レーザー血管形成に対する新しい展開：
 Indocyanine green 染色血管壁
 に対する Diode laser 照射時の温度変
 化に関する定量的評価

水谷哲夫、 Glenn M. LaMuraglia

三重大学医学部胸部外科、
 Harvard Medical School, Massachusetts General Hospital,
 Division of Vascular Surgery,

Thermal Assessment of ICG-treated Aortic Media during Diode Laser Exposure

Tetsuo Mizutani:

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Mie University School of
 Medicine, Tsu

Glenn M. LaMuraglia:

Division of Vascular Surgery, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical
 School, Boston, U.S.A.

ABSTRACT: This study was designed to investigate a combination treatment of Diode laser (wavelength: 808 nm) with Indocyanine green (ICG), as an photoenhancement dye. Three different concentrations of ICG (0.5, 3.0, 10.0 mg/ml) and three different staining periods (20 sec, 1 min, 5 min) were applied to stain the fresh human aorta after endarterectomy to find out an optimal condition. Spectrophotometric and histological examinations revealed that the optimal parameter for tissue staining was 3.0 mg/ml of ICG concentration and five minutes of staining period at 37 °C.

Diode laser was applied for the previously stained and the non-stained aortic media in four different laser energy (4.7, 9.3, 18.6 and 27.9 w/cm²) for five seconds. Thermal camera showed a real-time change of surface temperature. The peak temperature for the stained specimen at 27.9 w/cm² was 219±15 °C, and the peak temperature for the non-stained one was 26±1 °C at the same energy. In conclusion, the combination treatment of Diode laser with Indocyanine green participates to absorb and localize laser energy, that is, minimizing thermal injury.

はじめに

光増感物質を用いたphotodynamic therapyは、消化管腫瘍に対する治療では盛んに行われているが、循環器系においてはまだ未開発の領域である。心・血管系に应用可能な光増感物質としてIndocyanine green (ICG)が考えられているが、

その濃度や効果についての定量的評価がなされていないのが現状である¹⁾。

ICG溶解液の光吸収スペクトルは図1のごとくで、波長805nmで最高吸収係数を示している。この光学的特徴を持ったICGで前もって染色した血管壁に対しダイオードレーザーを照射し、照射

中の組織温をリアルタイムに計測することによりICG前処理の有用性を定量的に評価した。

I、染色基礎実験

対象および方法

剖検例より摘出し7日以内の大動脈壁に対し内膜摘除を行い中膜を露出した。内膜摘除後直ちに3種類の濃度のICG溶液(0.5, 3.0, 10.0 mg/ml)を用いて37℃のウォーターバスの中で中膜面を5分間染色した後、spectrophotometer (Hewlett Packard 8452A, U.S.A.)でrelative absorbanceを求めた。

次いで同様に内膜摘除した大動脈壁に3 mg/mlの濃度のICG液を用いて20秒間、1分間、5分間染色し、同様にrelative absorbanceを求めた。このようにして大動脈壁を染色するための至適染色濃度および時間を求めた。

結果

1、異なったICG濃度よりみた染色後のrelative absorbance

0.5 mg/mlのICG液により染色された大動脈壁のrelative absorbanceは、550 nm前後の波長で最低値を示した。一方、3.0および10.0 mg/mlのICG液で染色された壁のrelative absorbanceは、ほぼ同一で、550 nmを最低とするものの600 nmより急に上昇し、700 nm以上はほぼ同じ値をとり、2.3前後を示している(図2)。

2、異なった染色時間よりみた染色後のrelative absorbance

5分間染色した大動脈壁のrelative absorbanceは、20秒間および1分間染色された壁のそ

れよりも明らかに高く、700 nm以上820 nmまでの波長ではほぼ同一の2.3を示した(図3)。

3、組織学的所見

ICG染色後の凍結切片組織を用いた顕微鏡下の観察では、3 mg/mlのICGで5分間染色された組織は、ほかの濃度や時間で染色された組織に比べ均一に染色されており、その厚さはただの5 μ mであった。

小括

以上述べたごとく、spectrophotometerを用いて測定したrelative absorbanceおよび組織学的所見よりみた至適のICG濃度は3 mg/mlであり、37℃における染色時間は5分間が最適と考えられた。よって、この3 mg/ml・5分間を大動脈壁への標準染色条件とし、これ以降の実験に用いた。

