser, KrF, XeCl, Ablation, Quartz fiber

索引語: エキシマレーザー, フッ化クリプトン, 塩化キセノン, 蒸散, 石英ファイバー.

Present address: Department of Cardiovascular Surgery, Faculty of Medicine, Kyoto University 54, Kawaramachi, Shogo-in, Sakyou-ku, Kyoto 606, Japan.

### 緒 言

虚血性心疾患や閉塞性動脈硬化症に対する治療法として、1960年代後半に Dotter<sup>1)</sup>、Grüntzig<sup>2)</sup>により閉塞性病変を拡張する試みが導入された。それ以後 PTCA (percutaneous transluminal coronary angioplas-

ty), PTA (percutaneous transluminal angioplasty) 等の balloon angioplasty が盛んに行われるようになってきた。しかしながら、1970年代になると、長い狭窄性病変や完全閉塞病変に対する、この方法の限界および intimal hyperplasia による、比較的早期の再狭窄の発生などが明らかになった。PTCA および PTA はアテ

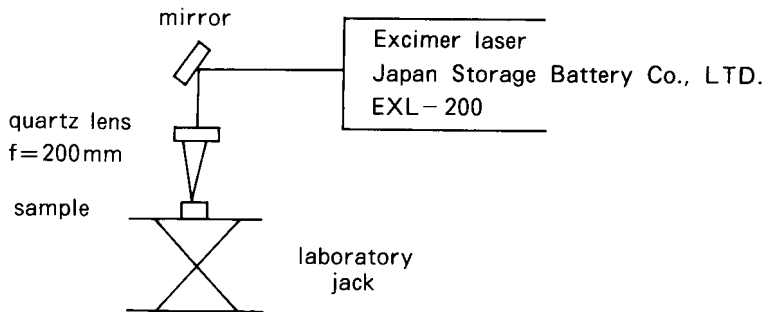
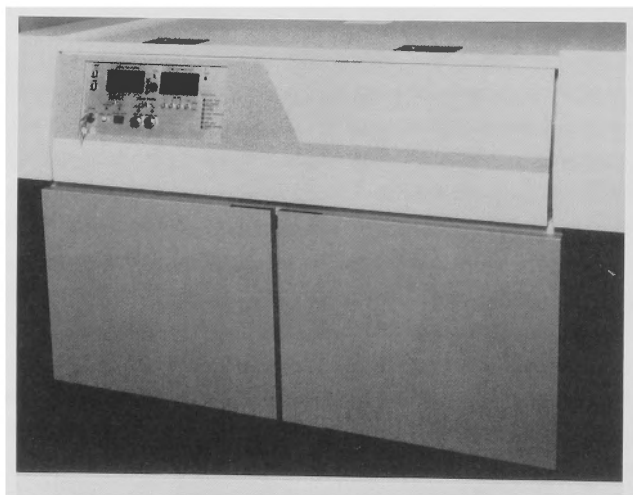


図1 エキシマレーザーの照射システム



エキシマレーザー EXL-200

ガス	KrF	XeCl
発振波長	248 nm	308 nm
パルスエネルギー	200 mJ	150 mJ
パルス幅	20 ns	20 ns
繰り返し周波数	100 pps	100 pps
平均出力	12 W	10 W
ビームサイズ	14×25 mm	14×25 mm

図2 エキシマレーザー EXL-200 の仕様

ロームをバルーンで圧縮させることにより、内腔拡大をはかるものであり、そこに治療法としての限界があるように思われる。1980年代になり、完全閉塞病変や長い狭窄性病変に対し、レーザーを用いる試みがなされるようになってきた<sup>3,4)</sup>。レーザーを用いた血管形成術が balloon angioplasty と異なる点は、アテロームを蒸散させ、内腔拡大をはかる点にある。レーザーのなかでも、特に熱損傷の少ないといわれているエキシマレーザーに着目し、以下の基礎的実験を行った。まず最初に、波長の異なる2種類のエキシマレーザー、KrF (248 nm), XeCl (308 nm) を用い、それぞれの波長の組織蒸散能とパルスエネルギー、パルス数、繰り返し周波数との関係を明らかにするため、豚心筋を用いて照射実験を行なった。同時に周囲組織に与える熱損傷についても検討した。次に血管形成術を想定した場合、血液にも照射する可能性がある点を考慮し、血液に対する影響をみるため、血液サンプルへの照射を行ない、ヘマトクリット値、血漿遊離ヘモグロビン値の変化について検討した。さらに、血管形成術への応用のためには、ファイバーへの導光が前提となるため、導光システムを考案し、エネルギー伝送実験を行なった。血管内で照射した場合、アテロームのみならず、正常組織への照射も、ある程度避けられないことから、雑種成犬の正常動脈壁に対し照射を行ない、その治療過程についても観察した。これらの実験より、エキシ

マレーザーの血管形成術への応用の可能性について検討したので報告する。

### I. エキシマレーザーの組織蒸散能および熱損傷に関する実験

#### 1-1. 対象と方法

対象：屠殺場にて入手した豚の心筋を、心外膜面が約1 cm × 1 cm となるような心外膜面より心内膜面に至る柱状のブロックに切断し、試料とした。

方法 日本電池社製エキシマレーザー EXL-200 を用い、誘電体多層膜ミラー (XeCl), MgF<sub>2</sub> コーティングアルミニウムミラー (KrF) にて水平方向のレーザー光を垂直方向に方向転換した後、焦点距離 200 mm の合成石英レンズで focused beam とし、試料に照射した(図1)。照射部位の大きさは 2 × 0.8 mm であった。

ガスは XeCl (308 nm), KrF (248 nm) を使用した(図2)。

#### 1-2. 評価方法

① 照射した標本は10%ホルマリン液で固定した後、穿通した穴に平行に縦切し、ヘマトキシリン・エオジン染色を行ない、蒸散された深さおよび肉眼的変化、組織学的変化について検討した。

② 照射した標本を1.5%グルタルアルデヒド液に24時間浸漬し固定した後、0.15 M カコジル酸で洗浄し、1%オスミウム酸に2時間浸漬し、60%, 70%,

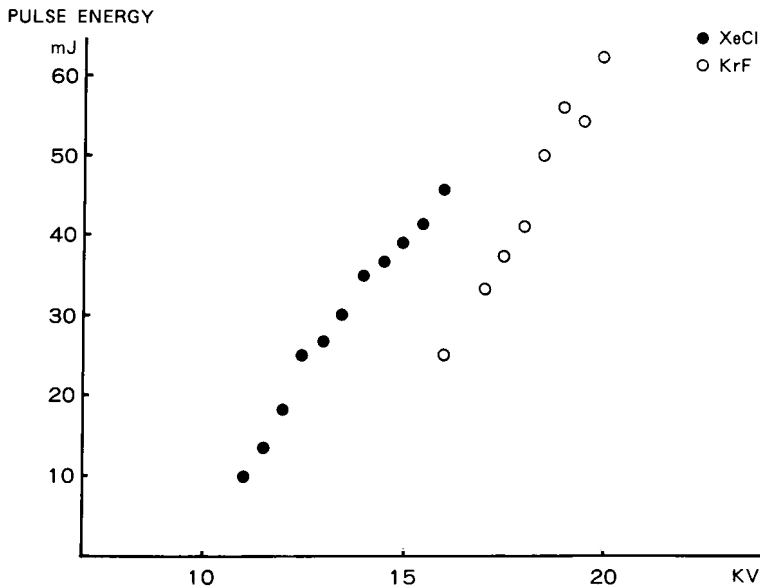


図3 エキシマレーザーのパルスエネルギー

80%, 90%, 99%, 無水エタノール溶液により脱水した。臨界点乾燥を日立製 HCP-1 で行ない、金パラジウム蒸着処理を行った後、HITACHI S-450X EDX SEM で観察した。

1-3. 結果

肉眼的所見の検討

① パルスエネルギーと蒸散された組織の深さ

KrF では 16 KV の電圧よりレーザーの発振が得られ、XeCl では 11 KV の電圧よりレーザーの発振が得られた。得られるパルスエネルギーは XeCl 10-45.8 mJ, KrF 25-62.5 mJ であり、KrF の方が高かった (図 3)。KrF 群は 20 PPS, 500 shots, XeCl 群は 20 PPS,

