

Title	生体組織光学に基づく静脈内レーザー治療に関する研究
Author(s)	野添, 紗希
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/72411
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

生体組織光学に基づく静脈内レーザー治療に関する研究

Endovenous laser therapy based on tissue optics

2019年1月

大阪大学大学院工学研究科 環境・エネルギー工学専攻

量子エネルギー工学講座 量子ビーム応用工学領域 (栗津研究室)

博士後期課程2年 28H17816

野添 紗希

主査：栗津邦男 教授（量子ビーム応用工学領域）

副査：村田勲 教授（量子反応工学領域）、間久直 准教授（量子ビーム応用工学領域）

要旨

本研究の目的は、生体組織光学に基づいて、血管内レーザー治療を評価することであり、独自に構築した非臨床照射実験系を用いて、対象疾患である下肢静脈瘤に対する血管内レーザー治療(EVLA)の有効性と安全性について定量的に評価し、血管内レーザー治療のレギュラトリーサイエンスを確立させた。

有効性と安全性の高い EVLA を実施するためには、まず、医療機器のレーザーの波長の違いによって、生体組織内の光伝搬の違いを定量的に理解し、EVLA に最適なレーザー波長を選択する必要がある。次に、治療に有効な照射条件を決定するために、照射条件と静脈組織の相互作用について網羅的に検討し、治療に安全なエネルギー密度の把握を行うためには、臨床試験で行うことが困難な非臨床試験での苛酷条件での照射も行う必要がある。さらに、EVLA をシミュレーションにて評価できれば短期間で定量的かつ再現性の高い解析を行うことが可能となり、開発したレーザー照射系の臨床応用に向けて、薬事承認審査、及び臨床試験にかかる費用や時間を削減できる可能性がある。

本論文では、対象疾患である EVLA の有効性と安全性を、光学特性値の測定（第 2 章）、非臨床照射実験（第 3 章）、及びシミュレーションの構築（第 4 章）により定量的に評価した。

第 1 章では、背景、目的、及び構成について述べた。

第 2 章では、レーザーと生体組織の相互作用を定量的に理解するために、双積分球光学系を用いてヒト静脈瘤血管の光学特性値の測定を行い、逆モンテカルロ法を用いて血管の吸収係数と換算散乱係数を算出した。対象波長は、980 nm 及び 1470 nm である。

第 3 章では、臨床試験を模擬した非臨床試験を行うことで、レーザー照射方式・条件の違いによる有効性、及び安全性の比較を行う。980 nm 及び 1470 nm の 2 波長のレーザー装置と対応する光ファイバーの組み合わせにおいて照射実験を行った。独自に構築した非臨床照射系を構築して *ex vivo* 照射実験を行い、レーザーと生体組織との相互作用の定量的な評価、及び照射方式の違いによる有効性（血管組織の収縮を誘起する条件）、及び安全性（血管組織に穿孔を誘起しない条件）の比較を行う。さらに、臨床試験では評価できない苛酷試験も実施し、照射方式の違いによる安全性の評価を行った。

第 4 章では、血管内温度を推定するために生体組織光学に基づいてレーザー照射中の血管内温度分布を推定する計算機シミュレーションモデルを評価した。シミュレーションモデル構築により、短期間で定量的かつ再現性の高い解析が可能となる。

第 5 章では、本研究から得られた結論について述べた。

Abstract

The objective of this thesis is to evaluate endovenous laser ablation (EVLA) based on biological tissue optics. The efficacy and safety of EVLA for the varicose veins, which is a target disease, were quantitatively evaluated using a unique *ex vivo* irradiation experiment system and established the regulatory science of EVLA.

Firstly, the difference of light propagation in the living tissue is quantitatively needed to understand for performing effective and safe EVLA treatment between the wavelengths of the laser in the medical equipment. It is necessary to select an optimum laser wavelength. Next, in order to determine effective irradiation conditions for treatment, it is necessary to comprehensively examine the interaction between irradiation conditions and vein tissue. In order to understand the safe energy density for treatment, it is also needed to perform irradiation under severe conditions in *ex vivo* experiments which are difficult to perform in clinical trials. Furthermore, if EVLA can be evaluated by simulation, quantitative and reproducible analysis can be evaluated in a short period of time, and for clinical application of the developed laser irradiation system, it is necessary to conduct regulatory approval examination and clinical trial. There is a possibility that such cost and time can be reduced.

In this thesis, the efficacy and safety of EVLA for varicose veins, which is a target disease, were evaluated by measuring the optical properties (chapter 2), *ex vivo* irradiation experiment (chapter 3) and constructing a simulation model (chapter 4).

In chapter 1, general introduction, objective and outline of this thesis were described.

In chapter 2, in order to understand the laser-tissue interaction quantitatively, the optical properties of the varicose vein were measured. We used a semiconductor laser device with wavelengths of 980 nm and 1470 nm.

In chapter 3, to evaluate *ex vivo* irradiation experiment simulating clinical trials, the efficacy and safety by the difference in irradiation method were compared. Irradiation experiments were evaluated in three types including two wavelength laser devices at 980 nm and 1470 nm, and optical fibers. *Ex vivo* irradiation system was constructed and *ex vivo* irradiation experiment was evaluated. The quantitative evaluation of the interaction between laser and vein tissue and comparison of efficacy (irradiation condition which induces vein shrinkage) and safety (irradiation condition which induces vein perforation) by the difference of irradiation method evaluated. In addition, severe tests that cannot be evaluated in clinical trials were also conducted, and safety of EVLA was evaluated based on the difference in irradiation method.

In chapter 4, in order to estimate the intravascular temperature, the computer simulation model for estimating intravascular temperature distribution during laser irradiation was evaluated based on biological tissue optics. By constructing a simulation model, quantitative and reproducible analysis in a short period becomes possible.

In chapter 5, the total conclusion of this study was described.

目次

1. 序論.....	1
1.1. レーザー技術の医療応用に対する橋渡し研究.....	1
1.2. 血管内レーザー治療の対象疾患となる下肢静脈瘤.....	2
1.3. 下肢静脈瘤治療.....	4
1.4. 生体組織内の光伝搬.....	5
1.5. 本研究の目的.....	7
1.6. 本論文の構成.....	7
2. 静脈組織の光学測定値の測定.....	19
2.1. 対象.....	21
2.2. 光学特性値の算出方法.....	21
2.3. 光学特性値の測定結果.....	21
2.4. 考察.....	22
2.5. 結論.....	23
3. 非臨床照射実験.....	30
3.1. 対象.....	30
3.2. 実験方法.....	30
3.2.1. ヒト静脈壁表面へのレーザー照射.....	30
3.2.2. 臨床を模擬した照射実験.....	30
3.2.3. 組織学的評価方法.....	31
3.2.4. 組織に対する過剰照射実験.....	31
3.3. 実験結果.....	32
3.3.1. ヒト静脈壁表面へのレーザー照射効果.....	32
3.3.2. 臨床を模擬した照射実験.....	32
3.3.3. 組織に対する過剰照射実験.....	34
3.4. 考察.....	34
3.4.1. 有効性の比較.....	34
3.4.2. 安全性の比較.....	37
3.5. 結論.....	39
4. 血管内温度分布を推定する計算機シミュレーションモデルの構築.....	52
4.1. 試料と装置.....	52
4.1.1. 試料.....	52
4.1.2. 半導体レーザー.....	52
4.1.3. 光ファイバー.....	52
4.1.4. 温度計測システム.....	52

4.2.	光・熱伝搬シミュレーション.....	53
4.2.1.	光・熱伝搬シミュレーションの原理.....	53
4.2.2.	光・熱伝搬シミュレーションモデル内の温度分布算出過程.....	54
4.3.	EVLA 照射用光ファイバーの光出射プロファイル評価.....	54
4.3.1.	測定方法.....	55
4.3.1.1.	長軸方向の分布測定.....	55
4.3.1.2.	短軸方向の分布測定.....	55
4.3.1.3.	光ファイバー内の2つのコーン部からの光出射比率測定.....	55
4.3.2.	実験結果.....	56
4.3.2.1.	長軸方向出射プロファイル.....	56
4.3.2.1.	短軸出射プロファイル.....	56
4.3.2.3.	2つのコーン部から出射されるエネルギーの出射比率.....	56
4.3.3.	考察.....	56
4.4.	シミュレーションの妥当性の評価.....	58
4.4.1.	実験方法、及びシミュレーション方法.....	58
4.4.1.1.	静脈壁外側表面の温度計測実験.....	58
4.4.1.2.	レーザー照射前後の静脈の厚さ測定、及び組織学的評価.....	58
4.4.1.3.	シミュレーション方法.....	59
4.4.2.	実験結果.....	60
4.4.2.1.	EVLA 非臨床照射系における静脈壁外側の温度.....	60
4.4.2.2.	焼灼後の断面の組織学的調査.....	60
4.4.2.3.	シミュレーション結果.....	61
4.4.3.	考察.....	61
4.5.	結論.....	63
5.	結論.....	83
	業績一覧.....	88
	謝辞.....	91

略称

2RF	2 ring fiber
ASV	Accessory saphenous vein
BF	Bare fiber
CONV	Convolution for responses to a finite diameter photon beam incident on multi-layered tissues
D	Dermis
DC	Deep compartment
DVD	Digital Versatile Disc
DVT	Deep vein thrombosis
ELCA	Excimer laser coronary angioplasty
EVLA	Endovenous laser ablation
Er: YAG	Erbium: Yttrium Aluminum Garnet
FDA	Food and drug administration
HE	Hematoxylin-Eosin
Ho: YAG	Holmium: Yttrium Aluminum Garnet
IMC	Inverse Monte Carlo
LASER	Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation
MASER	Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation
MCML	Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues
MF	Muscular fascia
Nd: YAG	Neodymium: Yttrium Aluminum Garnet
PBS	Phosphate buffered Saline
PMDA	Pharmaceuticals and Medical Devices Agency
QOL	Quality of life
RF	Radial fiber
RFA	Radiofrequency ablation
SC	Superficial compartment
SF	Saphenous fascia
SN	Saphenous nerve
SV	Saphenous vein
SaphC	Saphenous compartment
TLA	Tumescent local anesthesia
TMLR	Transmyocardial surgical laser revascularization
YAG-OPO	Yttrium Aluminum Garnet-Optical Parametric Oscillator

1 序論

1.1 レーザー技術の医療応用に対する橋渡し研究

レーザー (LASER) は、1954 年のタウンズらによるマイクロ波領域で動作するアンモニア分子メーザー (MASER) が開発されたことに端を発した。メーザーはマイクロ波の増幅器や発振器としての優れた低雑音性から、衛星通信用の初段増幅器に利用された。もう一つの重要な特性である、原理的に取り扱える周波数を光波領域まで高くできる点については、シャロウ、タウンズにより原理的に議論され、1960 年にメイマンによるルビーを用いた固体レーザーの成功をもたらした。さらに、1961 年 He-Ne を用いた気体レーザーや、1962 年の GaAs 半導体レーザーの発振、1970 年にダブルヘテロ構造半導体レーザーによる室温連続発振が実現した。レーザーを中心に新しく光波を用いた科学技術が急速な発展を見せたのは、光通信の本格的な展開が大きく影響している。1970 年以降、通信の伝送媒体である光ファイバーの開発も大きく発展したことにより、光源としてのレーザーも含め、その後の 10 年間で革新的な技術が確立されていった。通信以外にも DVD などの光メモリにも使用されるなど、一般的な展開を見せる一方、固体レーザーやファイバレーザーなどの高出力化による産業分野への展開も活発な動きを見せている^[1]。

医学へのレーザーの適用も例外でなく、計測やイメージング、治療用の光源としても応用が進んでいる。土田らがまとめた 2016 年 3 月までに保険収載されているレーザー治療に関する実態調査^[2]によると、皮膚科、眼科、脳神経外科、呼吸器外科、耳鼻科、泌尿器科、婦人科など広範囲な領域でレーザー治療が行われている。Fig. 1-1 に本邦治療用レーザーの普及についてまとめた。台数は、歯科では切開、止血などを目的に 15000 台超、形成外科や外科では疼痛治療を目的に 15000 台超など普及が進んでいるが、血管内に対するレーザー治療の普及は依然として課題である。

