生体脂質における紫外レーザー蒸散能の実験的考察

中野 人志, 中山 斌義, 久保 宇市

近畿大学理工学部・電気工学科 (〒577 大阪府東大阪市小若江3-4-1)

Experimental Study on Ultraviolet Laser Ablation of Lipid

Hitoshi NAKANO, Takeyoshi NAKAYAMA, and Uichi KUBO

Department of Electrical Engineering, Faculty of Science & Technology, Kinki University

3-4-1 Kowakae, Higashiosaka Osaka 577

(Received September 30, 1996)

Ultraviolet laser ablation of lipid has been investigated. ArF, KrF and XeCl excimer lasers have been adopted in this study. A fresh suet is used as the tissue sample. Ablation capability of the KrF laser was remarkably better than that of other lasers. Ablation threshold of the ArF laser was lower by six fold than that of the KrF laser. The ArF laser, however, did not efficiently ablate the suet at high-energy fluence due to spallation. The XeCl laser had poor ablation capability. These results suggest that the KrF laser is the most suitable laser for ablation of lipid.

Key Words: Ultraviolet laser, Excimer laser, Lipid, Suet, Ablation

1. はじめに

エキシマレーザーのようなパルス紫外レーザーは、赤外レーザーに比べて生体組織の蒸散能に優れており、さらに熱損傷を伴わない鋭利で精密な蒸散が可能である¹⁾。このことから、紫外レーザーの様々な生体組織への応用研究が行われている^{2,3)}。眼科領域では角膜手術用として実用化され始めており^{4,5)}、生体硬組織としての骨、歯等については、紫外レーザー照射による蒸散能や照射表面分析等の研究が行われている^{6,7)}。紫外レーザーの蒸散能の高さについては種々の要因があり、現在においても完全な解答は見いだせないが、大きな光子エネルギーに起因する分子結合の直接解離(光化学効果)が蒸散の機構に寄与すると指摘されている³⁾。KrF(波長: 248nm)やArF(波長: 193nm)のエキシマレーザーが発する紫外光の光子エネルギーは、それぞれ5.0, 6.4eVであり、これは生体構成物質の分子結合エネルギーを上回るか同程度である。一方、生体構成物質は一般に紫外領域において大きな吸収を持っている。これは、上述の分子結合の直接解離以外に紫外レーザー照射による熱の発生が大きいことを意味している。KrFエキシマレーザー(波長: 248nm)より長い波長域では、生体組織内における熱伝導および熱拡散の簡単なモデルで紫外レーザーでの蒸散深さが予測できることから⁸⁾、紫外レーザー蒸散の過程においても熱の効果は無視できない。

紫外レーザーの生体組織への照射に関して注意すべきことは、核酸の破壊、ラジカルの発生や組織の過酸化等が生体へどのような影響を及ぼすかである。つまり、安全性

の確保が重要となる。蛋白質については紫外レーザー照射による変性の状況が調べられ、問題提起が行われつつある⁹⁾。しかしながら、生体軟組織へ紫外レーザーを照射あるいは適用した報告例は極めて少なく、蒸散能の高さを積極的に利用するためには照射対象を限定する必要性に迫られる。すなわち、壊死組織や除去したい病変部に照射対象を限定することで、安全性を確保することになる。その一例として、熱傷痂皮のエキシマレーザー蒸散能を調べた報告がある⁹⁾。

本研究では、生体軟組織の脂質に着目した。現在までに、脂質の紫外レーザー蒸散の報告例は無い。脂質は、機能組織の間に存在する組織であり、紫外レーザー照射による構造破壊、変化が生命活動に重大な影響を与えるとは考えられない。また、脂質は融点が低くレーザー照射で容易に溶融するため、レーザー散乱損失増加を導き、その結果として高い蒸散能を得ることができない。CO₂レーザーの蒸散能は、レーザー照射後直ちに溶融が始まるために、極めて低い¹⁰⁾。紫外レーザーでは熱の影響を伴わない効率的な蒸散が期待できる。脂質試料としては、取扱いが容易でヒト脂肪と成分の似通う牛脂肪を用いた。使用した紫外レーザーは、XeCl, KrFおよびArFの各エキシマレーザーであり、各々の波長(光子エネルギー)は308nm(4.0eV)、248nm(5.0eV)、193nm(6.4eV)である。脂肪の効率的な蒸散に最適なエキシマレーザーおよびその照射条件を見いだすために、蒸散の結果にマクロな観察および脂肪内部における熱緩和特性の評価による検討を加えた。