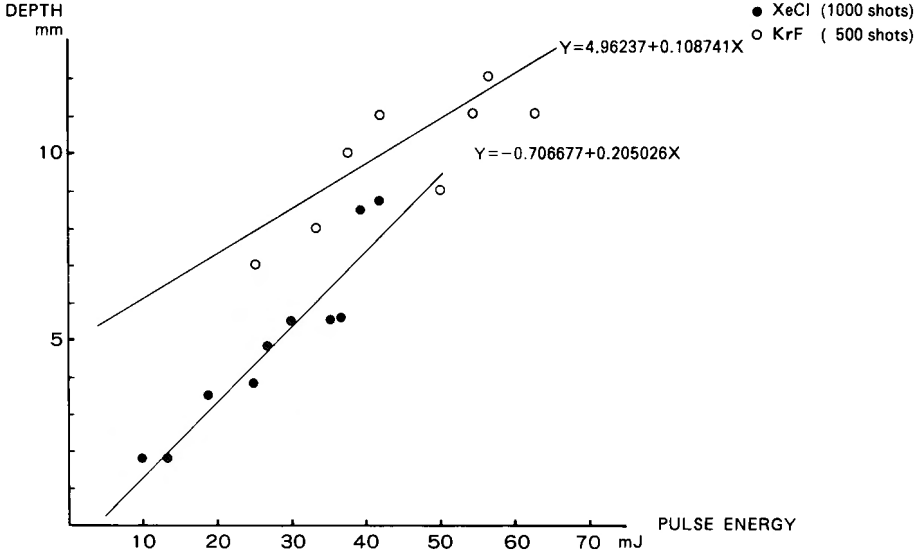


図4 パルスエネルギーと蒸散された組織の深さ (XeCl, KrF ともに 10 pps で照射)

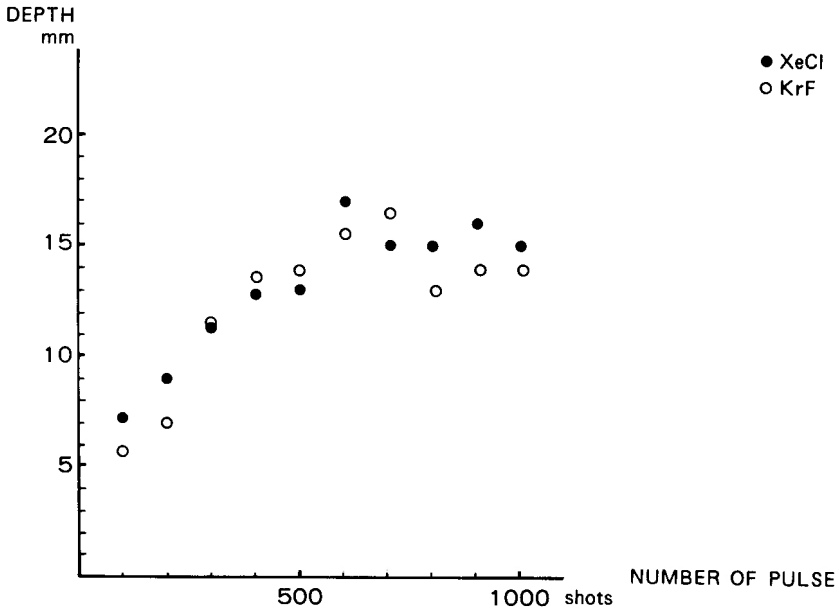


図5 照射回数と蒸散された組織の深さ (XeCl, KrF ともに 50 mJ, 20 pps で照射)

1000 shots の条件で照射した。両群ともパルスエネルギーの増加ともない、深さの増加が得られたが、KrF は XeCl の半分のパルス数でも、蒸散された組織の深さは XeCl より深く、特に、低いエネルギーレベルで KrF の蒸散能力が大きかった (図 4)。

② 照射回数と蒸散された組織の深さ

パルスエネルギーを比較的高い 50 mJ, 繰り返し周波数を 20 PPS に固定し、照射回数のみを変化させると、蒸散された組織の深さは XeCl, KrF の両群間に差はなく、600回までは照射回数の増加に比例して増加した (図 5)。一回あたりの照射による蒸散の深さは、照射回数が増加するにしたがい、減少しており、600回以上では深さの増加がみられなくなった。その理由としては、レーザー光の焦点を心筋の表面に設定しているため、焦点より離れるにしたがって、エネルギー密度が減少し、蒸散能が低下するためと思われる (図 6)。

③ 照射繰り返し周波数と蒸散された組織の深さ

パルスエネルギーを 50 mJ に固定し、照射回数を 500回とし、繰り返し周波数を 10 PPS から 80 PPS まで変化させると、50 PPS までは両群とも繰り返し周波数の増加に伴い、深さの増加がみられたが、50 PPS を超えるとプラトーに達した (図 7)。50 PPS を超えると、深さは 15 mm まで達し、照射焦点よりかなり離れるため、エネルギー密度減少の影響がでてくるものと思われる。エキシマレーザーの作用機序は、従来、photochemical と言われてきたが、繰り返し周

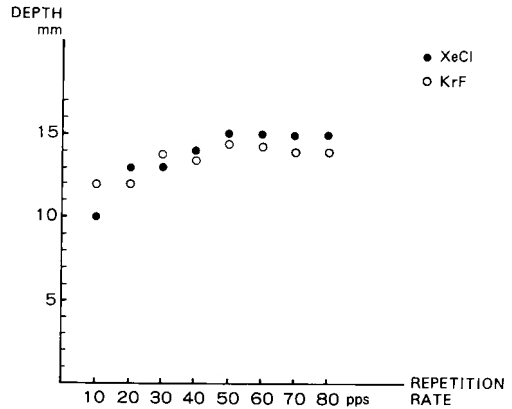


図 7 照射繰り返し周波数と蒸散された組織の深さ (XeCl, KrF ともに 50 mJ, 500 shots 照射)

波数の影響を受けていることから、photothermal な作用機序も関与しているものと思われる。

④ 繰り返し周波数と熱損傷

パルスエネルギーを 50 mJ, 照射回数を 500回に固定し、繰り返し周波数を 10 PPS から 80 PPS まで 10 PPS 毎に変化させ照射した際の、変色した部分の計測を行った (図 8)。XeCl 群では 40 PPS 以上で、KrF 群では 60 PPS 以上で、急激な変色範囲の増加を認めた。しかし KrF 群 10 PPS では、ほとんど変色部分を認めず、周囲組織に対する影響は XeCl 群に比べ少なかった (図 9)。

組織学的検討

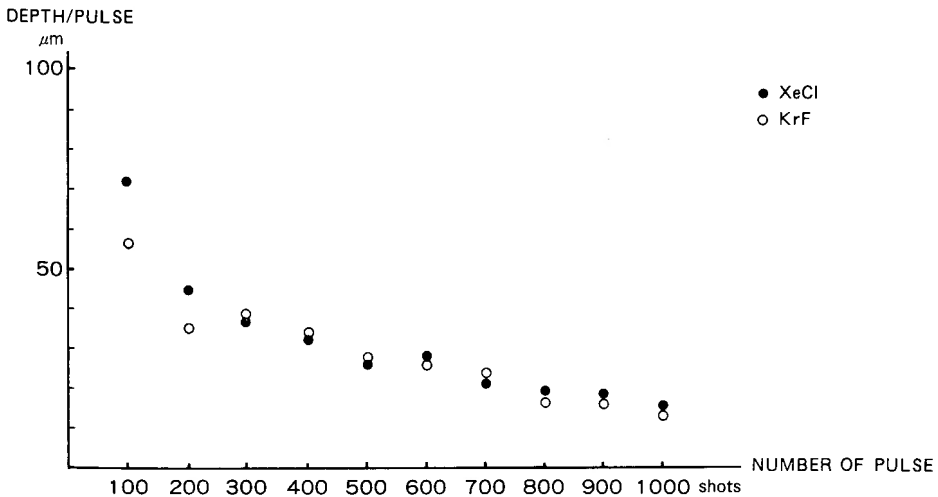


図 6 一回照射による組織蒸散の深さ



図8 エキシマレーザー照射後の肉眼的所見  
上段は XeCl 群, 下段は KrF 群, 左は 30 pps, 右は 40 pps  
XeCl 群では穴に沿って白色に変色した部分が明らかに認められる