国内で保険適用の治療として一般的に普及するには、医療機器の審査・承認の実務を担当する独立行政法人医薬品医療機器総合機構 (Pharmaceuticals and Medical Devices Agency; PMDA) の審査を受け、承認される必要がある。この審査に時間がかかるため、海外で標準的に使用されている医療機器が日本では使えない、いわゆる「デバイスラグ」は喫緊の課題であり、そのラグは 19 ヶ月^[3]と言われている。デバイスラグ及び医療機器製品化の困難さについては、様々な原因が考えられるものの、申請された品目の有効性、安全性、品質に関するデータが不十分であるために、審査中に追加の試験が必要となり長期化する事例が見られる^[4]。この理由として、医療機器の評価の考え方、及び手法が確立されていないため、実用化につながりにくいことが挙げられる。この評価手法をレギュラトリーサイエンスと呼ぶ。具体的には、「科学技術の成果を人と社会に役立てることを目的に、根拠に基づいた確かな予測、評価、判断を行う、科学技術の成果を人と社会の調和の上で最も望ましい姿に調整するための科学」と定義されており、第 4 次科学技術基本計画として平成 23 年 8 月 19 日に閣議決定されている。さらに、PMDA において、レギュラトリーサイエンスを推進する動きが活発になっている。平成 26 年 5 月 30 日に制定された健康医療戦略推進法においては、

「医療分野の研究開発の成果の実用化に際し、その品質、有効性及び安全性を科学的知見に基づき適正かつ迅速に予測、評価及び判断することに関する科学の振興」、すなわち、レギュラトリーサイエンスの振興を図っていくことが、国の方針として打ち出されている^[5]。

現在、医療機器の迅速な承認を推進するうえで、臨床試験を行う前段階において、非臨床試験を行うことが重要である。Fig. 1-2 に、平成 28 年 6 月 29 日に発出されたレーザー治療機器に対する臨床試験成績の要否の考え方を示す。Fig. 1-3 には、Fig.1-2 中に示されている別添 2 の内容を示す。この資料が発出される以前は、レーザー治療機器は、波長を指定した上で承認がなされていた。一例として、歯科治療に用いられる波長 10600 nm の炭酸ガスレーザーが挙げられる。その機器が承認された後に、後発の機器としてレーザーの波長が異なる場合は、臨床試験を含めて全ての試験を行う必要があった。臨床試験は、人体にて試験が行われることから、金銭面及び時間の両面で莫大なコストがかかり、これがデバイスラグの一因にもなる。しかし、今回の文書によれば、①使用目的及び作用原理が同一の既承認品が存在するが、②性能及び使用方法に既承認品との同等性が認められない場合であっても、⑤既承認品との差分にかかる臨床的な影響を非臨床試験において評価できれば、臨床試験の成績の提出が不要となる。つまり、審査に耐えうる質の高い非臨床データを構築し、前臨床で適切なリスクマネジメントを行うことができれば、臨床試験の成績がなくとも、レギュラトリーサイエンスを確立^[6]し、デバイスラグを解消できる。

日本では、新しい医療機器が開発されるたびに最適な照射条件を求めるのは術者である医師が行っている。医師が非臨床実験を行っており、多忙を極める医師が全てを執り行うのは困難である。その解決方法として、開発段階から非臨床試験を開始すること、及び企業、医師、及び大学などの施設間の意思疎通、つまり臨床と産学官の連携を非臨床試験の早い段階から行っていくことで、効率よく試験を進めていくことができると考えている。この連携により、デバイスラグが解消され、日本において有効性及び安全性の高い医療を迅速に普及することが可能となる。

1.2 静脈内レーザー治療の対象疾患となる下肢静脈瘤

血管内レーザー治療には、動脈を対象とした下記の 2 種類がある。冠動脈に挿入されたカテーテルの先端からレーザーを照射し、閉塞した血管を開通させるエキシマレーザー冠動脈形成術 (ELCA) や、心外膜側から内膜側へ CO₂ レーザーを照射し、左心室腔と虚血心筋間に新しいチャンネルを作り出し、虚血心筋へ血流を導く経心筋血行再建術 (TMLR) ^[7] が挙げられる。本研究では、静脈を対象とした唯一のレーザー治療 (対象疾患：下肢静脈瘤) が日本に普及していない点に着目した。

下肢静脈瘤は、欧米において女性の 25%、男性の 15%が罹患する一般的な疾患である^[8]。Fig.1-4 に、米国の下肢静脈瘤治療件数を示す。2002 年の 16 万件から 2008 年には 50 万件に達し、劇的に増加している^[9]。この背景として、アメリカ食品医薬品局 (Food and drug administration; FDA) が 2002 年に下肢静脈瘤に対する血管内治療機器である波長 980 nm の

半導体レーザーを承認し、また、2008年には波長 1470 nm の半導体レーザーを承認したことが挙げられる。我が国においても、厚生労働省統計情報部が発表した最新のデータによると、日本の下肢静脈瘤の患者数は年々増加してきている(Fig. 1-5)^[10]。しかし、初期の状態では目立った症状もないことから、受診しないことも多い。そのため潜在患者数は約 1000 万人と推定されている^[11]。2010年6月、日本においても波長 980 nm の半導体レーザーが PMDA によって機器承認を受け、2011年1月には保険が適用された。本研究は、日本における下肢静脈瘤の血管内治療を受ける患者数が増加することを見込み、同年に開始した。

下肢静脈系

下肢静脈系は表在静脈、深部静脈及び穿通枝からなる。表在静脈は大伏在静脈と小伏在静脈に分けられ、伏在静脈は浅在筋膜と深在筋膜の間に存在する。大伏在静脈は 60~80 cm の長さを持つ最長の静脈であり、腓骨の内果の背側を通り単径部までを上行している。小伏在静脈は腓骨の外果の背側を通り、膝窩部で膝窩静脈に合流する。どちらの静脈も穿通枝を通り、表在静脈から深部静脈へ還流する^[12]。深部静脈は下肢静脈系の 90%もの血液を運んでいるが、これは深部静脈を取り囲んでいる筋膜が血液の環流を助けているためである。一方で、大伏在静脈は、挟まれている筋膜に対して保持する血液量が多く、下肢の他の静脈よりも静脈瘤ができやすいといわれている^[13]。下肢静脈系の模式図を Fig. 1-6 に示す。静脈壁は内側から順に内膜、中膜、外膜の異なる 3 層の組織で構成されている。静脈壁は、平均的な厚さが血管径の 1/10 以下と、その径と比較して相対的に薄く、そして流れる血液の容量と圧力の変化に対応するための拡張性を有している。さらに、下肢の静脈にはフラップのような弁を形成する薄い内膜のヒダで構成される静脈弁がある。通常、静脈内の血圧は低く、時に血液の逆流が生じるが、静脈弁が血液の逆流を防ぎ、静脈血の心臓への還流を助けている。静脈弁は大伏在静脈には 10~12 個、小伏在静脈は 9~12 個程度存在する。

下肢静脈瘤

下肢静脈瘤とは、静脈弁不全によって血液が逆流し、静脈が拡張、蛇行する静脈の疾患である。良性疾患だが、一度発症すると自然治癒することはほとんどない。重症化すると周囲の細胞が炎症を起こし、色素沈着や潰瘍に発展するため、治療が必要になる。

下肢静脈瘤は一次性静脈瘤と二次性静脈瘤に分けられる。伏在静脈(大伏在静脈及び小伏在静脈)の弁不全が直接的な要因として挙げられる場合を一次性静脈瘤と呼び、下肢静脈瘤のうち 95%が一次性である。下肢から心臓に血液が戻る際に、血液の 90%は深部静脈を通る^[14]。伏在静脈は深部静脈の予備の血管として血液を送っているため、弁不全を起こした伏在静脈は血管としての役割を果たさなくなる。原因として、長時間の立位、妊娠などによる部分的緊縛、老化などによる血流の鬱滞から静脈圧が上昇し、弁不全を起こすことが考えられている。本論文はこの一次性の静脈瘤を対象としている。

二次性静脈瘤は、下肢静脈瘤の中では5%を占める。深部静脈の還流障害により交通肢の弁不全を引き起こす。原因として骨盤内の腫瘍、先天的血管異常、外傷などによる動静脈の異常な接合、深部静脈血栓症などがある。この二次性の静脈瘤は静脈瘤血管内焼灼術の対象とはならない^[14]。

1.3 下肢静脈瘤治療

下肢静脈瘤の治療には、保存的治療、硬化療法、外科治療、そして血管内治療がある。Table 1-1 に下肢静脈瘤の治療内容と目的を示す^[15]。

保存的治療とは、弾性ストッキングを着用し下肢を圧迫することで血流のうっ滞を防ぎ、症状の軽減や、外科治療後の合併症及び再発予防を行う治療である。

硬化療法とは、くもの巣上・網目状・側枝型静脈瘤が対象であり、静脈瘤内に硬化剤となる界面活性剤を注入し、血管内皮を傷害することで、血管を閉塞させる治療法である。硬化剤を注射して圧迫するため、低侵襲であり、外来治療が可能である。しかし、静脈瘤の再疎通率は5年で64%と報告されている^[14]。外科治療には、高位結紮術とストリッピング手術がある。

高位結紮術は、臍径部または膝窩部で伏在静脈と深部静脈の接合部を結紮する方法で、局所麻酔のみで短時間で行うことが出来るが、再発率は10年で37~56%と高い^[16]。ストリッピング術は、全身もしくは下半身の麻酔下で、静脈内に挿入した細いワイヤと静脈を糸で結び、ワイヤごと静脈を抜き取る方法である。しかし、神経障害などの合併症を高確率に伴うことが問題となっている。術後5年後の完全閉塞率は75.7%である^[17]。

最後に、血管内治療には、ラジオ波治療と血管内レーザー焼灼術がある。ラジオ波治療 (Radiofrequency ablation; RFA) は、本体にて発生させた高周波がカテーテルに送られ、先端部の発熱コイルを加熱し、その熱で静脈壁を凝固変性させることで血管を閉塞させる治療である。1990年頃から施行され^[14]、2014年にはセグメンタルタイプのカテーテル (ClosureFAST™) が厚生労働省に認可された。ラジオ波治療は従来のストリッピング術と比較して良好な成績を示し^[18-22]、他施設共同試験では286肢において術後1週間で完全閉塞93%、術後5年の長期では87%の完全閉塞率が報告されている^[23]。ラジオ波治療後のおもな合併症は神経障害、深部静脈血栓症、肺塞栓、静脈炎、感染及び皮膚熱傷がある^[14]。初期には、深部静脈血栓症や神経障害、皮膚熱傷などが比較的高率に認められた^[23]が、TLA (tumescent local anesthesia) 麻酔の使用など治療法の変更により、これらの合併症は減少している。ラジオ波治療では、血管内レーザー焼灼術に比べて神経障害及び深部静脈血栓症が多い^[24]。

本研究の対象である血管内レーザー焼灼術 (endovenous laser ablation; EVLA) はレーザー光を導光した光ファイバーを静脈瘤内に挿入し、内側からレーザーを照射することで静脈壁を凝固変性させ血管を閉塞させる治療である。EVLAは伏在静脈不全に対する低侵襲かつ効果的な治療法であり、治療後の静脈閉塞率は約95%と良好な成績が報告されている^[25]。

ラジオ波治療はカテーテルを熱源として挿入し、静脈の収縮を誘起している。EVLA も最終的には収縮を誘起する治療であるが、レーザー波長と生体組織の相互作用（1.4に後述の光熱作用）を定量的に理解することで、低侵襲で効率の良い治療となりうる。EVLA の基本的な手技は、医師によるガイドライン^[14]が作成されており、①光ファイバーの静脈内挿入、② TLA 麻酔の施行、③レーザーによる静脈の焼灼の 3 つの手順からなる。まず、施術前に室温は高めに保ち、患者を逆 Trendelenburg 体位あるいは半座位にして静脈を拡張させる。静脈瘤部に局所麻酔を施行し、超音波ガイド下で膝周囲の大伏在静脈を留置針で穿刺し、ガイドワイヤーを挿入する。ガイドワイヤーが大腿静脈接合部から大腿静脈に正しく入っていることを確認し、イントロデューサーシースをガイドワイヤーに沿って挿入する。続いて、ガイドワイヤーを抜去した後、TLA 麻酔を施行する。超音波検査でシースを確認しながら、TLA 麻酔液を伏在静脈周囲に正確に浸潤する。大伏在静脈が皮膚に近い部位では、皮膚から大伏在静脈が 10 mm 以上離れるように TLA 麻酔を施行する。そして、超音波検査の短軸像で TLA 麻酔液が大伏在静脈周囲に浸潤されていることを全長にわたって確認する。シース内に光ファイバーを挿入し、超音波検査でファイバーの先端が浅腹壁静脈分岐部直下にあることを確認する。レーザー装置の出力、照射パターンを確認し、超音波検査用プローブで外から対象静脈を圧迫することによって、静脈とファイバーを密着させる。ファイバーを牽引装置にて牽引しながらレーザーを照射する。その時、照射エネルギー密度が 50 J/cm 以上（目標 70~100 J/cm の間）となるようにする。皮膚を焼灼しないように注意し、大伏在静脈末梢までレーザーを照射した後、レーザー照射を停止し、ファイバーを引き抜く。焼灼を終了した後、超音波検査にて静脈の閉塞状況、大腿静脈の血栓及び損傷の有無を観察する^[14]。