2. 試料および実験方法

ArF, KrFおよびXeClレーザーパルスの半値全幅は、それぞれ15ns, 23ns, 15nsであった。これらのレーザー光をマスクおよびシリンドリカルレンズ対を用いて0.35mm×0.55mmの大きさに空間整形し、牛脂肪に照射した。レーザー照射後の牛脂肪を顕微鏡によって観測し、蒸散の深さを評価した。蒸散された箇所を5ヶ所測定し、その平均値を蒸散深さとした。蒸散深さの照射フルエンスおよび繰り返し周波数依存性を測定の項目とした。繰り返し周波数を変化させる実験は、パルス間隔中の冷却作用の寄与を制御することになる。したがって、レーザー照射による脂肪内部の熱伝達および熱緩和に対する知見を与えることになる。

各種エキシマレーザーの照射フルエンスを変化させ、牛脂肪の蒸散深さを測定した。Figure 2 (a)に蒸散深さの照射レーザーフルエンス依存性を示す。繰り返し周波数は熱の蓄積を避けるために2pps一定とし、照射時間は20秒間(40ショット)とした。図の横軸は、単発での照射フルエンスで示している。Figure 2 (b)は、 $0.4\text{J}/\text{cm}^2 \cdot \text{pulse}$ 以下の低フルエンス領域での蒸散の特性を拡大して示したものである。(a)図から、KrFレーザー蒸散能が極めて高く、ArFレーザーがそれに次ぎ、XeClレーザーでは本実験の最大照射フルエンスにおいても蒸散できないことが判る。KrFレーザーの照射フルエンス $1\text{J}/\text{cm}^2$ での蒸散能は $22\mu\text{m}/\text{pulse}$ であり、これは CO_2 レーザーに比べて約20倍の能力を有していることになる¹⁰⁾。(b)図からは、ArFレーザー蒸散のしきい値が最も低いことが判る。 $0.4\text{J}/\text{cm}^2 \cdot \text{pulse}$ 以下の低フルエ

KrFレーザーが蒸散能に優れるのは、光浸透長が比較的長いこととレーザー波長が脂肪内のリノール酸に含まれる共役二重結合の吸収位置^{14,15)}に近いためである。牛脂肪の赤外・紫外吸収スペクトル測定結果から、KrFレーザー照射によりリノール酸の共役二重結合が解離することが判っており¹⁶⁾、これに起因する蒸散の機構も存在すると考えられる。また、KrFレーザー蒸散の特性は、照射フルエンスが $0.4\text{J}/\text{cm}^2 \cdot \text{pulse}$ を越える辺りから急激に変化している。この現象は、蒸散の過程に何らかの変化が生じたことを示唆する。1パルス当りのレーザー蒸散の特性は、一般にBeer則を用いて次式のように示すことが出来る¹⁷⁾。

ここに、 d は蒸散深さ、 F_{irrad} は照射フルエンス、 F_{th} は蒸散のしきいフルエンス、 α は吸収係数である。照射フルエンス $0.4 \text{ J/cm}^2 \cdot \text{pulse}$ 以上で急激に特性が変化するのは、光エネルギーの熱化による蒸散が効果的に生じ、(1)式の関係が支配

的になったためと考えられる。従って、照射フルエンスが $0.4\text{J}/\text{cm}^2\cdot\text{pulse}$ 以下における蒸散の機構は、脂肪の熱膨張で発生する内部圧力による組織の機械的断裂 (Spallation)¹⁸⁾ であると推測できる。生体軟組織の破断応力は $0.04\text{N}/\text{mm}^2$ 程度であり、一般の高分子膜に比べて2~3桁程度低い¹⁹⁾。KrFレーザーで効率的な蒸散を行うためには $0.4\text{J}/\text{cm}^2\cdot\text{pulse}$ 以上での照射が望ましいことが判った。