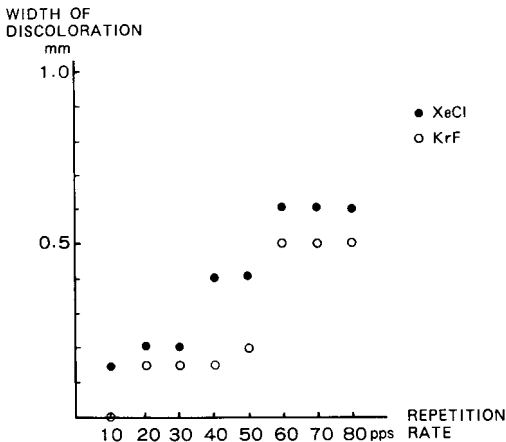


図9 照射繰り返し周波数と熱損傷  
(XeCl, KrF ともに 50 mJ, 500 shots 照射)

XeCl, KrF の両群とも鋭利な辺縁を示し, 炭化層はみられなかった。しかし照射面付近では, エオジン好性に一様に染まる層および核の濃縮がみられ, その外

側には fragmentation を生じた組織の debris を認め, その範囲は XeCl 群において広く認められた (図10)。走査電顕による観察

レーザーにより穿孔された組織欠損部は, 組織の charring もなく約  $2 \times 0.8$  mm の穴が観察された (図11)。

#### 1-4. 小括

① エキシマレーザーは周囲組織に対する熱損傷が少なく, 確実な組織の蒸散が可能であった。KrF と XeCl を比べると, KrF の方が蒸散能力が高く, 特に, パルスエネルギーの低いレベルで顕著であった。

② 熱損傷に関しては, 波長の短い KrF の方が XeCl に比べ軽度であった。照射繰り返し周波数を増加させると, KrF は 50 PPS, XeCl は 30 PPS を超えると急に熱損傷の範囲が広がった。

③ このような点から, KrF は 50 PPS まで, XeCl は 20-30 PPS の条件であれば, 血管形成術に適したレーザーと思われる。

## II. 血液に対する照射実験

### 2-1. 対象と方法

エキシマレーザー EXL-200 を用い, ガスとしては, KrF (248 nm) と XeCl (308 nm) を用いた。アルミウムコーティングミラーおよび焦点距離 200 mm の合成石英レンズを用い, 集光した後, スナップバイアルに入れた新鮮 CPD 血 3 ml に照射した (図12)。照射焦点は血液の液面とした。照射条件は 37.5 mJ, 10 PPS とし, 無処置群, 100 shots, 200 shots, 300 shots, 400 shots, 500 shots 照射の 6 群とした。これら 6 群の他に 100 shots および 200 shots 照射後, 血液を攪拌し, さらにそれぞれ 100 shots, 200 shots 照射した群を加えた。照射後すぐにヘマトクリット値を測定した後, 血漿分離を行い, 血漿ヘモクロビン測定用に検体を採取した。測定は同一血液より 5 検体を採取し測定した。なお, KrF 群と XeCl 群の実験には異なった血液を使用した。

### 2-2. 結果

ヘマトクリット値の変化 (図13)

KrF 群 無処置群  $42 \pm 0\%$ , 100 shots 群  $42.0 \pm 0.05\%$ , 200 shots 群  $42.0 \pm 0.04\%$ , 300 shots 群  $42.0 \pm 0.04\%$ , 400 shots 群  $42.0 \pm 0.12\%$ , 500 shots 群  $42.0 \pm 0.12\%$  であり, ヘマトクリット値の変化はほとんどみられなかった。100+100 shots 群は  $42 \pm 0.07\%$ , 200+200 shots 群は  $42.0 \pm 0.08\%$  であり, 攪拌の影響

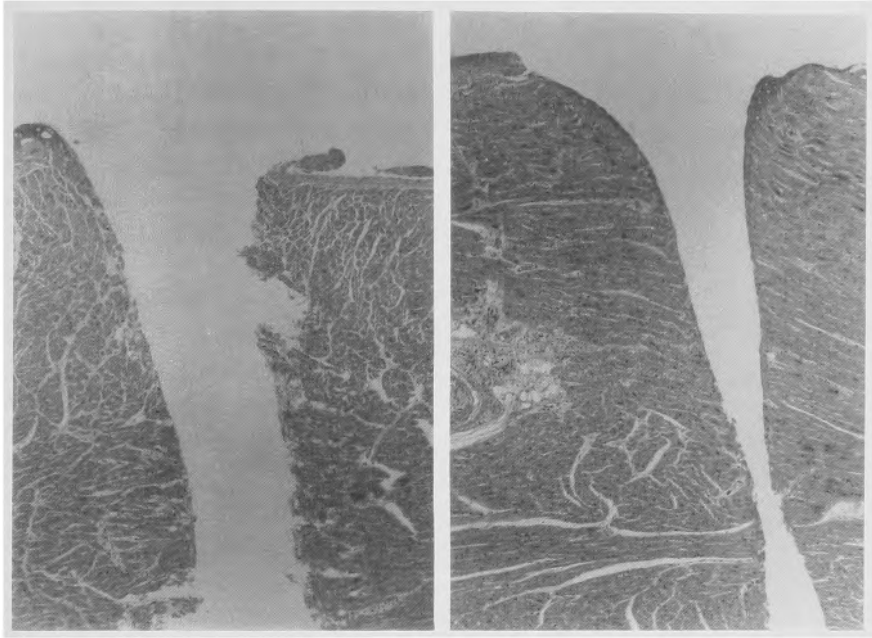


図10 エキシマレーザー照射後の組織所見

H. E. 染色 13.2倍 左 XeCl 群, 30 pps 右 KrF 群, 30 pps

両群とも鋭利な辺縁を示し, 炭化層は認められない. 入射面付近では, 核の濃縮, fragmentation を生じた組織の debris を認め, その範囲は XeCl 群において広く認められた.



図11 エキシマレーザー照射後の走査電顕所見 (40倍)

レーザーにより蒸散された組織欠損部は組織の charring もなく, 約  $2 \times 0.8$  mm の穴が観察される.

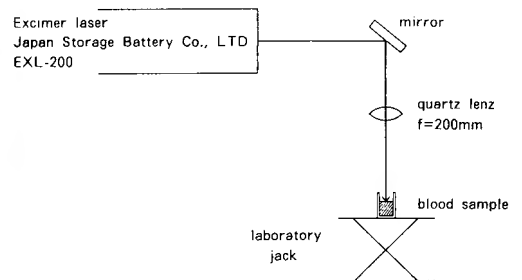


図12 血液に対する照射システム

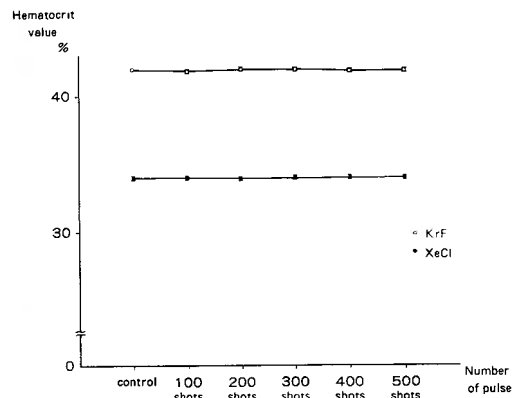


図13 ヘマトクリット値の変化

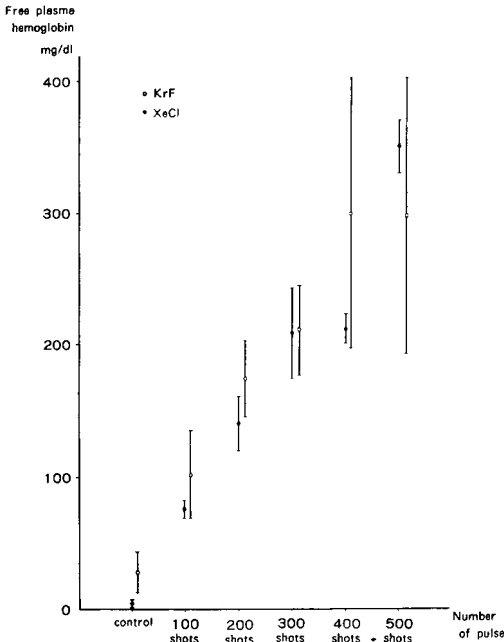


図14 血漿遊離ヘモグロビン値の変化

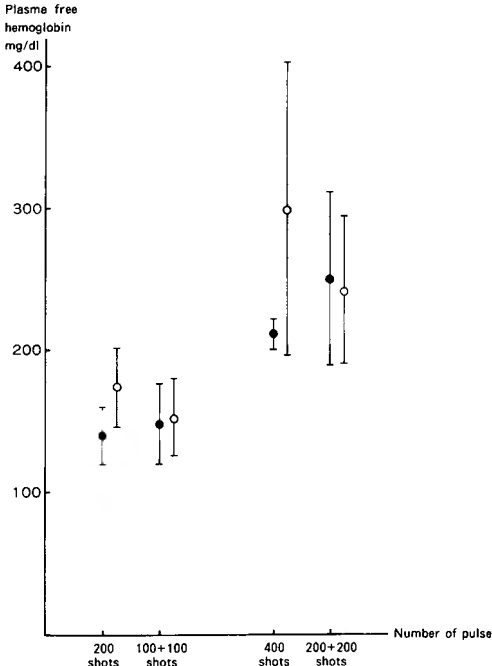


図15 血漿遊離ヘモグロビン値増加に対する血液攪拌の影響

(○: KrF 群, ●: XeCl 群)