2008 年に日本で行われた EVLA の多施設ランダム化比較試験では、関連を否定できない有害事象は 62 例中 55 例 119 件であった。その主なものは出血斑 (56.5%)、疼痛 (37.1%)、表在性静脈炎 (19.4%)、皮膚熱傷 (1.6%)、神経障害 (1.6%)、その他 (41.9%) であった^[14]。これらの有害事象は患者の術後のクオリティ・オブ・ライフ (Quality of life; QOL) を低下させる他、患者は男女比では 1:2.5 と女性に多い^[26]ことから美容上の問題も重要である。Table 1-2 に文献で報告されている EVLA の治療成績と合併症の発生率を示す^[26-34]。選択するレーザーの波長や、発生した有害事象の種類が報告者によって異なっている。これは、EVLA の治療において見解が統一されていないことが原因である。具体的には、各レーザー装置の波長の特性が定量的に理解されていないことや、レーザーの照射条件に一定の見解がなく、医師の経験に基づいて治療がなされていることが挙げられる。

1.4. 生体組織内の光伝搬

Fig. 1-7 に、パワー密度・相互作用時間と生体相互作用の関係について示す。相互作用時間がフェムト秒からピコ秒の場合は高エネルギー光化学作用、ナノ秒からマイクロ秒の場合は光機械作用、マイクロ秒以上の場合は光熱作用、ミリ秒程度、準連続波、連続波の場合は低エネルギー光化学作用にそれぞれ対応した時間領域に分類される。これらの相互作用

はパワー密度と相互作用時間の組み合わせによって制御できる。低出力が長時間作用すれば光化学作用が働き、極めて高い出力が極端時間作用すればプラズマが発生し光破壊が生じる。これらの間が光熱作用と呼ばれ、出力の弱い順に凝固、蒸発、蒸散である。EVLAにおけるレーザー波長と組織の相互作用は光熱作用に該当する。組織温度が 60–65°Cに上昇すると、タンパク質が凝固し灰白色凝固出血斑が形成される。組織温度が 100°Cになると、細胞・組織内の水が蒸発する。さらに高出力レーザーが組織に照射されると、組織温度が 100°C以上に急激に上昇し、組織が蒸散する。Fig. 1-7 に示すように、誘起すべき相互作用が決定すると、相互作用時間とパワー密度の組み合わせが一意に決まる。同時に、レーザー波長を設定することによって、励起する分子振動（官能基）を特定できる。このように、相互作用の高精度な制御にとって、レーザーのパルス幅、パルス間隔、パワー密度に加え、レーザー波長を独立に設定することが重要となり、これがレーザー医療の低侵襲化につながる^[35]。

有効性と安全性を評価し、レーザー治療の普及に重要なことは、生体組織内の光伝搬を定量的に理解することである。レーザー光が生体組織に照射されると組織表面でレーザー光の一部は反射し、残りは吸収・散乱され組織を透過する。組織内に侵達したレーザーのエネルギーは光吸収物質に吸収され、熱に変換されることで、細胞や組織を熱的に凝固・炭化させる。レーザーによる静脈閉塞に強く影響を与えるのがレーザーの波長である。近赤外レーザーに対して生体内に存在する主な光吸収物質は水とヘモグロビンであり、それらの吸収スペクトルは波長に強く依存する^[36]。これまでに臨床で使用されてきたのは主に波長 810、940、980、1320、1470 nm のレーザーである。これらのレーザーに対する吸収物質は波長によって異なる。Table 1-3 にヘモグロビンと水の吸収係数^[37]を示す。波長 810~980 nm のレーザーは、水と比較すると血液内のヘモグロビンに吸収される。レーザーと静脈壁との間に血液が介在する場合、レーザー光は血液に効率的に吸収されるが、後述する hot tip が光ファイバー先端に形成され、穿孔が生じる可能性がある。レーザーと静脈壁との間に血液が介在しない場合、焼灼に時間を要し、比較的広範囲に光が到達してしまい、周囲への熱損傷の可能性が高くなる。波長 1320 nm、及び 1470 nm のレーザーは血液及び血管壁に多く含まれる水に強く吸収される。その結果、血管内の血液の有無に制限されず、より少ないエネルギーで血管を収縮させることができる。加えて、組織深部まで光が到達しないため、より高効率で安全な治療が期待できる。

安全かつ有効な照射用ファイバーやレーザー光源などのレーザー照射系を開発するためには、設定した照射条件に対して EVLA 中の血管内の温度分布がどのように形成されるか明らかにすることが重要である。また、開発したレーザー照射系の臨床応用に向けて、薬事承認審査、及び臨床試験にかかる費用や時間を削減することは重要である。臨床試験で行うことが困難な最適なレーザー照射条件の網羅的な検討や、過酷な条件を想定した場合の熱影響の深さの評価などに対して、シミュレーションを用いて代替することができれば短期間で定量的かつ再現性の高い解析を行うことが可能となる。

1.5. 本研究の目的

本論文では、現在開発されている機器や光ファイバーを用いて、有効性と安全性を比較するための非臨床試験を行う。すなわち、前節で述べた課題を解決するために、下記の検討を行う必要がある。

まず、医療機器のレーザーの波長の違いによって、生体組織内の光伝搬の違いを定量的に理解するために、静脈組織と血液の光学特性値の測定を行う。この評価を行うことで、レーザー装置の波長の特性が定量的に理解でき、血管内レーザー治療に最適なレーザー波長を選択できる。

レーザーの照射条件に一定の見解がなく、医師の経験に基づいて治療がなされているという課題については、非臨床試験を行うことによって、レーザー照射条件と静脈組織の相互作用について網羅的に検討する必要がある。この検討を行うことにより、静脈組織に与えられるエネルギー密度と、組織の相互作用を定量的に把握し、治療に有効なエネルギー密度の範囲が把握できる。さらに、臨床試験で行うことが困難な苛酷条件での照射も行うことで、治療に安全なエネルギー密度の把握ができる。

さらに、血管内レーザー治療をシミュレーションにて評価できれば短期間で定量的かつ再現性の高い解析を行うことが可能となる。安全かつ有効な照射条件に対して EVLA 中の血管内の温度分布がどのように形成されるか明らかにすることが可能となる。また、開発したレーザー照射系の臨床応用に向けて、薬事承認審査、及び臨床試験にかかる費用や時間を削減することができる可能性がある。

本研究の目的は、生体組織光学に基づいて、血管内レーザー治療を評価することである。独自に構築した非臨床照射実験系を用いて、対象疾患である下肢静脈瘤に対する血管内レーザー治療の有効性と安全性を、光学特性値の測定、非臨床照射実験、及びシミュレーションの実施により定量的に評価することで、血管内レーザー治療のレギュラトリーサイエンスを確立させる。

1.6. 本論文の構成

第2章では、レーザーと生体組織の相互作用を定量的に理解するために、静脈瘤血管の光学特性値の測定を行った。下肢静脈瘤の血管内治療用波長 980 nm の半導体レーザー装置と、新規の波長として注目されている 1470 nm 半導体レーザー装置機器を用いた。

第3章では、臨床試験を模擬した非臨床試験を行うことで、照射方式の違いによる有効性、及び安全性の比較を行う。980 nm 及び 1470 nm の2波長のレーザー装置と、従来の光ファイバー及び海外で使用されている光ファイバーを含めた3種において照射実験を行った。独自に構築した非臨床照射系を構築して *ex vivo* 照射実験を行い、レーザーと生体組織との相互作用の定量的な評価、及び照射方式の違いによる有効性、及び安全性の比較を行う。さらに、臨床試験では評価できない苛酷試験も実施し、照射方式の違いによる安全性の評価

を行う。

第 4 章では、血管内温度を推定するために生体組織光学に基づいてレーザー照射中の血管内温度分布を推定する計算機シミュレーションモデルを評価した。シミュレーションモデル構築により、短期間で定量的かつ再現性の高い解析が可能となる。

第 5 章では、本研究から得られた結論について述べた。

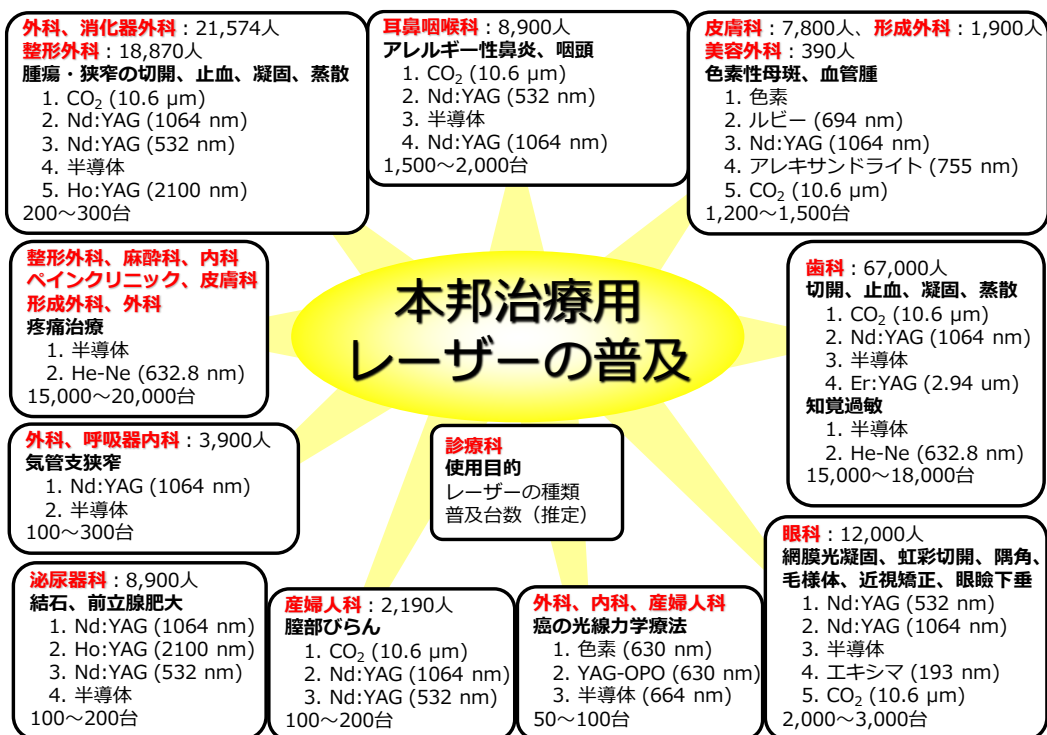


Fig. 1-1 本邦治療用レーザーの普及

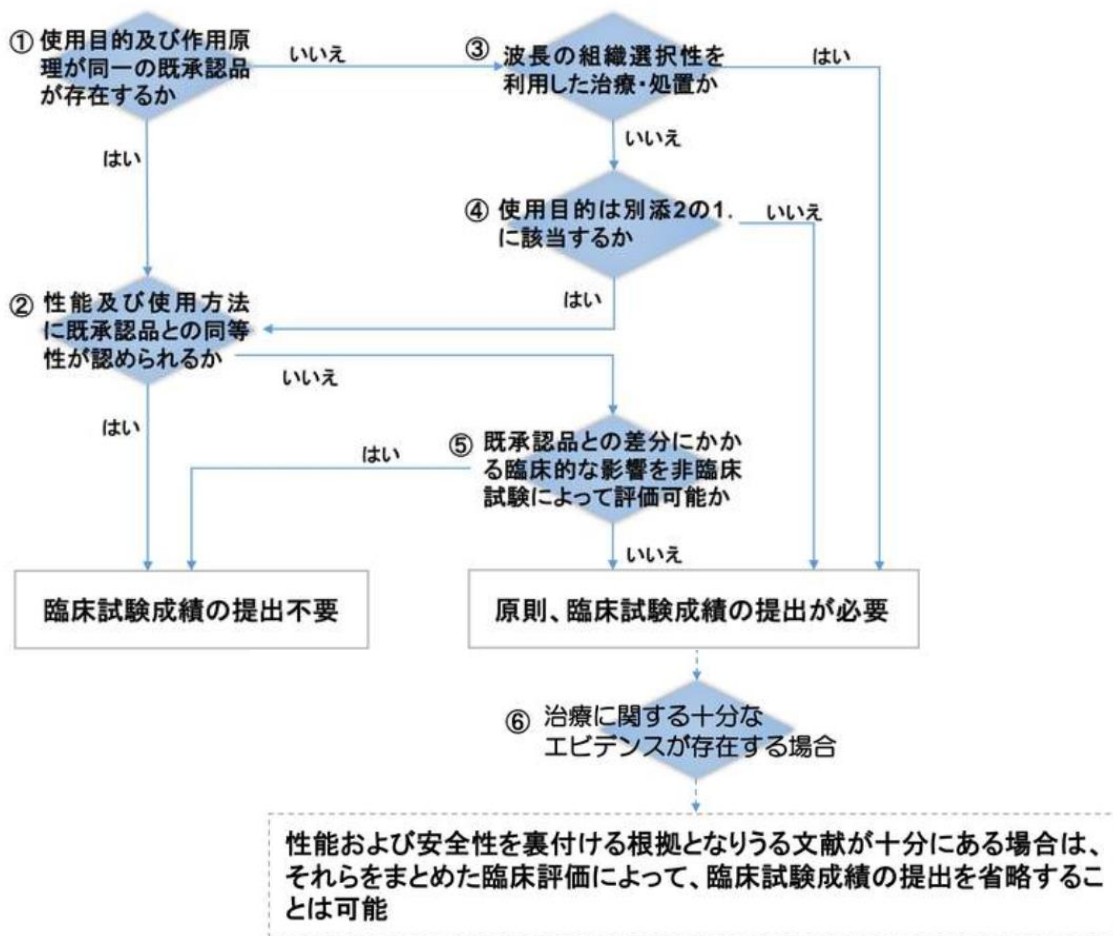


Fig. 1-2 臨床試験成績の要否の考え方

「レーザー医療機器の承認申請の取扱いについて」別添 5^[32]