ArFレーザーの高照射フルエンスでの蒸散能がKrFレーザーに比して著しく低い原因は、光子の脂肪に対する浸透長が短い(吸収係数が大きい)ためである。また、脂肪の蒸散過程の時間分解写真から、ArFレーザーでは脂肪内部に衝撃波が発生することが示されている¹⁶⁾。衝撃波によって脂肪の形態破壊が進めば、レーザーの散乱損失が大きくなり効率的な蒸散は期待できない。破断応力の大きい骨、歯等の生体硬組織では、ArFレーザー照射においても蒸散能は高く、断端部は鋭利である²⁰⁾。ArFレーザーは破断応力の小さい生体軟組織の蒸散に不向きであることが示された。

XeClレーザーは、本実験の照射エネルギー領域では全く蒸散能を持たなかった。この原因は、吸収係数が他のレーザーに比べて小さいためと考えられる。従って、脂肪の蒸散におけるXeClレーザーは実用性が低い。

Figure 3(a), (b)はArFおよびKrFレーザーをシリンダリカルレンズで線集光照射し、脂肪を蒸散した場合の切口の写真である。繰り返し周波数はともに2ppsである。脂肪はレーザー照射後に切口を開いた状態で撮影されており、蒸散深さはArFおよびKrFでそれぞれ、0.3, 2.5mmである。ArFレーザー蒸散の切口に比べて、KrFレーザー蒸散は非常に鋭利である。また、熱損傷も観られない。Figure 4にはArF,

Fig.3 Photographs of suet. (a) ArF laser-irradiated, (b) KrF laser-irradiated.

KrFレーザー光を幅 $100\mu\text{m}$ のスリットを通して牛脂肪に照射したときの光学顕微鏡写真を示している。繰り返し周波数はFig.3と同様に2ppsである。KrFレーザー照射ではスリットのエッジが鋭く現れているのに対して、ArFレーザーではそれが判然としない。ArFレーザー照射でスリットのエッジが観れないのは、上述のSpallationによる機械的破壊の結果と考えられる。

3.2 蒸散深さのレーザー繰り返し周波数依存性

ArFおよびKrFレーザーを用い、牛脂肪蒸散の繰り返し周波数依存性を測定した。前項で、蒸散能が認められなかったXeClレーザーについては、実験は行わなかった。レーザー照射条件は、フルエンス $0.4\text{J}/\text{cm}^2\cdot\text{pulse}$ 、パルス数100と一定にした。得られた結果をFig.5に示す。KrFレーザーの場合は、繰り返し周波数の増加に伴い蒸散能が低下する結果が得られた。この原因は、蓄積熱で脂肪が損傷、溶融したためである。実験的には5ppsの繰り返し周波数を越える辺りから、熱損傷の視認が可能となった。脂肪の溶融は、蒸散箇所の拡がりや蒸散面に凹凸を生成する。蒸散能の低下は、レーザーの散乱損失増加と溶け出した周りの脂肪が蒸散箇所流れ込むことに起因する。また、熱の効果を主

Fig.4 Microscopic views of suet. (a) ArF laser-irradiated, (b) KrF laser-irradiated.

Fig.5 ArF and KrF laser ablation of suet as a function of repetition rate.

Fig.6 Photographs of KrF laser-irradiated suet in the case of repetition rate of 50pps.