はみられなかった。

XeCl 群：無処置群  $34.0 \pm 0.02\%$ ，100 shots 群  $34.0 \pm 0.04\%$ ，200 shots 群  $33.4 \pm 0.22\%$ ，300 shots 群  $34.0 \pm 0.04\%$ ，400 shots 群  $34.6 \pm 0.11\%$ ，500 shots 群  $34 \pm 0.03\%$  であり，ヘマトクリット値の変化はほとんど見られなかった。100+100 shots 群は  $34.0 \pm 0.03\%$ ，200+200 shots 群は  $34.0 \pm 0.09\%$  であり，攪拌の影響はみられなかった。

血漿遊離ヘモグロビン値の変化 (図14, 15)

KrF 群：無処置群  $28.4 \pm 15.6$  mg/dl，100 shots 群  $101.8 \pm 33.6$  mg/dl，200 shots 群  $174.8 \pm 28.1$  mg/dl，300 shots 群  $211.2 \pm 34.8$  mg/dl，400 shots 群  $299.8 \pm 103.2$  mg/dl，500 shots 群  $297 \pm 104.9$  mg/dl であり，shot 数の増加に伴い，遊離ヘモグロビンの増加がみられた。しかし，400 shots 以上ではほぼ同値であり，増加傾向はみられなかった。100+100 shots 群は  $152.4 \pm 27.4$  mg/dl，200+200 shots 群は  $242.6 \pm 52.2$  mg/dl であり，攪拌した方がやや低値を示した。

XeCl 群：無処置群  $4.6 \pm 2.3$  mg/dl，100 shots 群  $76 \pm 7.6$  mg/dl，200 shots 群  $140.6 \pm 20.6$  mg/dl，300 shots 群  $208.4 \pm 34.7$  mg/dl，400 shots 群  $212.6 \pm 11.5$  mg/dl，500 shots 群  $350 \pm 20$  mg/dl であり，shot 数の増加に伴い，遊離ヘモグロビンの増加がみられた。100+100 shots 群は  $148.8 \pm 27.3$  mg/dl，200+200 shots 群は  $251 \pm 61.8$  mg/dl であり，攪拌した方がやや高値を示した。

2-3. 小括

① エキシマレーザーの血液に対する影響は，ヘマトクリット値の変化を生じるような赤血球の破壊はないものの，赤血球膜に対する損傷により，血漿遊離ヘモグロビンの増加をもたらすものと考えられる。

② KrF は周囲へ与える熱損傷が少ないので，同じ血液に長時間照射した方が赤血球膜に与える影響が強く出現し，XeCl は KrF に比べ，若干熱損傷が多いため，攪拌して新しい血液に照射した方が，赤血球に与える影響が強く出現するものと思われる。

Ⅲ. エキシマレーザー光のファイバーへの導光システムの試作と導光実験

3-1. 導光システムの試作

冠動脈血管内腔へのファイバーの挿入を想定すると，ファイバーの外径は  $500 \mu\text{m}$  までなら可能と思われる。その場合のファイバーのコア径は  $400 \mu\text{m}$  となる。レンズにより集光できる最小スポット径  $W$  は，レー



ザー光の広がり半角  $\theta$  と使用するレンズの焦点距離  $f$  で決まり、次の式で表される。

$$w = f \times 2\theta$$

コア径  $400 \mu\text{m}$  のファイバーに効率よく導光するためには、 $400 \mu\text{m}$  以下に集光する必要がある。本実験に使用したエキシマレーザー光の広がり半角は  $2\text{--}4 \text{ mrad}$  であることから、焦点距離  $30 \text{ mm}$  のレンズで集

光すると、最小スポット径は約  $240 \mu\text{m}$  となる。 $1.4 \text{ cm} \times 2.5 \text{ cm}$  のレーザー光のすべてを  $400 \mu\text{m}$  のファイバーに導光すると、入射エネルギーが大きすぎてファイバーの入射面がすぐに破壊されてしまうため、 $2\text{--}6 \text{ mm}$  の aperture を通過したレーザー光を焦点距離  $30 \text{ mm}$  の合成石英レンズで集光するシステムを試作した (図16)。

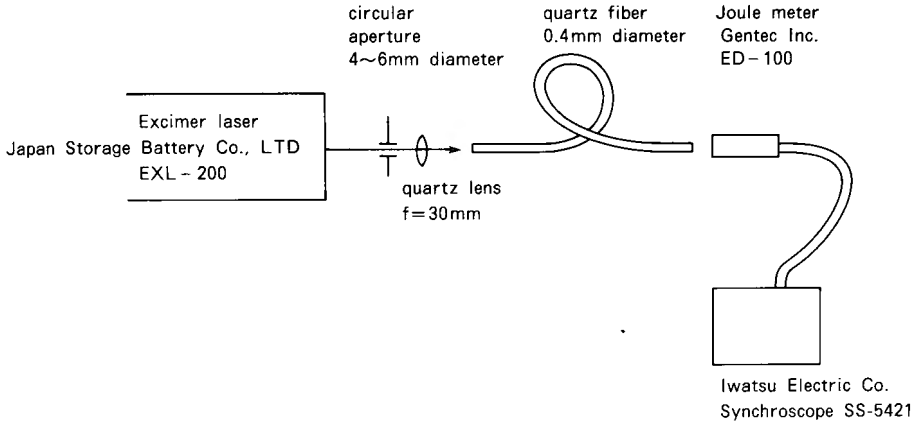


図16 エキシマレーザー光の石英ファイバーへの導光システム

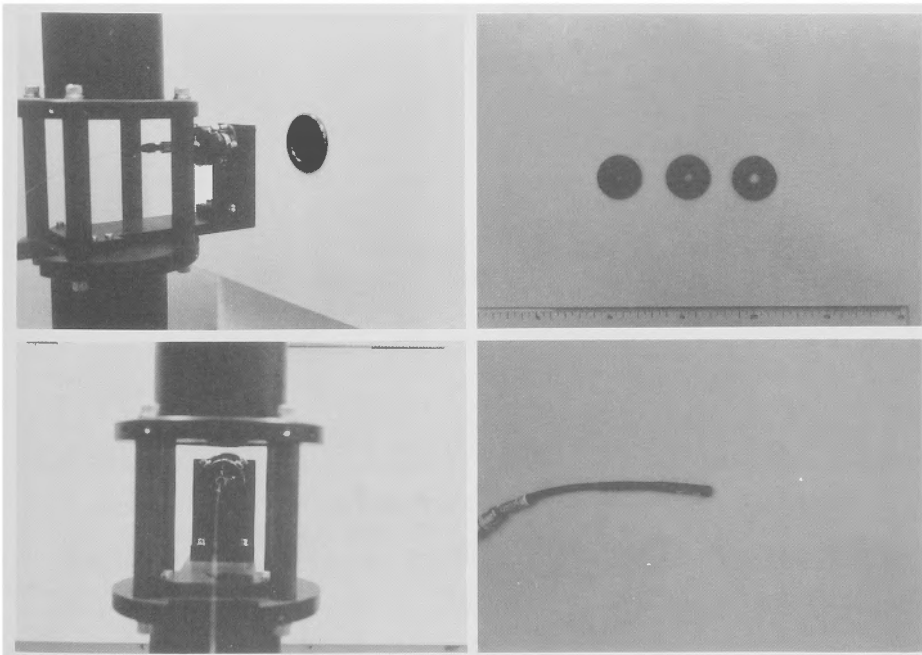


図17 実験に用いた石英ファイバーと照射系 (左上: レーザー本体, コリメーター, ファイバー 左下: コリメーターに接続したファイバー 右上:  $2\text{--}6 \text{ mm}$  の aperture 右下 Gentec 社製 Joule meter ED-100)