レーザー医療機器の使用目的

レーザー医療機器の承認申請に際しては、当該機器の開発の経緯及び外国等の使用実態に鑑みて、想定される適切な使用目的を全て承認申請書に記載すること。

1. 臨床不要通知の対象とされた使用目的(外科的処置)

- ・生体組織の切開
- ・止血
- ・病変組織の切除、凝固又は蒸散

2. 1.以外の使用目的(例)

- ・う蝕、歯石の除去
- ・皮膚良性色素病変の治療
- ・刺青の除去
- ・皮膚血管病変の治療
- ・脱毛
- ・皮膚の瘢痕の治療、結石の破碎、等

Fig. 1-3 レーザー医療機器の使用目的

「レーザー医療機器の承認申請の取扱いについて」別添 2^[32]

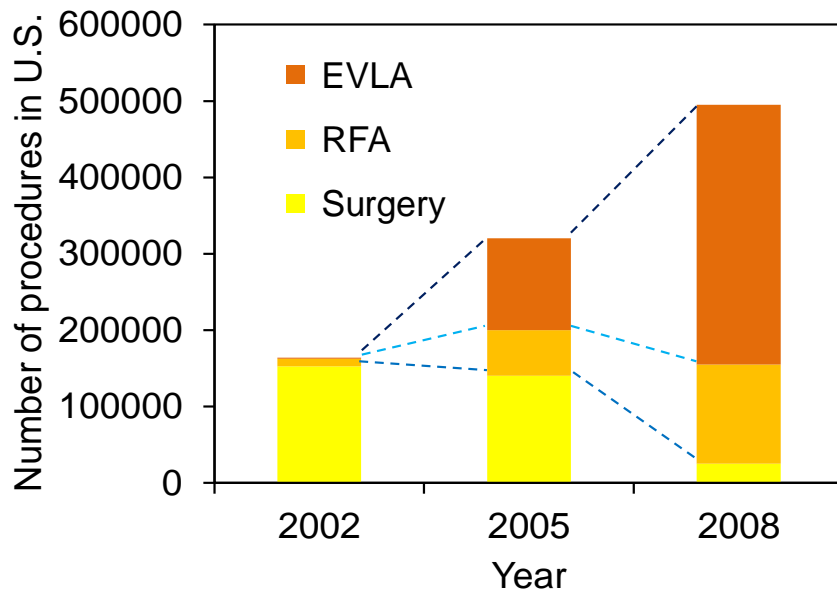


Fig. 1-4 Number of procedures in U.S.
Endovenous laser ablation; EVLA. Radiofrequency ablation; RFA.

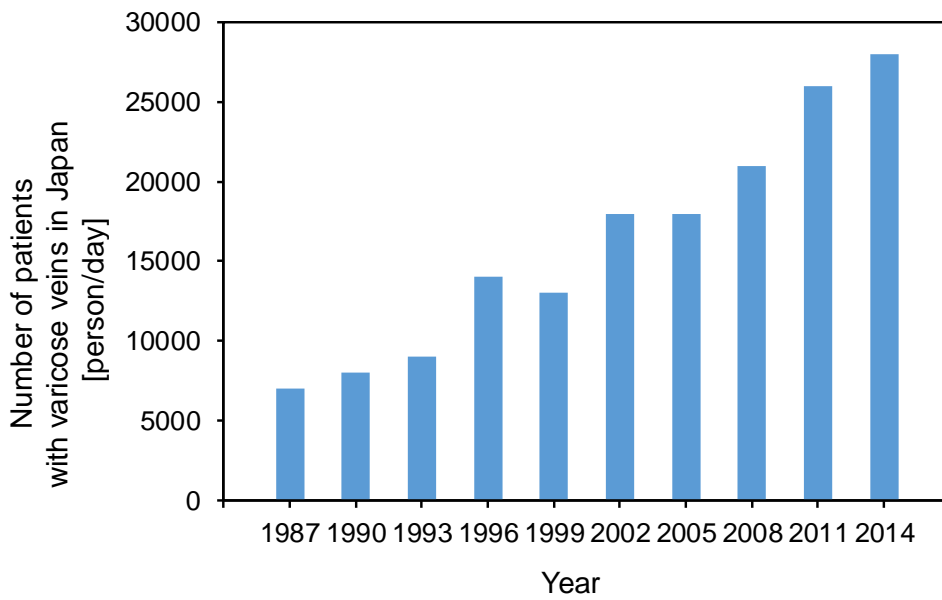


Fig. 1-5 Number of patients with varicose veins in Japan^[3].

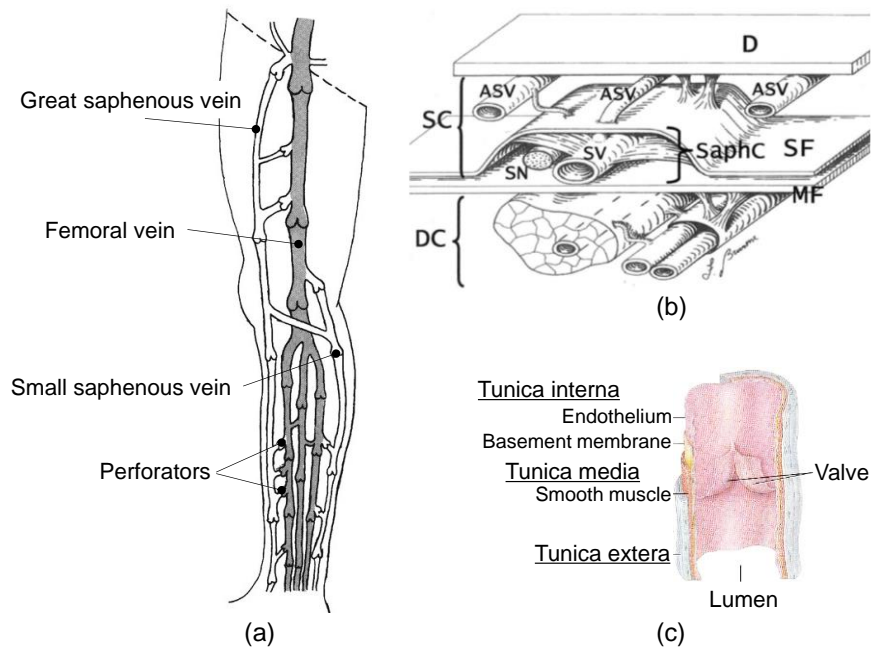


Fig. 1-6 (a) Schematic of leg veins^[38].

(b) Sectional view of leg veins. SaphC: saphenous compartment, SF: saphenous fascia, MF: muscular fascia, SV: saphenous vein, SN: saphenous nerve, ASV: accessory saphenous vein, D: dermis, SC: superficial compartment, DC: deep compartment^[38].

(c) Schematic of vascular lumen^[12].

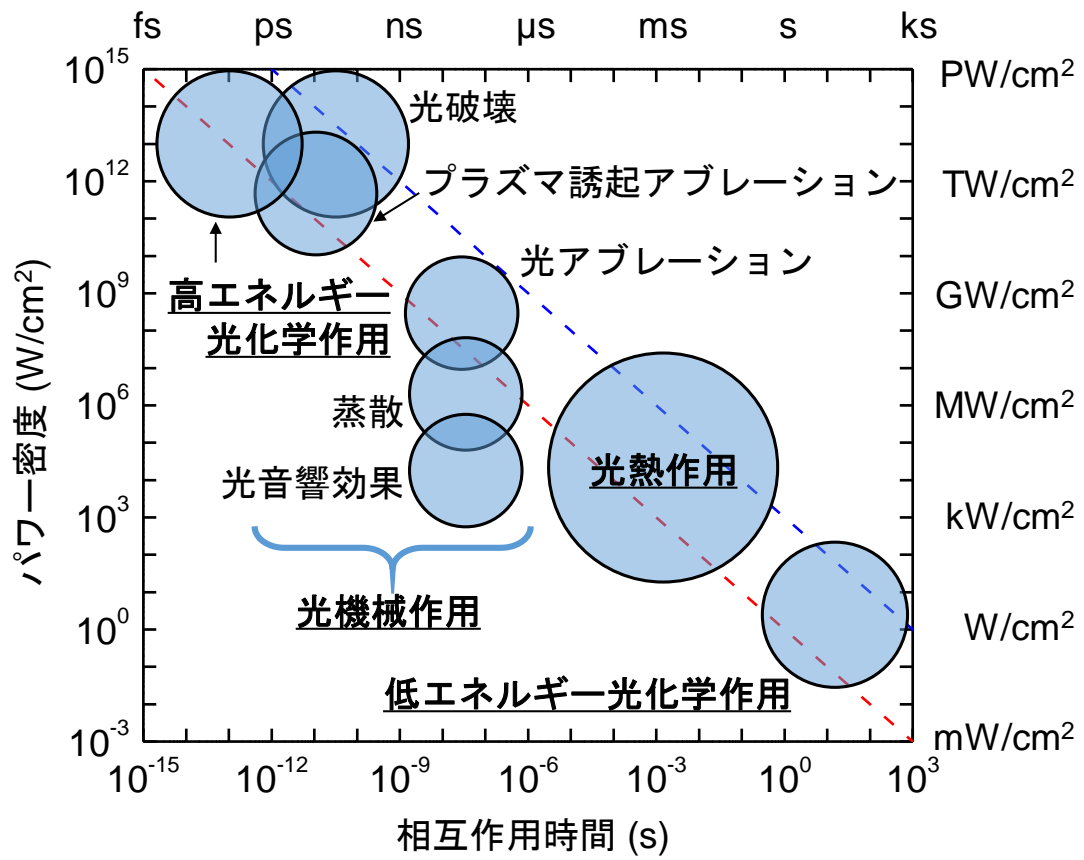


Fig. 1-7 Laser-tissue thermal interaction [35].

Table 1-1 下肢静脈瘤の治療内容と目的

治療法	治療内容	目的	
保存的治療	弾性ストッキング着用	症状の軽減、外科治療後の合併症、再発予防	
硬化療法	界面活性剤の血管内注入	くもの巢上・網目状・側枝型静脈瘤の損傷、閉塞	
外科治療	高位結紮術	逆流している血管の根元を結紮	伏在静脈の血流を阻止
	ストリッピング術	弁不全を起こした静脈を下肢から抜去	伏在静脈の静脈瘤を根治
血管内治療	ラジオ波治療	静脈内に挿入したカテーテルからラジオ波で熱を与える	伏在静脈の損傷、閉塞
	血管内レーザー治療	静脈内に挿入したカテーテルからレーザーで熱を与える	伏在静脈の損傷、閉塞

Table 1-2 Treatment outcome and adverse events of EVLA in literatures.

Author	Year	Wavelength/power	Limbs (n)	Mean Follow-up	Occlusion rate	Bruising	Phlebitis /pain	DVT	Paresthesia
Navarro ^[19]	2001	810 nm/10-14 W	40	4M	100%	-	0	0	0
Proebstle ^[20]	2003	940 nm/15 W	109	12M	90.4%	-	10%	0	0
Min ^[21]	2003	810 nm/14 W	499	17M	93.4%	24%	5%	0	0
Agus ^[22]	2006	810, 980 nm/12.5 W	1081	36M	97%	37.5%	7.1%	0	0.7%
Almeida ^[16]	2006	810-1320 nm	578	160D	92%	-	-	0.2%	0.3%
Prince ^[23]	2008	980 nm/12 W	471	5M	98%	-	-	0	3.4%
Theivacumar ^[24]	2008	810 nm/12 W	644	>3M	93%	-	10.2%	0.2%	1.1%
Nwaejike ^[25]	2009	810 nm/10-14 W	624	>20M	100%	-	1%	0	1.0%
Pannier ^[26]	2009	1470 nm	117	184D	100%	-	2.2%	0	7.6%
Hirokawa ^[27]	2014	980 nm	56	3M	100%	57.1%	25%	0	1.8%
		1470 nm	57	3M	100%	7%	0	0	0

DVT; Deep vein thrombosis

Table 1-3 The absorption coefficient of hemoglobin and water^[35].