II、レーザー照射実験

対象および方法

上記の基礎実験で得られた標準染色条件(3 mg/mlのICG濃度、5分間染色)で染色された剖検例よりの大動脈中膜面に対しレーザーを照射した。用いたレーザーは、Diode Laser(波長: 808 ± 10 nm, Diomed Company, United Kingdom)で、径0.6mmのファイバーを介して直径3.7mmの領域に対し4種のレーザーエネルギー(4.7, 9.3, 18.6, 27.9 W/cm²)で5秒間ずつ照射した。そして被照射面の温度変化を赤外線カメラ(Model 600IR Imaging Radiometer, Inframetrics Co. Ltd., U.S.A.)を用いてリアルタイムに測定した。また、ICGによる染色の有無がダイ

図1、

図2、

図3、

図4、 **DIODE IRRADIANCE AND TEMPERATURE** 図5、 **ICG EFFECT ON TEMPERATURE**

オードレーザー照射中の温度変化に及ぼす効果を明らかにするため、27.9 W/cm²のエネルギーを染色されていない組織に5秒間照射した。

結果

1) ICG染色面に対するレーザー照射時の温度変化

レーザー照射とともに被照射面の温度は急激に上昇し、照射終了の5秒目で最高値に達した。その値は、4.7 W/cm²では $51 \pm 1^\circ\text{C}$ 、9.3 W/cm²では $79 \pm 3^\circ\text{C}$ 、18.6 W/cm²では $119 \pm 6^\circ\text{C}$ 、27.9 W/cm²では $219 \pm 15^\circ\text{C}$ であり、エネルギー量の増加とともに温度も著しく上昇した(図4)。

2) ICG非染色面における温度変化

27.9 W/cm²のエネルギーを染色されていない組織に5秒間照射した時の最高温度は $26 \pm 1^\circ\text{C}$ で

あり、染色部に対し同じエネルギー量を与えた場合の $219 \pm 15^\circ\text{C}$ と比べ極端に ($p < 0.001$) 低かった(図5)。

総括

レーザー血管形成術が臨床例で沢山行われ成績が安定するとともに治療上の問題点や限界が明らかになってきた。その最大の問題は、狭窄の解除が不十分なこと、そして40-65%にも及ぶ高い再狭窄率である^{2, 3) 4)}。その原因の一つとして、レーザー照射時の血管壁の温度変化に関する定量的評価がなされておらず、したがって過大なエネルギーが必要以上に与えられ余分な熱損傷を引き起こしている可能性は否定できない。

インドサイアニンググリーン(ICG)は、心拍出量の測定や肝機能の評価に用いられており、常用量では色素としての毒性はなく生体との親和性についても異論のないところである。このICGで染色された大動脈壁に対する光吸収スペクトルの分析では、3 mg/mlの濃度のICG液で5分間染色することにより700より820 nmの波長域で極めて高い光吸収が得られると推測された。そこで波長が 808 ± 10 nmのダイオードレーザーをICG染色部に照射したところ、非染色部に照射した場合に比べ著しい温度上昇を確認できた。その機序としては、①ICGが光増感物質として働きより多くの光エネルギーを吸収した、②ICGによる染色層の厚さが僅か $5 \mu\text{m}$ と薄く、吸収されたエネルギーが限局化された、の両者が考えられる。

このように光増感物質で前処理された対象物に対しレーザーを照射することは、単にエネルギー吸収効率を高めるだけでなく、吸収エネルギー

の限局化や熱損傷の最少化をもたらす。と同時に、低出力のレーザー発生装置の使用を可能とし、製品開発にかかるコストを低減させるという二次的効果をもたらす。

文献

- 1) Oz MC, Johnson JP, Parangi S, Chuck RS, Marboe CC, Bass LS, Nowygrod R, Treat MR: Tissue soldering by use of indocyanine green dye-enhanced fibrinogen with the near infrared diode laser. *J Vasc Surg* 11:718-725, 1990
- 2) Karsch KR, Haase KK, Mauser M, Voelker W: Initial angiographic results in ablation of atherosclerotic plaque by percutaneous coronary excimer laser angioplasty without subsequent balloon dilatation. *Am J Cardiol* 64:1253-1257, 1989
- 3) Karsch KR, Hasse KK, Voelker W, Baumbach A, Mauser M, Seipel L: Percutaneous coronary excimer laser angioplasty in patients with stable and unstable angina pectoris. acute results and incidence of restenosis during 6-month follow-up. *Circulation* 81:1849-1859, 1990
- 4) Margolis JR, Mehta S: Excimer laser coronary angioplasty. *Am J Cardiol* 69: 3F-11F, 1992