### 3-2. エキシマレーザー光のファイバーへの導光実験

1.4×2.5 cm のレーザー光を 2-6 mm の aperture および焦点距離 30 mm の合成石英レンズを用いて、長さ 1 m の 400 μm 石英ファイバーに導光した。ファイバーの前後での出力を Gentec 社製 Joule meter ED-100 で測定した (図17)。

### 3-3. ウサギの大動脈への照射実験

長さ 1 m のファイバーに導光し、Joule meter で出力を測定した後、ウサギの大動脈壁に空気中で直角に接触照射した。照射条件は 2 mJ, 7.5 PPS であった。

### 3-4. 結果

ファイバー先端の出力は、KrF では最高 0.3 mJ/pulse (0.24 J/cm<sup>2</sup>/pulse) までしか得られず、それ以上ではファイバーが破壊された。XeCl では最高 9 mJ/pulse (7.2 J/cm<sup>2</sup>/pulse) まで得られたが、長時間照射後ではファイバー出射端での出力の低下がみられ

た。ファイバーの出射端での出力はファイバー入射前の出力の約40%であった (図18)。

ウサギの大動脈に照射すると、1000 shots で完全に壁を貫通した。貫通孔を光顕で観察すると、辺縁がはっきりした円形の貫通孔がみられ、周囲の熱損傷はまったくみられなかった (図19)。

### 3-5. 小括

① 合成石英レンズ、aperture、石英ファイバーを組合せることにより、エキシマレーザー光の導光システムを試作し、XeCl で導光に成功した。ファイバー導光後のエネルギーでも組織の蒸散が十分に可能であった。

② 波長の短い KrF は蒸散能、熱損傷の点では XeCl より優れているが、既存のファイバーへの導光は困難であり、現時点では血管形成術には XeCl の方が適していると思われる。

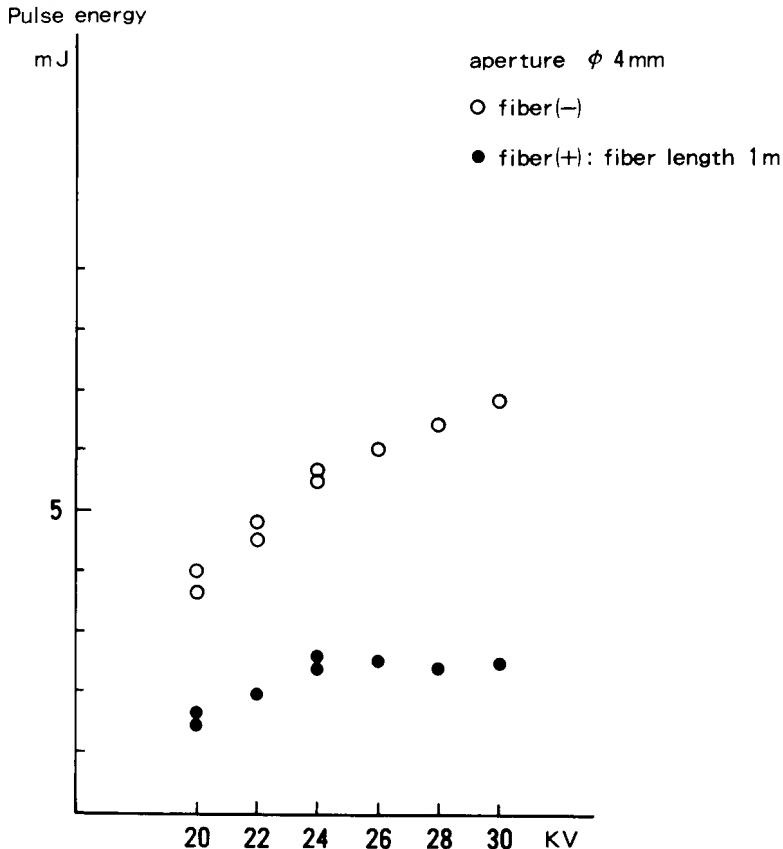


図18 エキシマレーザー光のファイバー導光前後での出力

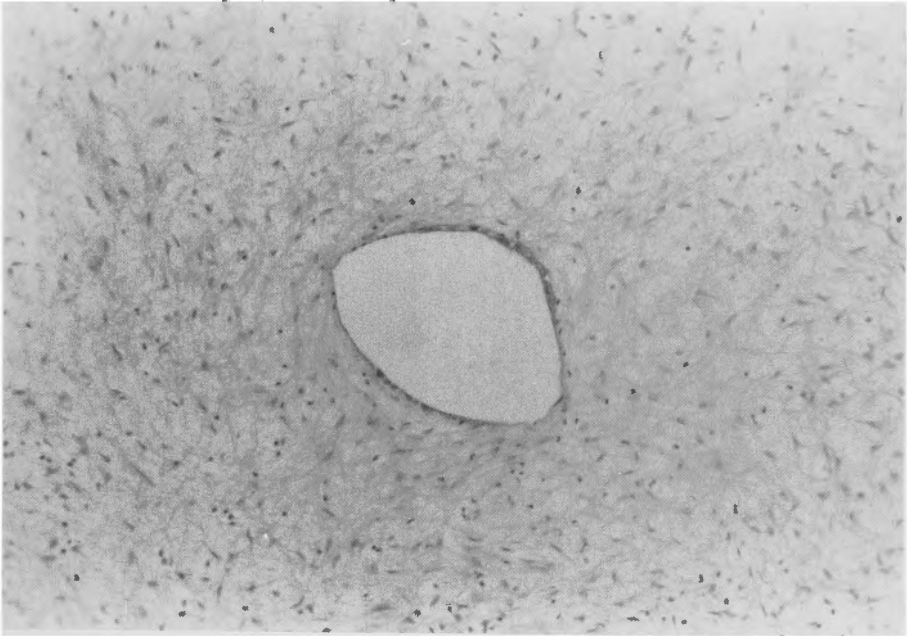


図19 エキシマレーザー照射後のウサギ大動脈の組織所見 (H. E. 染色33倍)  
辺縁がはっきりした円形の貫通孔がみられ、周囲の熱損傷は全くみられない

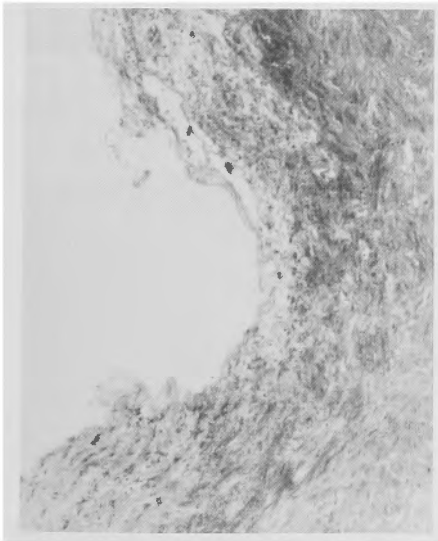


図20 エキシマレーザー照射後の光顕所見および走査電顕所見：照射後2時間  
(光顕所見 H. E. 染色33倍)

幅 500  $\mu\text{m}$ 、深さ 100  $\mu\text{m}$  の組織欠損がみられ、熱損傷はほとんどみられない。欠損部表面にはフィブリンの付着がみられる

#### IV. 犬正常動脈壁に対するエキシマレーザー照射後の治癒過程

##### 4-1. 対象と方法

対象：体重 10-19 kg, 雑種成犬 4 頭の左右大腿動脈および頸動脈, 計16カ所の動脈を対象とした。

方法：麻酔はケタラル 10 mg/kg を筋注後, ネブタール 10 mg/kg を静注した。両側大腿動脈及び頸動脈を露出後, ヘパリン 50-100単位/kg を静注した。動脈の血流遮断後, 約 2 cm の動脈壁縦切開を行い, 400  $\mu$ m, 長さ 3 m の石英ファイバーに導光したエキシマレーザー光を動脈壁より約 1 mm 離して, ヘパリン