とした蒸散の生じる時間スケールはミリ秒程度と長く²¹⁾、入射レーザー光の飛散粒子による散乱も蒸散能低下の原因として無視できない。KrFレーザー蒸散を効率的に行うためにはパルス間隔中の冷却作用が重要なことが判った。Figure 6の写真は、繰り返し周波数50ppsのKrFレーザーを牛脂肪に線集光照射して蒸散を行ったときの切口の状態を示している。Figure 3と比べて切口は変色し、幅も相当広がっている。ArFレーザーでは、蒸散能は繰り返し周波数に依存せず、一定であった。ArFレーザーの場合は2～50ppsの繰り返し照射においても熱損傷の発現、溶解はなかった。

レーザー照射部周囲の熱損傷は、生体組織内の熱伝導によって生じる。簡単のため、熱損傷発現の繰り返し周波数依存性(パルス間隔依存性)を特性熱緩和時間を用いて検討する。特性熱緩和時間 τ は吸収係数 α を用いて次式で近似できる²²⁾。

$$\tau \approx \frac{1}{M\alpha^2\chi} \quad (2)$$

ここに、 M は無次元の形状係数、 χ は熱拡散率である。レーザーのパルス間隔が τ より十分長く、且つ、パルス幅が τ より十分に短い場合、レーザー照射部周囲に発生した熱はパルス間隔中に冷却の寄与を受けて散逸し、熱損傷層は生成されない。脂肪の熱拡散率は $1.31 \times 10^{-3} \text{cm}^2/\text{s}$ ²³⁾、KrFレーザー波長での吸収係数は前述のように 163cm^{-1} である。円盤状の加熱領域を仮定して $M=4$ とすると²²⁾、KrFレーザー照射による脂肪の特性熱緩和時間が(2)式より7.2msと求められる。繰り返し周波数2ppsは、パルス間隔500msに相当する。Figure 3, 4に示したようにKrFレーザーの低繰り返し照射で熱損傷が無いのは、特性熱緩和時間に比べてパルス間隔が十分長いためである。実験的には、前述のように5pps(パルス間隔：200ms)の繰り返し周波数を越える辺りから熱損傷が視認が可能であった。(2)式で評価した特性熱緩和時間の30倍程度のパルス間隔がマクロに熱損傷の観られる限界と考えられる。健康皮膚の特性熱緩和時間は0.45msであり⁸⁾、KrFレーザー照射による皮膚の熱損傷は特性熱緩和時間の約40倍であるパルス間隔20msから観測されたとの報告がある⁹⁾。これは、本実験の結果と矛盾しない。また、ArFレーザー照射では $\alpha=1270 \text{cm}^{-1}$ であるので、(2)式から特性熱緩和時間が0.1msと求められる。KrFレーザー照射の場合に比べて1/70程度短い。特性熱緩和時間の30倍の照射パルス間隔を熱損傷が観られない限界とすれ

ば、ArFレーザーでは350pps程度までの繰り返し周波数が熱損傷の抑制において許容できる。ArFレーザーの50ppsまでの高繰り返し照射で熱損傷が観られず、且つ、Fig.5に示したように蒸散深さに変化のないことが理解できる。

4. まとめ

生体脂質の紫外レーザー蒸散能を調べた。実験に用いた紫外レーザーはArF、KrFおよびXeClの各エキシマレーザーである。

脂質に対する蒸散能は、KrFレーザーが最も優れることが判った。これは主に光の浸透長が長いためである。また、効率的な蒸散のためには、 $0.4 \text{J}/\text{cm}^2$ 以上の照射フルエンスが必要なことが判った。低繰り返し照射では熱損傷は観られず、鋭利な蒸散が可能である。照射フルエンス $1 \text{J}/\text{cm}^2$ 、繰り返し周波数2ppsにおいて $22 \mu\text{m}/\text{pulse}$ の蒸散能を有する。これは、 CO_2 レーザーに比べて約20倍の能力を有していることになる。しかしながら、高繰り返し照射での蒸散能は低繰り返し時に比して著しく低下する。この原因は、脂肪の溶解によるものである。熱損傷、溶解を避けるためには特性熱緩和時間の約30倍程度のパルス間隔でレーザー照射すべきことが判った。KrFレーザーでは、繰り返し周波数5pps以内に制限されることを示した。