Wavelength (nm)	810	940	980	1320	1470
μ_a (mm ⁻¹) Hemoglobin	0.15	0.20	0.20	0.35	4.00
Water	< 0.01	0.03	0.05	0.20	3.40

参考文献

- [1] 伊藤弘昌. フォトニクス基礎 p.1 朝倉書店 2009.
- [2] 土田 敬明, 平成 28 年診療報酬改訂におけるレーザー治療, 日本レーザー医学会誌, 2016, 37 巻, 1 号, p. 110-112, 2016.
- [3] 鈴木由香: 医療機器審査と審査迅速化への取り組み. 日本レーザー医学会誌, 33(1): 38-42, 2012.
- [4] 橋新裕一: 光・レーザーの安全基準とその動向. 日本レーザー医学会誌, 33(1): 27-33, 2012.
- [5] PMDA HP <http://www.pmda.go.jp/rs-std-jp/outline/0001.html>
- [6] 伊関洋, 村垣善浩, 丸山隆志, 田村学, 生田聡子, 鈴木孝司, 吉光喜太郎, 岡本淳: 医療機器開発とレギュラトリーサイエンス: 経済性を加味した社会との調和する判断・決断の科学による医療機器の評価系の明確化. 日本レーザー医学会誌, 33(1): 48-51, 2012.
- [7] 落雅美: 虚血性心疾患に対するバイパスグラフトと手術術式の選択ガイドライン (2011年改訂版). 日本循環器学会, 2011.
- [8] J. A. Fernandez, R. Posso: A mathematical analysis using 1470nm and radical emitting fiber. Endovenous Laser Ablation of Varicose Veins 10 years after: Past, Present & Future, IUA World Congress, 18-25, 2010.
- [9] J. Mauriello: Endovenous Laser Ablation of Varicose Veins: Where are we going? Endovenous Laser Ablation of Varicose Veins 10 years after: Past, Present & Future, IUA World Congress, 77-81, 2010.
- [10] 厚生労働省大臣官房統計情報部人口動態・保健統計課. 平成 26 年患者調査 (傷病分類編)
- [11] 広川雅之 著. 梅澤俊彦 編集: いきなり名医! これでわかった下肢静脈瘤診療, 巻頭言頁, 2009, 日本医事新報社.
- [12] 桑木智之, 黒澤美枝子, 高橋研一, 細谷安彦: トートラ 人体の構造と機能第 3 版. 丸善, 2010.
- [13] 岩井武尚 著. 和田登 編集: こうして治す下肢静脈瘤, 保健同人社, 2008.
- [14] 佐戸川弘之: 下肢静脈瘤に対する血管内治療のガイドライン. The Journal of Japanese College of Angiology: 289-309, 2010.
- [15] 榎原直樹: 下肢静脈瘤に対する血管内レーザー治療. Medical photonics, 7, 27-32, 2011.
- [16] 広川雅之: 下肢静脈瘤の病態生理と治療法. Medical Technology 41(8): 846-853, 2013.
- [17] 広川雅之: 下肢静脈瘤に対する血管内治療の現況. The Journal of Japanese College of Angiology. 49, 239-245, 2009.
- [18] R. J. Hinchliffe, J. Ubhi, A. Beech, J. Ellison, B. D. Braithwaite: A prospective randomized controlled trial of VNUS closure versus surgery for the treatment of recurrent long saphenous varicose veins. Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg., 31, 212-218, 2006.

- [19] T. Rautio, A. Ohinmaa, J. Perälä, P. Ohtonen, T. Heikkinen, H. Wiik, P. Karjalainen, K. Haukipuro, T. Juvonen: Endovenous obliteration versus conventional stripping operation in the treatment of primary varicose veins: a randomized controlled trial with comparison of the costs. *J. Vasc. Surg.*, 35, 958-965, 2002.
- [20] F. Lurie, D. Creton, B. Eklof, L. S. Kabnick, R. L. Kistner, O. Pichot, S. Schuller-Petrovic, C. Sessa: Prospective randomized study of endovenous radiofrequency obliteration (closure procedure) versus ligation and stripping in a selected patient population (EVOLVE Study). *J. Vasc. Surg.*, 38, 207-214, 2003.
- [21] F. Lurie, D. Creton, B. Eklof, L. S. Kabnick, R. L. Kistner, O. Pichot, C. Sessa, S. Schuller-Petrovic: Prospective randomized study of endovenous radiofrequency obliteration (closure) versus ligation and vein stripping (EVOLVE): two-year follow-up. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, 29, 67-73, 2005.
- [22] L. Stötter, I. Schaaf, A. Bockelbrink: Comparative outcomes of radiofrequency endoluminal ablation, invagination stripping, and cryostripping in the treatment of great saphenous vein insufficiency. *Phlebology*, 24, 166-175, 2009.
- [23] M. Stirling, C. K. Shortell: Endovascular treatment of varicose veins. *Semin. Vasc. Surg.*, 19, 109-115, 2006.
- [24] J. I. Almeida, J. K. Raines: Radiofrequency ablation and laser ablation in the treatment of varicose veins. *Ann. Vasc. Surg.*, 20, 547-552, 2006.
- [25] 日本静脈学会静脈疾患サーベイ委員会: 下肢静脈瘤—本邦における静脈疾患に関する Survey VII—。 *静脈学*; 24(4): 432-439, 2013.
- [26] Nwaejike, N., Srodon, P. D. and Kyriakides, C.: 5-years of endovenous laser ablation (EVLA) for the treatment of varicose veins – a prospective study. *Int. J. Surg.*, 7: 347-349, 2009.
- [27] L. Navarro, R. J. Min, C. Bone: Endovenous laser: a new minimally invasive method of treatment for varicose veins - preliminary observations using an 810 nm diode laser. *Dermatol. Surg.*, 27, 117-121, 2001.
- [28] T. M. Proebstle, T. Moehler, S. Herdemann: Reduced recanalization rates of the great saphenous vein after endovenous laser treatment with increased energy dosing: Definition of a threshold for the endovenous fluence equivalent. *J. Vasc. Surg.*, 44(4): 834-839, 2006.
- [29] Min, R. J., Khilnani, N. and Zimmet, S. E.: Endovenous laser treatment of saphenous vein reflux: long-term results. *J. Vasc. Interv. Radiol.*, 14:991-996, 2003.
- [30] Agus, G. B., Mancini, S., Magi, G., et al.: The first 1000 cases of Italian Endovenous-laser Working Group (IEWG). Rationale, and long-term outcomes for the 1999–2003 period. *Int. Angiol.*, 25: 209-215, 2006.
- [31] Prince, E. A., Ahn, S. H., Dubel, G. J., et al.: An investigation of the relationship between energy density and endovenous laser ablation success: does energy density matter? *J. Vasc. Interv.*

- Radiol., 19: 1449-1453, 2008.
- [32] Theivacumar, N. S., Dellagrammaticas, D., Beale, R. J., et al.: Factors Influencing the effectiveness of endovenous laser ablation (EVLA) in the treatment of great saphenous vein reflux. *Eur.J. Vasc. Endovasc. Surg.*, 35: 119-123, 2008.
- [33] Pannier, F. Rabe, E. and Maurins, U.: First results with a new 1470-nm diode laser for endovenous ablation of incompetent saphenous veins. *Phlebology*, 24: 26-30, 2009.
- [34] 広川雅之, 小川智弘, 菅原弘光, 諸國眞太郎, 佐藤彰治: 下肢静脈瘤患者に対する波長 1470 nm レーザーおよび Radial 2ring fiber による血管内レーザー焼灼術の他施設共同並行群間比較試験. *日血外会誌*; 23: 964-971, 2014.
- [35] 栗津邦男 著: 赤外レーザー医工学, p. 44-49, 2008, 大阪大学出版会.
- [36] 広川雅之: 下肢静脈瘤血管内レーザー治療における静脈焼灼のメカニズム. *日本レーザー医学会誌*, 33(1): 57-62, 2012.
- [37] T. M. Vuylsteke, S. R. Mordon: Endovenous laser ablation: a review of mechanisms of action. *Ann. Vasc. Surg.*, 26, 424-433, 2012.
- [38] Caggiati A, Bergan JJ, Gloviczki P: Nomenclature of the veins of the lower limbs: An international interdisciplinary consensus statement. *J Vasc Surg* 36:416-422, 2002.

2. 静脈組織の光学測定値の測定

生体組織の光学特性値算出のための拡散反射率と総透過率の測定

静脈組織を含む生体組織は強散乱体であることから、簡便、及び直接光学特性値を計測することが困難である。光学特性値を決定する方法としては、生体組織サンプル内で多重散乱することで拡散放射される透過光や反射光を計測し、その結果と光伝搬の理論計算や統計解析結果が一致することで、予測した光学特性値を決定するという間接的な方法となる。拡散光計測手法としては、光ファイバー等のプローブを用いて拡散反射光強度を検出する空間分解計測や時間分解計測、積分球や光ファイバーなどの光回収光学系を用いた分光計測がある。空間分解計測や時間分解計測の長所は、測定原理上は生きたままの生体組織の測定 (*in vivo* 測定) がしやすい点である。短所は、入射及び検出用のプローブの配置にある程度の空間領域が必要であり、値が平均化される点である。積分球による計測の短所は、光学系の構造上、*in vivo* 測定が困難であることだが、長所は、不均一性の強い生体組織のある一点の情報を計測できる点^[1]である。

同じ光学系で多種類の試料の光学特性値を決定するという観点では、拡散光計測手法として積分球光学系をよく用いる。積分球をサンプルの両壁に設置する双積分球光学系は、試料中の同一点の拡散反射率 R_d と総透過率 T_t を同時に計測できることや、単一の積分球を用いた場合よりも測定時間を短くできることが長所として挙げられる。

本章では、多数かつ摘出された直後のサンプルを測定するため、双積分球光学系を基本とした分光分析装置を用いた。なお、EVLA の先行文献では、皮膚を模した生体組織サンプル^[2]や乳房組織^[3]の光学特性をおおよそその値として引用しているものはあるが、対象組織である大伏在静脈の静脈瘤サンプルを測定した例はない。本測定のサンプルは、ストリッピング治療で摘出された下肢静脈瘤患者の大伏在静脈そのものであり、非常に有用なデータである。

逆モンテカルロ法を用いた光学特性値の算出

測定した R_d と T_t を用いて、静脈組織の光学特性値を算出する。生体組織内を伝搬する光の挙動についての理解に必要な光学特性は、吸収係数 μ_a 、散乱係数 μ_s 及び位相関数 $p(\theta)$ である。 μ_a は、吸収現象により光の強度が $1/e$ となるまでに進む距離の逆数と定義される。 μ_s は、散乱現象により光の強度が $1/e$ となるまでに進む距離の逆数と定義される。モンテカルロ法は光を光子のようにあるエネルギーを持った粒子と考え、それが吸収によりエネルギーを失う過程、または、散乱体に衝突して方向を変える過程を逐一追跡する手法である。次の散乱までの飛行距離や散乱の方向は乱数により決定するが、それが統計的にはマクロな μ_s や $p(\theta)$ に従うようにする。また、光のエネルギーは μ_a に従って決まる。

生体光学の分野では、例えば Roggan ら^[4-6]や Pickering ら^[7,8]による報告など、双積分球光学系を用いて R_d と T_t を測定し、解析法としてモンテカルロ法^[9, 10]による逆問題法 (逆モンテカルロ法) や *inverse adding doubling* 法^[11]を組み合わせた手法により光学特性値を算出す

る例が報告されている。双積分球光学系による計測結果の解析法として用いられることの多い逆モンテカルロ法は、統計的な手法であり、生体組織へ入射させた光子の散乱方向を任意の関数に基づいて設定し、吸収による減衰を加味しながら、統計的に安定するまで光子入射を行い計算を繰り返す手法である。計算コストがかかるが、光拡散方程式が成立しない条件でも光の伝搬を正確にシミュレーション可能^[1]である。