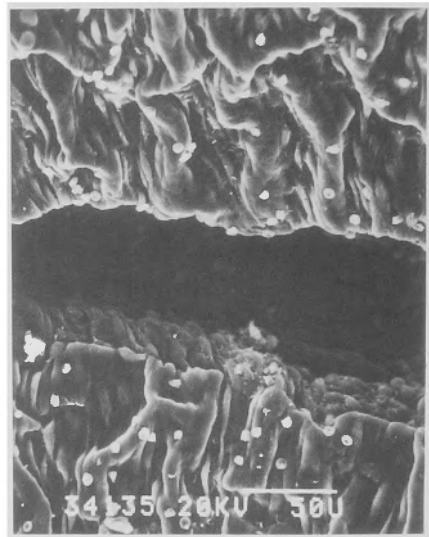


図21 エキシマレーザー照射後の光顕所見および走査電顕所見：照射後7日目（光顕所見 H.E. 染色33倍）7日目までは治癒傾向は認められない。表面のフィブリンの付着は消失している

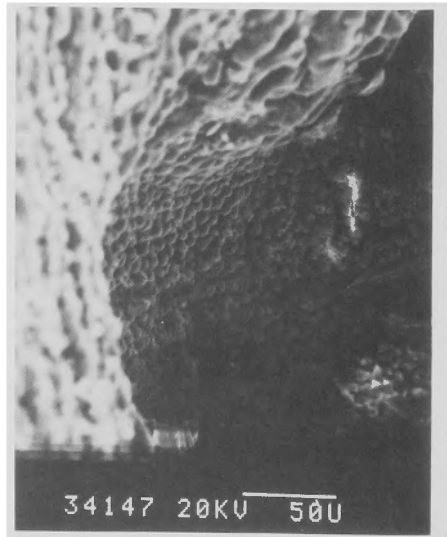
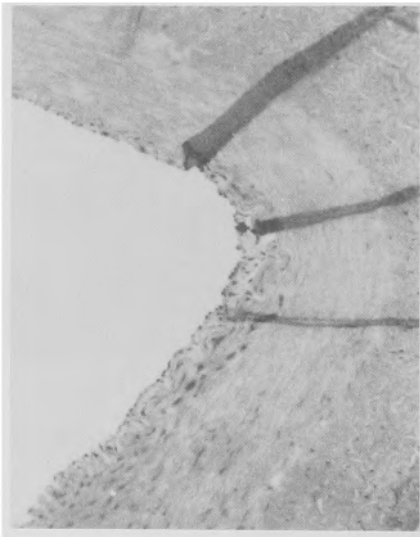


図22 エキシマレーザー照射後の光顕所見および走査電顕所見：照射後12日目（光顕所見 H.E. 染色33倍）組織欠損部は浅くなっており, 治癒傾向がみられる。

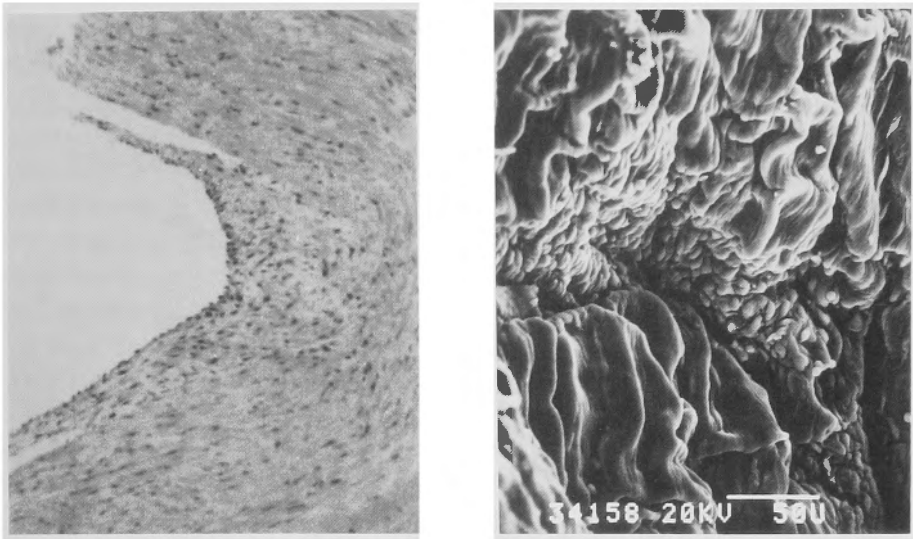


図23 エキシマレーザー照射後の顕微鏡所見および走査電顕所見：照射後18日目  
(顕微鏡所見 H.E. 染色33倍)

組織欠損部は平滑筋細胞ないしは線維芽細胞と思われる細胞で置換され、その上は内皮細胞で被われている。

加生食中で、各動脈に20ヶ所の照射を行った。照射前後で、その都度出力を Joule meter で測定した。照射は 2.9-3.0 mJ/pulse (2.3-2.4 J/cm<sup>2</sup>/pulse), 10 pps, 30 shots の条件下に行った。照射後 8-0 ナイロン糸で動脈を修復閉鎖し、照射後 2 時間, 7 日目, 12 日目, 18 日目に標本の摘出を行った。摘出後標本を縦切し、顕微鏡および走査電顕用標本を作成し、観察した。

#### 4-2. 結果

照射後 2 時間：

顕微鏡所見では幅 500  $\mu$ m, 深さ 100  $\mu$ m の組織欠損が観察されたが、血栓形成は認められなかった。熱損傷はほとんど認められなかった。走査電顕所見でも鋭利な辺縁の組織欠損が認められ、欠損部表面にはフィブリンの付着がみられた (図20)。

7 日目：

顕微鏡所見では、組織欠損部には変化なく、治癒傾向は認められなかったが、欠損部辺縁にはエオジン好性に、一様に染まる層がみられた。走査電顕所見では欠損部はそのままであるが、表面のフィブリンの付着は消失していた (図21)。

12 日目：

顕微鏡所見では、組織欠損部は浅くなっており、治癒傾向がみられた。走査電顕所見でも、組織欠損部の底部は紡錘形の細胞で補填され、浅くなっているのが観

察された (図22)。

18 日目：

顕微鏡所見では、組織欠損部は平滑筋細胞ないしは線維芽細胞と思われる細胞で置換され、その上を一層の内皮細胞が被覆しているのが観察された。走査電顕所見では組織欠損部は完全に補填され、表面には新生の内皮様細胞がみられた。過剰な内膜の増殖は認められなかった (図23)。

#### 4-3. 小括

エキシマレーザー照射後の動脈壁は、熱損傷を伴わず、組織欠損部も18日目には平滑筋細胞ないしは線維芽細胞と思われる細胞で置換され、その上を一層の内皮細胞が被覆しており、過剰な内膜の増殖は認められなかった。このような治癒過程は血管形成術には好ましいものと思われる。

## 考 察

### 1. エキシマレーザーと他のレーザーとの比較検討

現在血管形成術への応用が試みられているレーザーには、図24に示すようなものがあり、すでに臨床応用されているものもある。アルゴンレーザー、Nd-YAG レーザーは組織深達度が高く、水による吸収度が低いため周囲組織への熱損傷が大きい。一酸化炭素レーザーは組織深達度も、水による吸収度も中等度であり、

	波長	導光路	水に対する 吸収	蒸散能	熱損傷
Nd-YAG	1.06 $\mu\text{m}$	石英ファイバー	小	低	大
Argon	488 nm 512 nm	石英ファイバー	小	低	大
CO	5.4 $\mu\text{m}$	カルコゲナイド ファイバー	中	中	小
Er-YAG	2.94 $\mu\text{m}$	フッ化物 ファイバー	大	大	小
Excimer	248 nm 308 nm	石英ファイバー	大	大	小

図24 血管形成術への応用が試みられている各種レーザーの特性

比較的周囲組織の熱損傷は少ない。Er-YAG レーザーは水による吸収度が高いため、組織深達度は少なく、したがって熱損傷も少ない。エキシマレーザーはその作用機序が non-thermal であることや、水の吸収度が高いことにより、熱損傷は極めて少ない。したがって、レーザーの持つ特性から言えば、一酸化炭素レーザー、Er-YAG レーザー、エキシマレーザーが血管形成術に適しているが、この三種類のレーザーでは、導光路の問題が完全には解決されておらず、臨床応用は必ずしも容易ではない。