ArFレーザーは光浸透長が短いことおよび衝撃波の発生等による組織の形態破壊で著しく蒸散能に劣ることが判った。しかしながら、蒸散のしきい値がKrFレーザーに比べて1/6程度低いので薄い脂質膜等に対しては応用出来るものと思われる。また、ArFレーザーの蒸散能は50ppsまでの高繰り返し照射においても変化せず、脂肪の溶解は生じない。そのため、熱損傷、溶解を避ける意味でのArFレーザー照射は有用である。

紫外領域でも長波長側に属するXeClレーザーは、本実験の照射エネルギー範囲($1 \text{J}/\text{cm}^2 \cdot \text{pulse}$ 以下)では全く蒸散能を持たないことが示された。したがって、脂質への応用には向かない。

本研究では、脂質の蒸散に最適な紫外レーザーがKrFレーザーであることを示した。照射フルエンス $0.4 \text{J}/\text{cm}^2$ 以上、繰り返し周波数5pps以下において効率的な蒸散が可能であることを示した。

謝 辞

本研究に協力して頂きました秋田大介氏に感謝いたします。

参考文献

- 1) 久保 宇市：日本レーザー医学会誌 **9** (1988) 403.
- 2) T. F. Deutsch: Physics Today **41** (1988) 56.
- 3) R. Linsker, R. Srinivasan, J. J. Wynne, and D. R. Alonso: Laser Surg. Med. **4** (1984) 201.
- 4) S. T. Trokel, R. Srinivasan, and B. Braren: Am. J. Ophthalmol. **96** (1983) 710.
- 5) 天野 尚, 関谷 吉正：第12回日本レーザー医学会大会論文集 (1991) 289.

- 6) 中山 斌義, 久保 宇市: レーザー研究 **20** (1992) 845.
- 7) 中山 斌義, 久保 宇市: 第14回日本レーザー医学会大会論文集 (1993) 83.
- 8) N. P. Furzikov: IEEE J. Quantum Electron. **QE-23** (1987) 1751.
- 9) 荒井 恒憲, 岩谷 昭美, 菊池 真, 新井 克志, 三村 一夫: 電学論C **114** (1994) 821.
- 10) D. Akita, H. Nakano, T. Nakayama, and U. Kubo: J. Fac. Sci. Tec., KINKI University **31** (1995) 95.
- 11) 井村 伸正, 大島 泰郎, 黒川 正則, 永井 克孝, 三浦 謹一郎, 永島 昭二: 生化学ハンドブック (丸善, 1984) p.134.
- 12) R. C. Weast and M. J. Astle ed: *CRC Hand book of Chemistry and Physics* 60th edition (CRC Press, Inc., Boca Raton, 1980).
- 13) 秋田 大介, 中野 人志, 中山 斌義, 久保 宇市: レーザー学会学術講演会第14回年次大会予稿集 (1994) 286.
- 14) B. Halliwell and J. M. C. Gutteridge, 松尾 光芳, 嵯峨井 勝, 吉川 敏一: フリーラジカルと生体 (学会出版センター, 1988) p. 175.
- 15) 藤野 安彦: 脂質分析法入門 (学会出版センター, 1978) p. 183.
- 16) H. Nakano, T. Nakayama, and U. Kubo: Reports on Topical Meeting of the Laser Society of Japan, 1995 **RTM-95-21** (1995) 21.
- 17) H. H. G. Jellinek and R. Srinivasan: J. Phys. Chem. **88** (1984) 3048.
- 18) R. S. Dingus and B. P. Shafer: Proc. of SPIE **1202** (1990) 36.
- 19) J. T. Walsh, Jr and T. F. Deutsch: IEEE Trans. Biomed. Eng. **BME-36** (1989) 1195.
- 20) 土井 建治, 下山 義夫, 原口 能純, 中山 斌義, 久保 宇市: 近畿大学理工学部研究報告 **29** (1993) 127.
- 21) R. Srinivasan: J. Appl. Phys. **73** (1993) 2743.
- 22) A. Oraersky, R. O. Esenaliev, and V. S. Letoknov: Lasers in Life Science **5** (1992) 75.
- 23) F. A. Duck: *Physical Properties of Tissue* (Academic Press, New York, 1990) Chap. 2.