IMC 法による光学特性値の算出は Fig. 2-1 に示す手順で繰り返し計算によって求めた。以下、測定値の拡散反射率、総透過率をそれぞれ R_{dex} 、 T_{tex} 、計算値の拡散反射率、総透過率をそれぞれ R_{dsim} 、 T_{tsim} とする。まず、 μ_a と μ_s を推定し、その推定値を用いて吸収を含む散乱の計算をモンテカルロ法によって行い R_{dsim} と T_{tsim} を求めた。 R_{dsim} 、 T_{tsim} が R_{dex} 、 T_{tex} と(2-1)式、(2-2)式を満たさなければ再び μ_a と μ_s を推定し直し、新たな R_{dsim} と T_{tsim} を求めることを繰り返した。 R_{dsim} 、 T_{tsim} が R_{dex} 、 T_{tex} と(2-1)式、(2-2)式を満たせばその時推定した μ_a と μ_s を解とした。生体組織によるマクロな光の散乱の位相係数は強い前方散乱を示す。散乱の方向性をあらかずパラメータとして $p(\theta)$ の余弦平均をとった異方性因子 g が用いられる。この値は生体組織では一般的に 0.9 と理解されている。非等方性が強い散乱であっても、散乱を多数回繰り返すとマクロには等方散乱で近似することができ、このときの等価的な散乱係数は式(2-3)で示される換算散乱係数 μ_s' で表される。

$$\frac{|R_{dsim} - R_{dex}|}{R_{dex}} < 0.005 \quad (2-1)$$

$$\frac{|T_{dsim} - T_{dex}|}{T_{dex}} < 0.005 \quad (2-2)$$

$$\mu_s' = (1 - g)\mu_s \quad (2-3)$$

μ_a と μ_s を算出した後、式(2-3)を用いて、 μ_s' を計算した。波長 980 及び 1470 nm において、上述した算出方法によりサンプルの光学特性値を算出し、最終的に μ_a 、 μ_s' の値を得た。また、この光学特性値から、生体組織内の光伝搬の一例である光侵達深さを表すことができる。光の強度が $1/e$ となるまで進む距離と定義される光侵達深さ δ は、 $\mu_a < \mu_s$ となる可視及び近赤外領域では、(2-4)式を用いて計算することができる。

$$\delta = \frac{1}{\sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu_s')}} \quad (2-4)$$

2.1. 対象

対象として、血管はヒト静脈、血液はブタ静脈血を使用した。

ヒト静脈は、Fig. 2-2 に示すように、下肢静脈瘤患者のストリッピング治療にて摘出された大伏在静脈であり、摘出後に血液を除去し、生理食塩水に浸漬した。ヒト静脈は外膜から組織をはぎ取って厚みを調整し、Fig. 2-2 及び Fig. 2-3 に示すように、スペーサーを用いて厚み 0.3 mm に調整したスライドガラス(S1112, 松浪硝子, 日本)の間に挟んだ。

ブタ静脈血は、神戸医療機器開発センター アイビーテック神戸ラボにおいて、動物実験後のブタより採血し、ヘパリン (ヘパリン Na, 富士製薬工業株式会社, 日本) を血液量に対して 30~50%の割合で混合し、凝血を防いだ。血液サンプルはスライドガラスの間に血液を注入し計測を行った。

2.2. 光学特性値の算出方法

生体組織内での光の吸収や散乱の特性を把握するために、双積分球光学系を用いて、サンプルの拡散反射率 R_d と総透過率 T_t を測定した ($n=9$)。双積分球光学系は、双積分球の間に設置したサンプルの R_d と T_t を測定する光学系^[12]である。Fig. 2-4、Fig. 2-5 に、それぞれ波長 980 nm、1470 nm における双積分球光学系^[12]を示す。双積分球 (CSTM-3P-GPS-033-SL, Labsphere, アメリカ)は、外部光を遮断するため暗室内に設置した。双積分球の外径、内径、入射ポート径、サンプルポート径はそれぞれ 100、84、10、10 mm であり、双積分球の内壁には、反射率、拡散性に優れた材料であるスペクトラロンTMがコートされている。光源は、各波長に対して高強度、高安定な光源を選定し、波長 980 nm において、キセノンランプ(キセノンランプは L2274(GS), 電源は C8849, ランプハウスは E7536, 浜松ホトニクス株式会社, 日本)、波長 1470 nm において、ハロゲンランプ(LS-H150IR-FBC, 住田光学ガラス, 日本)を使用した。光源から出射された光は、開口することでビーム形状を整え、レンズ光学系を用いて疑似平行化した後、集光し、積分球手前に設置したアパーチャにてビーム径を制限し、サンプル表面にビーム直径 1 mm にて入射するよう調整した。入射光はサンプル内部で散乱及び吸収され、反射光及び透過光として積分球へ拡散される。検出ポートから分光器(波長 980 nm は Maya2000-Pro, Ocean Optics, アメリカ, 波長 1470 nm は NIR256-2.5, Ocean Optics, アメリカ)へ光ファイバーにて導光された入射光に対して、 R_d 、 T_t の測定を行った。なお、NIR256-2.5 は、窒素パージを行った密閉容器内に設置し、ペルチェ冷却ユニットにて -27°C に冷却した。

測定した R_d と T_t の値から逆モンテカルロ法を用いて、 μ_a 、 μ_s' の値を算出した。

2.3. 光学特性値の測定結果

測定した R_d と T_t の値を Fig. 2-6 に示す。この結果から波長 980 nm、及び 1470 nm の値を抽出し、逆モンテカルロ法を用いて、 μ_a 、 μ_s' の値を算出した。波長 980 nm、及び 1470 nm におけるヒト静脈の μ_a 、 μ_s' 、 δ の値を Table 2-1 に、ブタ静脈血の値を Table 2-2 に示す。な

お、波長 980 nm の各パラメータはばらつきが大きかったため、最小値、及び最大値を除いた $n=7$ にて値を算出した。ばらつきの要因は、サンプル厚みの調整精度によるものと考えられた。

ヒト静脈の波長 1470 nm における μ_a は、波長 980 nm の μ_a より 7 倍大きく、波長 980 nm における δ は、波長 1470 nm の δ より 3.7 倍大きかった。

ブタ静脈血の波長 1470 nm における μ_a は、波長 980 nm の μ_a より 2.2 倍大きく、波長 980 nm における δ は、波長 1470 nm の δ より 1.6 倍大きかった。

2.4. 考察

ヒト静脈の波長 1470 nm における μ_a は、波長 980 nm より 7 倍大きかったという結果から、波長 1470 nm の方が光エネルギーが効率よく静脈組織に吸収されると考えられ、本波長のレーザーを使用することで治療の有効性が高まる可能性が示唆された。

波長 980 nm における血液の μ_a は、ヒト静脈より 3.4 倍大きかった。この結果から、血管内で波長 980 nm のレーザーを照射した際、照射対象である血管よりも、血液の方が光エネルギーを吸収しやすいと考えられる。

波長 1470 nm における δ は、波長 980 nm の 5 分の 1 程度と小さく、さらにヒト静脈の厚み 0.8 mm よりも小さいために、周辺組織への熱変性の影響が 980 nm より小さく抑えられると考えられる。Mordon ら^[3]の報告によると、治療後の有害事象を防ぐためには、周辺組織の熱影響を避けなければならないとしている。

以上より、波長 1470 nm の方が 980 nm よりも光エネルギーの侵達が浅く、熱変性の影響を限局させ、治療の安全性が向上できる可能性が示唆された。

2.5. 結論

本章では、生体組織内での光の吸収や散乱の特性を定量的に把握するために、双積分球光学系を用いて、サンプルの拡散反射率 R_d と総透過率 T_t を測定し、逆モンテカルロ法を用いて、吸収係数 μ_a 、換算散乱係数 μ_s' 、光侵達度 δ を算出した。

ヒト静脈の波長 1470 nm における μ_a は、波長 980 nm より 7 倍大きかったという結果から、波長 1470 nm の方が光エネルギーが効率よく静脈組織に吸収されると考えられ、本波長のレーザーを使用することで治療の有効性が高まる可能性が示唆された。

波長 980 nm における血液の μ_a は、ヒト静脈より 3.4 倍大きかった。この結果から、血管内で波長 980 nm のレーザーを照射した際、照射対象である血管よりも、血液の方が光エネルギーを吸収しやすいと考えられる。

波長 1470 nm における δ は、波長 980 nm の 5 分の 1 程度と小さく、ヒト静脈の厚み 0.8 mm よりも小さいために、周辺組織への熱変性の影響が 980 nm より小さく抑えられると考えられる。

本章では光学特性値の比較にとどまっているため、実際の照射効果の比較検討を行う必要がある。次章では、まず、照射エネルギー密度に対する網羅的な静脈組織の相互作用を検討する必要がある。その後、実際の体内における治療環境を模擬した実験を行い、血管の収縮を評価することで、波長の違いによる有効性を検討する。

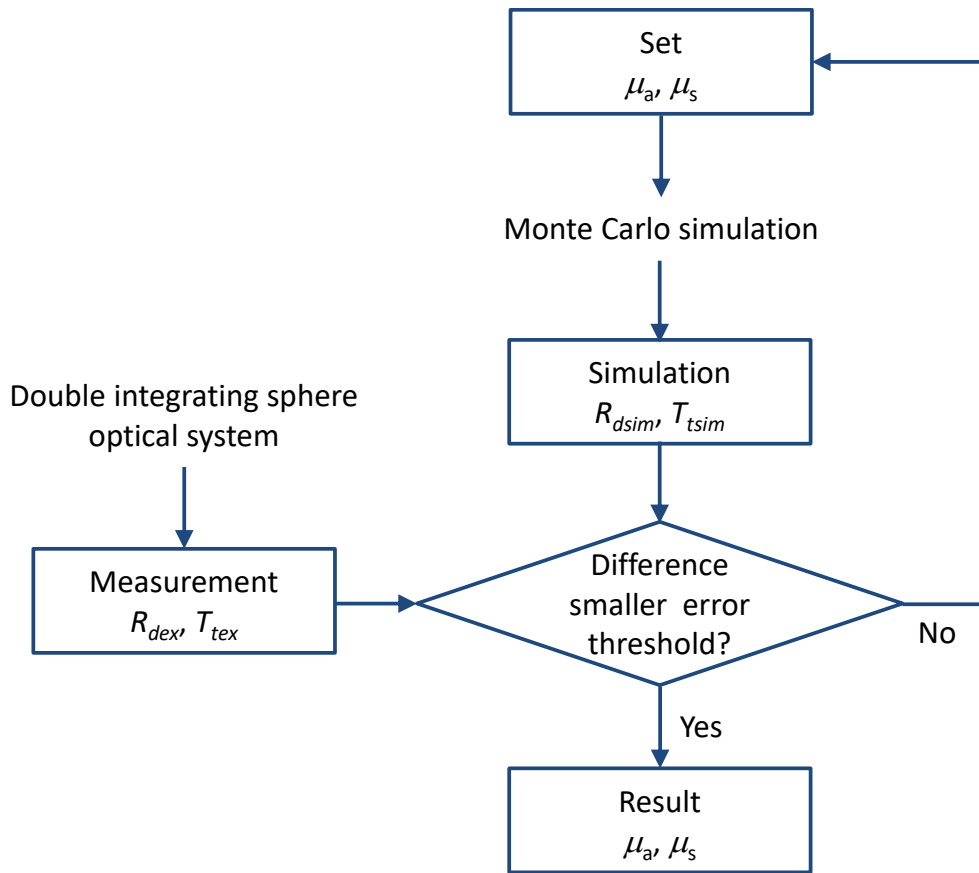


Fig. 2-1. Algorithm of the IMC simulation developed for the evaluation of μ_a and μ_s from R_d and T_t .

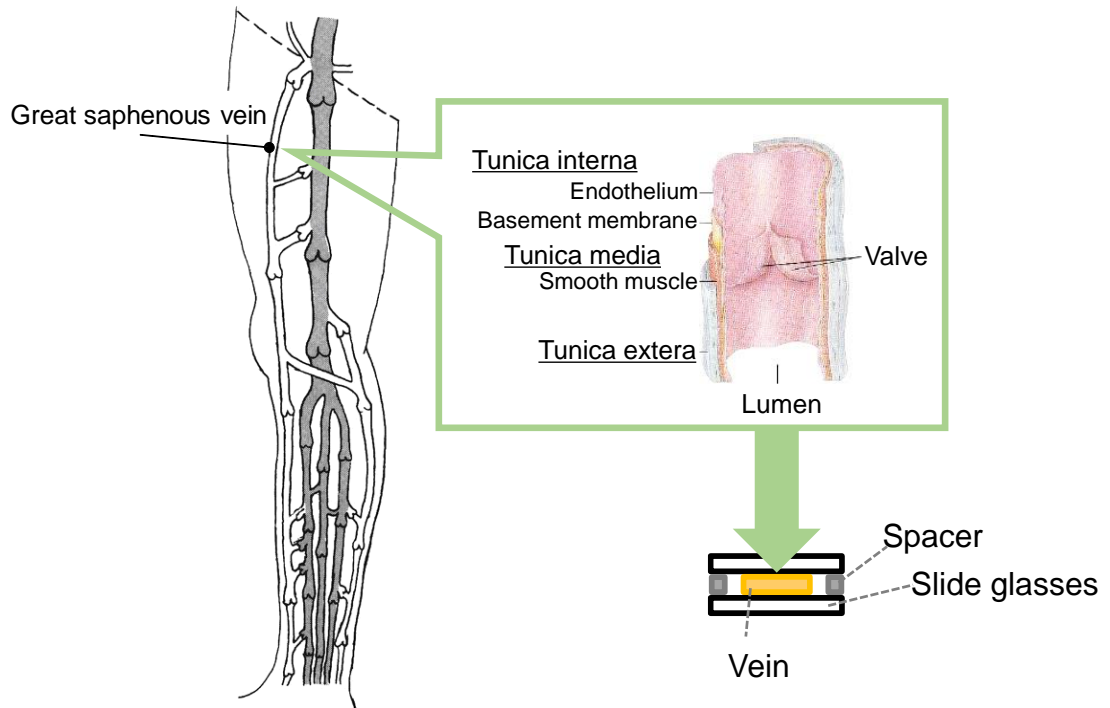


Fig. 2-2 Schematic of the sample preparation for the optical properties measurements.