現在臨床応用が試みられているレーザーはアルゴンレーザー<sup>5,6)</sup>、Nd-YAG レーザー<sup>7,8)</sup> がほとんどであるが、最近ではエキシマレーザー<sup>9-14)</sup> も試みられている。アルゴンレーザーおよび Nd-YAG レーザーには直射タイプと、先端に metal tip を取り付けた、いわゆる hot tip のタイプがある。hot tip による方法は、ファイバー先端に取り付けた tip をレーザー光で加熱し、血管壁のアテロームを焼灼しようとするものである。これらの方法でもアテロームの蒸散は可能であるが、その機序が thermal effect によるため、周囲組織に対する熱損傷は避けられず、特に微小血管に用いた場合、直後の血栓形成や、遠隔期に問題が残ると思われる<sup>4,5)</sup>。光増感物質を用いたいわゆる PDT (photodynamic therapy) 療法も研究されているが、よ

り脂質親和性の高い物質の開発や、その作用機序の解明に課題が残されており、まだ臨床応用のできる段階ではない<sup>15,16)</sup>。ファイバーを用いた直射タイプのみのレーザーとしては、エキシマレーザー、が試みられている。各種レーザーのうちエキシマレーザー以外はすべて、その作用機序は photothermal effect であり、周囲組織への影響は大きく血管形成術としては好ましいとはいえない。これらのレーザーに比べ、エキシマレーザーは短波長域、主として紫外線領域で発振する高出力パルスレーザーであり、その作用機序は photochemical に分子間結合を切断することにある。化学結合の切断に必要なエネルギーは C-C 一重結合 84 kcal/mol, C-C 二重結合 140 kcal/mol, C-C 三重結合 191 kcal/mol, C-H 結合 81 kcal/mol であり、各レーザーの持つ光子エネルギーは KrF レーザー 114.1 kcal/mol, XeCl レーザー 92.2 kcal/mol, CO<sub>2</sub> レーザー 2.7 kcal/mol である。このように一光子吸収で切断可能な化学結合は各波長で決まっており、エキシマレーザーは CO<sub>2</sub> レーザーよりはるかに高いエネルギーを持っていることがわかる。エキシマレーザーの中では XeCl より KrF の方が光子エネルギーが大きく、化学結合の切断には有利であり、実際に組織を蒸散するための ablation threshold も波長が短い方が低く、波長が 300 nm を超えると急激に高くなる<sup>12,17)</sup>。

従来、熱損傷が少なく鋭利な蒸散能は、エキシマレーザーに特徴的とされていたが、他のレーザーでもパルス発振型にすれば、同様の効果が得られることが分かってきた<sup>19,20)</sup>。しかし本研究でも明らかのようにエキシマレーザーの作用にも熱損傷はみられ、特に波長の長い XeCl において多くみられ、また繰り返し周波数を上げると熱損傷の範囲が大きくなる。これは繰り返し周波数を上げるとパルス間隔が短くなり、組織での熱の放散が十分に行われなくなるので、局所での熱の蓄積が生じ、熱損傷をもたらすためと考えられる。このような現象は最近になって他の研究者たちによっても報告されるようになったが<sup>20)</sup>、このような点を考慮すると、本研究でも明らかのように、照射条件としては 30 pps までが適当と思われる。

## 2. 血液に対する影響

レーザーを血管内で使用する場合、血液に与える影響を考えておかなければならないが、血液に与える影響に関する報告は少ない。Theis ら<sup>21)</sup>は Argon ion レーザーを 400  $\mu\text{m}$  の石英ファイバーに導光し、1.5 ml の血液に 1 cm 上から照射して検討している。最初の 5 秒間で照射部の赤血球が壊され、ヘマトクリット値が減少するものの、それ以降では変化しなかったのに対し、遊離ヘモグロビンは照射時間とともに増加を示している。その理由として、直接照射された赤血球は壊されるが、同時に周辺の赤血球膜にも損傷を与え、遊離ヘモグロビンの増加をもたらすと述べている。Abela ら<sup>22)</sup>も同様の報告をしている。本研究で用いたエキシマレーザーの場合は、ヘマトクリット値は減少せず、遊離ヘモグロビンのみが増加するという異なった結果が得られた。しかも KrF 群では攪拌した方が遊離ヘモグロビンの増加は少なく、XeCl 群では攪拌群で増加した。このような結果を呈した理由としては次のようなことが考えられる。まずアルゴンレーザーと異なった結果を示した理由としては、エキシマレーザーを照射すると plasma が形成され、“Moses effect”<sup>23)</sup>を生じ、実際に beam と接触する血液が少なくなることや、熱損傷の少ないことなどが考えられる。KrF と XeCl の違いは KrF の場合は XeCl に比べ周囲組織に与える熱損傷が少ないため、長く照射された血液に影響が強く出現し、XeCl は KrF に比べ周囲組織に与える熱損傷が多いため、短時間でも赤血球に熱損傷を与える。したがって、攪拌して新しい血液に照射した方が、より多くの赤血球に熱損傷を与えることになり、遊離ヘモグロビンの増加も大きくなると考えられる。

## 3. エキシマレーザーの導光路

エキシマレーザーを血管形成術に応用するためには、レーザー光をファイバー内へ導光することが必要であるが、KrF の場合は既存のファイバーでは、すぐにファイバーが破壊されて、導光は困難である。XeCl はファイバー内に導光可能であるが、高い出力を得ようとして、ファイバーへの入射エネルギーを上げるとファイバーの入射面が破壊されてしまう。XeCl では 400  $\mu\text{m}$  のファイバーで最大 9 mJ/pulse (7.2 J/cm<sup>2</sup>/pulse) の先端出力が得られたが、長時間照射では出力の低下がみられ、安定した出力が得られるのは、現時点では 3-4 mJ/pulse (2.4-3.2 J/cm<sup>2</sup>/pulse) ではないかと思われる。組織の Ablation threshold は XeCl を用いた場合、パルス幅が 7 ns で 1.8 J/cm<sup>2</sup>、300 ns で 2.2 J/cm<sup>2</sup> といわれており、パルス幅が約 40 倍になると、ablation threshold が 20% 上昇する<sup>12)</sup>。われわれの用いたエキシマレーザーのパルス幅は 20 ns である。したがって、3-4 mJ/pulse (2.4-3.2 J/cm<sup>2</sup>/pulse) のエネルギー密度でも組織の確実な蒸散は可能であるが、冠動脈のような時間的制約のある部位での照射はできるだけ短時間にする必要がある。ファイバー内にもう少し高いエネルギーを導光することを考えなければならない。これには二つの方法が考えられる。一つは入射面強度のつよい、新しいファイバーの開発である。もう一つは入射エネルギーのピークを抑えること、すなわちパルス幅を広げることによりピークエネルギーを抑える方法であり、欧米ではすでにパルス幅の広いエキシマレーザーが開発され、臨床応用されつつある<sup>12-14)</sup>。しかし、60 ns では照射後ファイバー先端での出力の低下がみられたとの報告もあり、100-200 ns は必要と思われる<sup>13)</sup>。われわれも、現在、100 ns 程度のロングパルス型エキシマレーザーを開発中である。

## 4. 正常組織への影響

レーザー照射により、アテロームのみを選択的かつ確実に蒸散する方法は、現在のところなく、したがってレーザー照射により内弾性板を越えて中膜が露出する可能性があり、細小動脈である冠動脈に用いた場合、血栓形成の危惧がある。アルゴンレーザー照射後は血栓や炭化物の付着などがみられる<sup>24)</sup>のに対し、エキシマレーザー照射後は肉眼的血栓形成はなく、その治療過程でも intimal hyperplasia は認められず、血管形成術には好ましいものと思われる。

## 5. 臨床応用における問題点

臨床応用を想定した場合、狭窄部位に対する方法としては、ガイドワイヤーを先行させて行なう、いわゆる over the wire システムが最も安全な方法と思われるが、ガイドワイヤーの通過しないような完全閉塞病変に対し直射タイプのレーザーを安全に使用するためには、直視下に血管と同軸性に照射することが必要である<sup>25)</sup>。そのためには血管内視鏡や超音波ガイダンス<sup>26)</sup>の使用が前提となる。しかし現時点では冠動脈のような微小血管内に挿入可能で多機能を持つ血管内視鏡は開発されておらず、また、カテーテルより前方の血管内腔の情報が得られるような超音波装置もなく、今後の課題である。