Fig. 2-3 Photograph of the sample for the optical properties measurements.

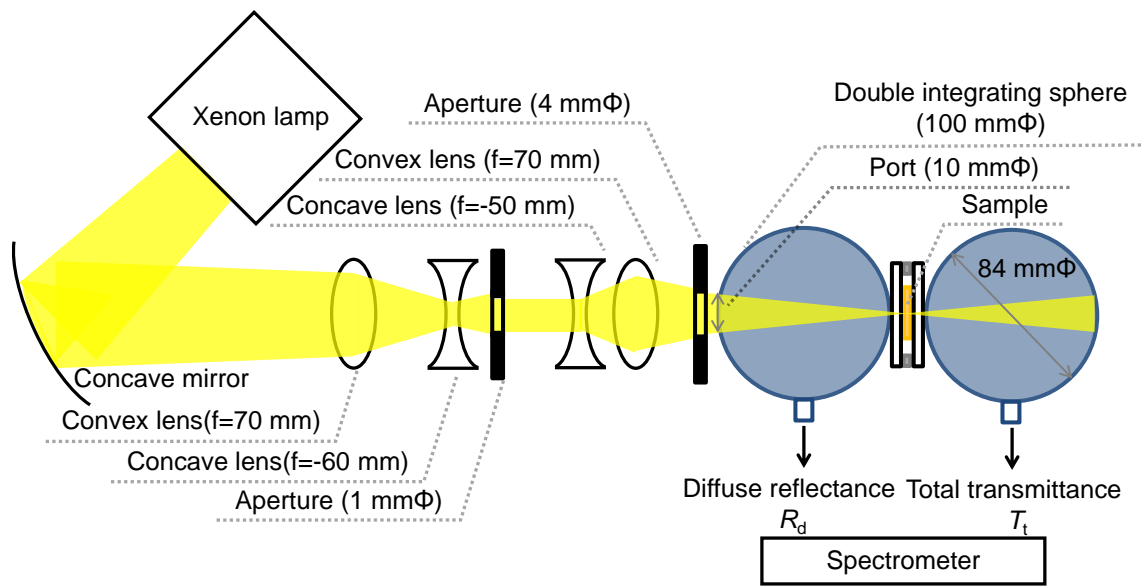


Fig. 2-4 Schematic of the double integrating sphere system for measurement of R_d and T_t of the sample at the wavelength of 350 to 1000 nm.

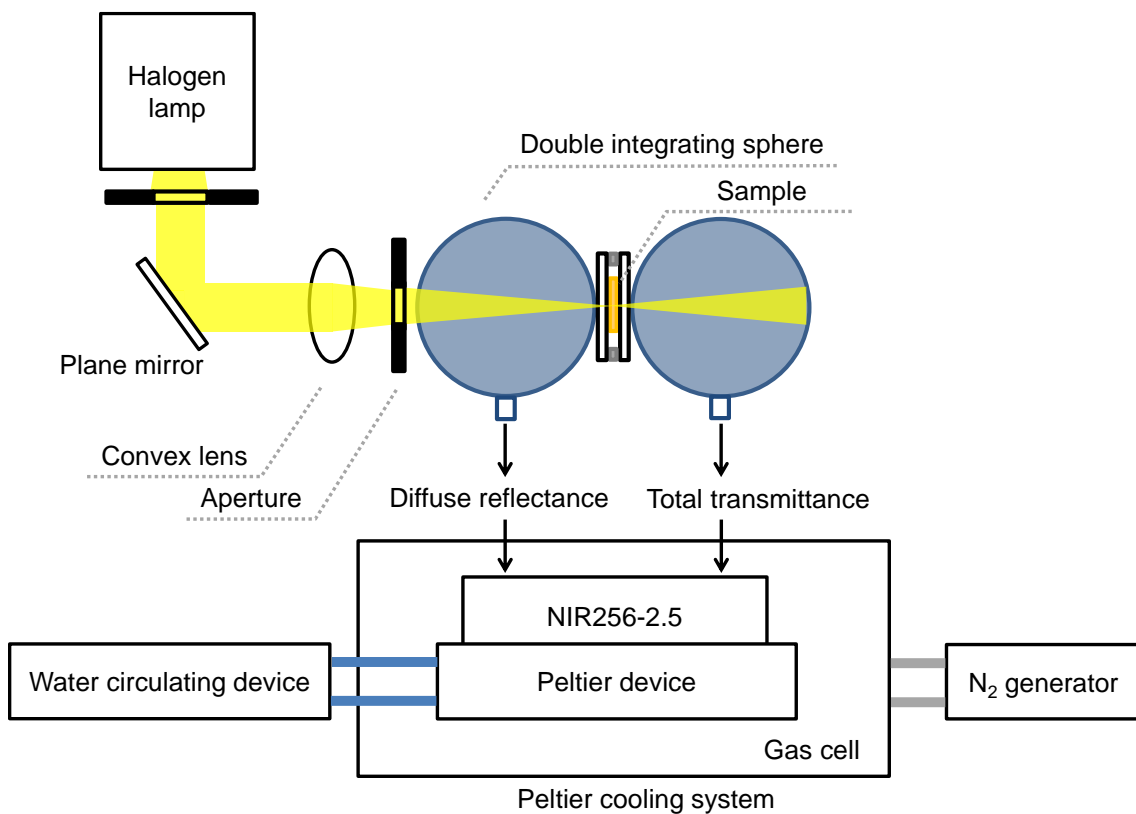


Fig. 2-5 Schematic of the double integrating sphere system for measurement of R_d and T_t of the sample at the wavelength of 1000 to 2000 nm.

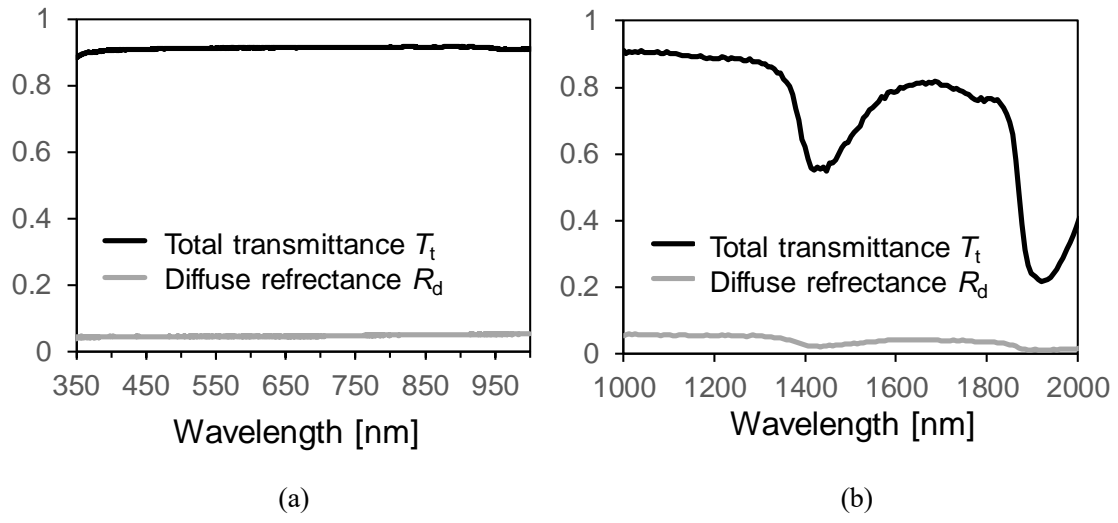


Fig. 2-6 Measured R_d and T_t of the sample.

(a) at the wavelength of 350 to 1000 nm. (b) at the wavelength of 1000 to 2000 nm.

Table 2-1 Optical properties of human varicose vein tissue at wavelengths of 980 nm and 1470 nm.

Wavelength [nm]	μ_a [mm ⁻¹]	μ_s' [mm ⁻¹]	δ [mm]	
980	0.25 ± 0.17	1.53 ± 0.44	1.09 ± 0.50	<i>n</i> =7
1470	1.82 ± 0.18	1.51 ± 0.21	0.23 ± 0.02	<i>n</i> =9

Table 2-2 Optical properties of porcine venous blood at wavelengths of 980 nm and 1470 nm.

Wavelength [nm]	μ_a [mm ⁻¹]	μ_s' [mm ⁻¹]	δ [mm]
980	0.84 ± 0.04	1.91 ± 0.06	0.37 ± 0.01
1470	1.83 ± 0.09	1.76 ± 0.05	0.23 ± 0.01

参考文献

- [1] 栗津邦男：生体組織の光学特性値計測・算出. 光学, 41 (8), 2012.
- [2] M. Vuylsteke, D. J. Van, J. Roelens, T. De Bo, S. Mordon: “Endovenous laser treatment a morphological study in an animal model,” *Phlebology*, 24(4) 166-175, 2009.
- [3] S. R. Mordon, B. Wassmer, J. Zemmouri: “Mathematical modeling of endovenous laser treatment (ELT) ,” *Biomedical Engineering OnLine*, 5, 26, 2006.
- [4] J.-P. Ritz, A. Roggan, C. Isbert, G. Müller, H. J. Buhr and C. T. Germer: “Optical properties of native and coagulated porcine liver tissue between 400 and 2400 nm,” *Lasers Surg. Med.*, 29, 205-212, 2001.
- [5] A. Roggan, M. Friebel, K. Dörschel, A. Hahn and G. Müller: “Optical properties of circulating human blood in the wavelength range 400-2500 nm,” *J. Biomed. Opt.*, 4, 36-46, 1999.
- [6] M. Hammer, A. Roggan, D. Schweitzer and G. Müller: “Optical properties of ocular fundus tissues-an in vitro study using the double-integrating-sphere technique and inverse Monte Carlo simulation,” *Phys. Med. Biol.*, 40, 963-978, 1995.
- [7] J. W. Pickering, S. A. Prahl, N. van Wieringen, J. F. Beek, H. J. C. M. Sterenborg and M. J. C. van Gemert: “Double-integrating sphere system for measuring the optical properties of tissue,” *Appl. Opt.*, 32, 399-410, 1993.
- [8] J. F. Beek, P. Blokland, P. Posthumus, M. Aalders, J. W. Pickering, H. J. C. M. Sterenborg and M. J. van Gemert: “In vitro double-integrating-sphere optical properties of tissues between 630 and 1064 nm,” *Phys. Med. Biol.*, 42, 2255-2261, 1997.
- [9] S. A. Prahl, M. Keijzer, S. L. Jacques and A. J. Welch: “A Monte Carlo model of light propagation in tissue,” *SPIE Institute Series: Dosimetry of Laser Radiation in Medicine and Biology*, SPIE Press, Washington, 102-111, 1989.
- [10] L. Wang, S. L. Jacques and L. Zheng: “MCML: Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues,” *Comput. Methods Programs Biomed.*, 47, 131-146, 1995.
- [11] S. A. Prahl, M. J. C. v. Gemert and A. J. Welch: “Determining the optical properties of turbid media by using the adding-doubling method,” *Appl. Opt.*, 32, 559-568, 1993.
- [12] 本多典広, 寺田隆哉, 南條卓也, 石井克典, 栗津邦男：Inverse Monte Carlo 法による光線力学療法前後の腫瘍組織の光学特性の算出. 日本レーザー医学会誌, 31 (2): 115-121, 2010.