最近、術中に冠動脈の血管形成術に使用したとの報告や、末梢血管や冠動脈に対して PTA と併用し、良好な結果が得られたとの報告などがみられる<sup>13,19)</sup>。これらの報告では初期成功率は確かに良好であるが、ほとんどの症例において開通孔拡大の目的で balloon angioplasty を併用しており、遠隔期の再狭窄率が30%という報告もみられる<sup>19)</sup>。しかし、balloon angioplasty を併用しているため、これらの報告のみから、レーザー血管形成術における再狭窄率が balloon angioplasty の再狭窄率と同じであるとはいえないが、少なくとも現時点では、レーザー単独療法では不十分といわざるを得ない。この問題を解決するためには、側方への照射も可能な先端構造が必要と思われるが、同時に血管穿孔の危険性も増加するものと思われ、安全に照射するためには超音波など<sup>26)</sup>の、何等かのガイダンスシステムが必要と思われる。

またエキシマレーザーには、他にもいくつかの解決されなければならない問題がある。波長が DNA の吸収帯と重なるため遺伝子への影響や発癌性の問題、装置が大型であること、高価であること、ハロゲンガスを使用するため排気装置などの安全装置が必要であることなどである。現在まで発癌性に関する研究はほとんどなく、今後の課題と考えられるが、レーザー照射部位にわずかながら熱損傷があることが、むしろ発癌性の可能性を少なくするのではないかと考えている。またハロゲンガスに対する安全対策としてはガス封じきり型の装置で対処できると考えている。

これらの問題が解決されたならば、エキシマレーザーの血管形成術への臨床応用は、虚血性心疾患や閉塞性動脈硬化症に対する新しい治療手段として、非常に有効な方法と思われる。

稿を終えるにあたり、御指導を賜りました恩師京都

大学医学部心臓血管外科学教室伴敏彦教授に深甚なる謝意を表すると共に、実験に関する助言並びに御校閲を賜りました京都大学医学部心臓血管外科学教室岡本好史助教授に深謝致します。また、本研究に多大のご協力をいただきました、京都医科学研究所の各位、武田病院の久保茂氏に心より深謝いたします。

なお本論文の要旨は第41回日本胸部外科学会(東京)、第29回日本脈管学会(浜松)、第9回日本レーザー医学会(大阪)、第19回日本心臓血管外科学会(札幌)において報告した。

本研究の一部は文部省科学研究費一般研究(B)(課題番号62480293)補助金の助成による。

## References

- 1) Dotter CT, Judkins MP: Transluminal treatment of arteriosclerotic obstruction: Description of a new technique and preliminary report of its application. *Circulation* 30: 645-670, 1969.
- 2) Grüntzig A, Hopf H: Perkutane Rekanalisation chronischer arterieller Verschlüsse mit einem neuen Dilatationskatheter: Modifikation der Dottertechnik. *Dtsch Med Wochenschr* 99: 2502-2551, 1974.
- 3) Choy DS, Stertzer S, Rotterdam HZ, et al: Transluminal laser catheter angioplasty. *Am J Cardiol* 50 (6): 1206-1208, 1982.
- 4) Ginsberg R, Wexler L, Mitchell RS, et al.: Percutaneous transluminal laser angioplasty for treatment of peripheral vascular disease: Clinical experience with sixteen patients. *Radiology* 156: 619-624, 1985.
- 5) Choy DSJ, Stertzer SH, Myler RK, et al.: Human coronary laser recanalization. *Clin Cardiol* 7: 377-381, 1984.
- 6) Cumberland DC, Sanborn TA, Tayler DI, et al.: Percutaneous laser thermal angioplasty: initial clinical results with a laser probe in total peripheral artery occlusions. *Lancet* 1: 1457-1459, 1986.
- 7) Criado FJ, Queral LA, Pattern P, et al.: Laser angioplasty in the lower extremities. An early surgical experience. *J Vasc Surg* 11: 532-535, 1990.
- 8) Geschwind H, Farbe M, Chaitman BR, et al.: Histopathology after Nd-YAG laser percutaneous transluminal angioplasty of peripheral arteries. *J Am Coll Cardiol* 8: 1089-1095, 1986.
- 9) Grundfest WS, Litvack IF, Goldenberg T, et al.: Pulsed ultraviolet lasers and the potential for safe laser angioplasty. *Am J Surg* 150: 220-226, 1985.



- 10) Farrell EM, Higginson LAJ, Nip WS, et al.: Pulsed excimer laser angioplasty of human cadaveric arteries. *J Vasc Surg* 3: 284-287, 1986.
- 11) Prevosti LG, Leon MB, Smith PD, et al.: Early and late healing responses of normal canine artery to excimer laser irradiation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 96: 150-156, 1988.
- 12) Singleton DL, Paraskevopoulos G, Taylor RS, et al.: Excimer laser angioplasty: Tissue ablation, arterial response, and fiber optic delivery. *IEEE J Q E QE-23*: 1772-1782, 1987.
- 13) Karsch KR, Haase KK, Mauser M, et al.: Percutaneous coronary excimer laser angioplasty: initial clinical results. *Lancet* 16: 647-650, 1989.
- 14) Litvack F, Grundfest WS, Adler L, et al.: Percutaneous excimer-laser and excimer-laser-assisted angioplasty of the lower extremities: Results of initial clinical trial. *Radiology* 172: 331-335, 1989.
- 15) Spears JR, Serur J, Shropshire D, et al.: Fluorescence of experimental atheromatous plaques with hematoporphyrin derivative. *J Clin. Invest.* 71: 395-399, 1983.
- 16) Litvack F, Grundfest WS, Forrester JS, et al.: Effects of hematoporphyrin derivative and photodynamic therapy on atherosclerotic rabbits. *Am J Cardiol* 56: 667-671, 1985.
- 17) 村原正隆: エキシマレーザーの光化学作用 エキシマレーザー最先端応用技術. 27-41, シーエムシー, 1986.
- 18) Deckelbaum LI, Isner JM, Donaldson RF, et al.: Use of pulsed energy delivery to minimize tissue injury resulting from carbon dioxide laser irradiation of cardiovascular tissues. *J Am Coll Cardiol* 7: 898-908, 1986.
- 19) Steg PG, Astier R, Meyer G, et al.: In vitro pulsed laser angioplasty of human atheromatous coronary arteries. *Lasers in cardiovascular diseases* 58-62, Medizinischer Verlag, 1987.
- 20) Wollenek G, Laufer G, Horvath R, et al.: Excimer laser angioplasty: Thermal effects of deep ultraviolet laser radiation on arterial walls in vitro. *Lasers in cardiovascular diseases* 68-74, Medizinischer Verlag, 1987.
- 21) Theis JH, Lee G, Ikeda RM, et al.: Effect of laser irradiation on human erythrocytes: Considerations concerning clinical laser angioplasty. *Clin Cardiol* 6: 396-398, 1983.
- 22) Abela GS, Crea F, Smith W, et al.: In vitro effects of argon laser radiation on blood: Quantitative and morphologic analysis. *J Am Coll Cardiol* 5: 231-237, 1985.
- 23) Isner JM, Clarke RH, Katzir A, et al.: Transmission characteristics of individual wavelengths in blood do not predict ability to accomplish laser ablation in a blood field.. inferential evidence for the "Moses effect" *Circulation* 74: II-361, 1986.
- 24) Abela GS, Crea F, Seeger JM, et al.: The healing process in normal canine arteries and in atherosclerotic monkey arteries after transluminal laser irradiation. *Am J Cardiol* 56: 983-988, 1985.
- 25) Lee G, Ikeda RM, Theis JH, et al.: Acute and chronic complications of laser angioplasty: Vascular wall damage and formation of aneurysms in the atherosclerotic rabbit. *Am J Cardiol* 53: 290-293, 1984.
- 26) Isner JM, Rosenfield K, Losordo DW, et al.: Percutaneous intravascular US as adjunct to catheter-based interventions: preliminary experience in patients with peripheral vascular disease. *Radiology* 175 61-70, 1990.