3. 非臨床照射実験

照射効果の比較検討を行うため、独自に非臨床照射系を組んで実験を行う。まず、3.2.1. 項にて、照射エネルギー密度に対する網羅的な静脈組織の相互作用を波長の違いにおいて検討するために、静脈血管組織に直接レーザーを照射した。次に、3.2.2. 項にて、実際の体内における治療環境を模擬した実験を行い、血管の収縮を評価することで、照射方式の違いによる有効性を検討する。最後に3.2.4. 項において、臨床試験では実施できない苛酷試験を行うことによって、照射方式の違いによる安全性を検討する。

3.1. 対象

対象として、血管はヒト静脈、血液はブタ静脈血を使用した。

ヒト静脈は、Fig. 2-2 に示すように、下肢静脈瘤患者のストリッピング治療にて摘出された大伏在静脈であり、摘出後に血液を除去し、生理食塩水に浸漬した。

ブタ静脈血は、神戸医療機器開発センター アイビーテック神戸ラボにおいて、動物実験後のブタより採血し、ヘパリン（ヘパリン Na, 富士製薬工業株式会社, 日本）を血液量に対して 30~50%の割合で混合し、凝血を防いだ。

3.2. 実験方法

3.2.1. ヒト静脈壁表面へのレーザー照射

照射実験における光学系を Fig. 3-1 に示す。光源には波長 980 及び 1470 nm の半導体レーザー装置(波長 980 nm は Ceralas D15/980/200, Ceram Optec GmbH, ドイツ、波長 1470 nm は Ceralas E, Ceram Optec GmbH, ドイツ) を用いた。照射モードは Continuous Mode を使用した。光源から出た光をコア径 600 μm の光ファイバー(Ceralas BFF 603 DL ELVeS, Ceram Optec GmbH, ドイツ)に導光し、上方から垂直にサンプルに接触させた状態で内膜側より照射した。レーザー照射による静脈閉塞機序の一つとして、静脈壁に直接レーザーが照射されたことによる機序が考えられている^[1]。Fig. 3-1 は、レーザーが直接静脈壁に接触した状態であり、かつ静脈組織に与えられた平均エネルギー密度を定量的にとらえるための照射系である。レーザーと静脈組織の基本的な相互作用を網羅的に検討するため、小さい設定パワーから照射を行った。レーザー照射条件は、平均パワー密度 260~1710 W/cm^2 (設定パワー1.0~6.1 W)、照射時間 3、5、10 s で行った。なお、本論文における収縮の観察とは、レーザーの照射によって、照射点周囲の組織が照射点に引き込まれるように縮む状態が目視により確認された場合としている。

3.2.2. 臨床を模擬した照射実験

照射実験を行うことで EVLA の効果を検討するため、Fig. 3-2(a)、及び Fig. 3-2(b)に示すように、実際の体内における治療環境を模擬した非臨床照射系を構築した。なお、非臨床照射系の構築及び照射条件の設定にあたっては、臨床研究を視察し、臨床医との意見交換を行

った上で決定した。Fig. 3-2(c)に示す血管断面図のように、血管が周囲の筋膜に挟まれている状態を模擬するために、下記の手順にて実験を行った。血管の末端はクリップで挟み、反対の末端は、体内の血管の張力を模擬するため、20 g の重りを用いて張力をかけ、鉗子を用いて挟んだ。シリンジを用いて血管内に血液を満たし、ピストンを引くことで血管内を陰圧にした。一方の末端より、光ファイバーを挿入した。波長 980 nm 半導体レーザーを使用する際はベアファイバー (以下 980 nm + BF と略す)、波長 1470 nm 半導体レーザーを使用する際はラジアルファイバー、及び 2 リングファイバーを使用した (それぞれ以下 1470 nm + RF、1470 nm + 2RF と略す)。照射パワーは 5.8、8.9、及び 11.8 W に設定した($n=5$)。レーザー照射中、自動ステージ(SGAM20-85(X), SIGMA KOKI, 日本)を用いて、光ファイバーの引き抜き速度を 1, 2 mm/s に制御した。なお、引き抜き速度 1 mm/s は治療における標準的な引き抜き速度^[2-4]である。2 mm/s での実験目的は、効率的な照射が可能か否かについて検討を行うためである。引き抜き速度が 1 mm/s より遅い場合は、治療の安全性を評価する目的で、3.2.4 節にて評価を行う。レーザー照射後は、医療用ハサミを用いて、血管を軸方向に切り開いた。同一サンプルの中で、レーザー未照射部位、及び照射部位の血管内周を計測^[5]し、(3-1)式を用いて、組織の収縮率を求めた。

$$\left(1 - \frac{D_2}{D_1}\right) \times 100 \dots\dots\dots(3-1)$$

ただし、 D_1 、 D_2 はそれぞれ、未照射部位、照射部位の血管内周を表す。

3.2.3. 組織学的評価方法

レーザー照射後の静脈組織の組織学的検討を行うため、レーザー照射後のサンプルを包埋材(O.C.T. compound 4583, サクラファインテック, 日本)で冷凍固定し、凍結完了後クライオトーム(CM1850, Leica, ドイツ)にて厚さ 10 μm に薄切した。その後、Hematoxylin-Eosin (HE)染色を行い、顕微鏡によりレーザー照射の影響を観察した。

3.2.4. 組織に対する過剰照射実験

ヒト静脈、静脈血、及び非臨床照射系は引き抜き速度を考慮した非臨床照射実験と同様の条件にて使用した。照射系において、光ファイバーの位置を固定することで、引き抜き速度 0 mm/s とした。980 nm + BF の場合は、パワー 5.5、8.3、及び 11.7 W ($n=5$) に設定した。1470 nm + RF、及び 1470 nm + 2RF の場合は、パワー 5.6、8.5、及び 11.3 W ($n=5$) に設定した。最大照射時間は 30 s とし、30 s 未満で組織に穿孔が観察された場合はその時点で照射を停止した。

3.3. 実験結果

3.3.1. ヒト静脈壁表面へのレーザー照射効果

Fig. 3-3 に平均パワー密度 310~1710 W/cm²、照射時間 3、5、10 s でレーザー照射したヒト

静脈組織の照射表面の様子を示す。両波長とも、組織の収縮から穿孔まで、網羅的な反応が観察された。Fig. 3-4(a)に、波長 980 nm における平均パワー密度と照射時間を変化させたときの組織の照射効果の関係を示す。平均エネルギー密度 930~3420 J/cm² のとき、組織の収縮は観察されなかった。平均エネルギー密度 3630~8550 J/cm² のとき、組織の収縮が観察された場合と収縮が観察されない場合が見られた。平均エネルギー密度 9100~14300 J/cm² のとき、組織の収縮が観察された。平均エネルギー密度 8550 J/cm² のとき組織の収縮は観察されず、突発的に穿孔が起きた。Fig. 3-4(b)に、波長 1470 nm における平均パワー密度と照射時間を変化させたときの組織の照射効果の関係を示す。平均エネルギー密度 930~2450 J/cm² のとき、組織の収縮は観察されなかった。平均エネルギー密度 2600~3630 J/cm² のとき、組織の収縮が観察された場合と収縮が観察されない場合が見られた。平均エネルギー密度 4550~9100 J/cm² のとき、組織の収縮が観察された。平均エネルギー密度 9100 J/cm² のとき組織の穿孔が確認された。

Fig. 3-5 にレーザー照射後の静脈組織切片の HE 染色による顕微鏡観察像を示す。それぞれの照射条件(波長、平均エネルギー密度[平均パワー密度×照射時間])は、(a) 980 nm、4550 J/cm² [910 W/cm²×5 s]、(b)1470 nm、4550 J/cm² [910 W/cm²×5 s]、(c)1470 nm、9100 J/cm² [910 W/cm²×10 s]である。照射波長 980 nm、平均エネルギー密度 4550 J/cm² では、ファイバーの接触位置より、内膜側から外膜側まで、熱変性像が確認された。また、蒸散は確認されなかった。サンプル中央上面において静脈内皮に凹状のくぼみが確認された。これは、照射直後に組織がレーザーのエネルギーを受けて凝固した結果、照射点近傍が膨張し、ファイバーによってサンプルが押しつぶされたためと考えられた。照射波長 1470 nm、平均エネルギー密度 4550 J/cm² では、内膜は蒸散し、楔状の欠損像が確認された。また、辺縁に凝固層と考えられる熱変性像が見られた。照射波長 1470 nm、平均エネルギー密度 9100 J/cm² では、外膜側まで組織が蒸散し、穿孔が観測された。波長 1470 nm における穿孔は、レーザーの光エネルギーを受け、組織表面より蒸散が進んだ結果、穿孔につながったと考えられる。

3.3.2. 臨床を模擬した照射実験

Fig. 3-6 に、引き抜き速度 1 mm/s にて照射したサンプルの内腔表面を示す。980 nm + BF において、全ての照射パワーの条件にて、組織の炭化が観察された。また、照射パワー8.9、11.8 W において、組織の穿孔はそれぞれ 20、80%の確率で観察された。1470 nm + RF では、照射パワー5.8 W において、組織の炭化、及び穿孔なく収縮を誘起できたが、照射パワー8.9、11.8 W では、照射中に、付着がそれぞれ 40、60%の確率で観察された。付着とは、レーザー照射により、静脈組織が凝固し、ファイバーと組織が固着する現象を指す。1470 nm + 2RF では、全ての照射パワーの条件で組織の炭化、及び付着なく収縮を誘起できた。

Fig. 3-7 に、引き抜き速度 1 mm/s にて照射したサンプルの収縮率を示す。組織がファイバーに付着した場合は収縮率を算出できないため、付着無しの条件において収縮率を算出した。980 nm + BF では、8.9 W において、収縮率のばらつきが大きかった。照射パワー11.8 W

において、収縮率は61%だった。1470 nm+RF では、照射パワー5.8 W において、収縮率は52%だった。1470 nm + 2RF において、5.8、8.9、11.8 W において、収縮率はそれぞれ48、50、49%だった。

Fig. 3-8 に、引き抜き速度1 mm/sにて照射したサンプルの組織切片像を示す。Fig. 3-8(a)では、局所で中膜までの壊死が認められるが、周辺に物理的な影響はなかった。Fig. 3-8(b)では、熱による侵襲により、内膜から外膜まで局所の欠損が認められた。欠損部位以外では、内膜から外膜まで軽度の壊死が認められた。Fig. 3-8(c)において、焼灼部位では、局所的に内膜から外膜までの壊死が認められるが、それ以外の部位では、内皮の消失を示す程度の軽微であった。Fig. 3-8(d)、3-8(e)、3-8(f)、3-8(g)において、内膜から外膜までの広範囲の壊死が観察された。

Fig. 3-9 に、引き抜き速度2 mm/sにて照射したサンプル内腔表面を示す。980 nm + BF では、照射パワー4.7 W 以上のとき、組織の炭化が筋状に観察された。1470 nm + BF において、全ての照射パワーで組織が炭化した。穿孔は、照射パワー7.9、9.8、11.8 W において、それぞれ40、80、60%の確率で観察された。穿孔が観察されなかったサンプルには、広範囲の炭化が観察された。1470 nm + RF では、組織の炭化は観察されず、組織の変性が広範囲に及んでいることが観察された。照射パワー7.9、9.8、11.8 W において、組織の付着の確率はそれぞれ20、40、60%だった。1470 nm + 2RF では、組織の炭化は観察されず、組織の広範囲の変性が観察された。なお、Fig. 3-9 にて、確率の記載がない条件は穿孔、及び付着とも0%であることを示す。

Fig. 3-10 に引き抜き速度2 mm/sにて照射したサンプルの収縮率を示す。Fig. 3-7 の場合と同様に、付着無し条件にて収縮率を算出した。980 nm + BF では、照射パワーが大きいほど収縮率は増加し、照射パワー11.8 W において収縮率は39%だった。照射パワー9.8、11.8 W にて値のばらつきが大きかった。1470 nm + BF では、照射パワー2.8、4.7 W において、収縮率は30%程度であり、2.8 W の方がばらつきが大きかった。1470 nm + RF では、照射パワー2.8、4.7 W において、収縮率は30%程度だった。1470 nm + 2RF では、照射パワー2.8、4.7、7.9 W において、パワーが大きいほど収縮率が増加し、7.9 W では56%だった。照射パワー7.9、9.8、11.8 W において、収縮率は55%程度だった。

Fig. 3-11 に、1470 nm + 2RF にて照射したサンプルの組織切片像を示す。照射パワー4.7 W では、内膜から中膜までの凝固が認められた (Fig. 3-11(a))。照射パワー7.9 W では、内膜から外膜の凝固が認められ、かつ内膜の変性が著しかった (Fig. 3-11(b))。照射パワー9.8 W において、内膜から外膜の凝固が認められた (Fig. 3-11(c))。11.8 W において、内膜から外膜の高度の凝固が観察された (Fig. 3-11(d))。

3.3.3. 組織に対する過剰照射実験

Fig. 3-12(a)に、組織の穿孔が観察された平均時間、及び照射後のサンプル内腔表面を示す。980 nm + BF では、穿孔が観察されたサンプル全てにおいて、ファイバー先端が接触したと

考えられる部分に、組織の炭化が観察された。1470 nm + RF では、ファイバーが接触している部分に炭化は観察されず、組織の凝固が観察された。980 nm + BF、及び 1470 nm + RF において、照射パワーが同程度であれば、組織の穿孔が観察される照射時間も同程度であった。一方、1470 nm + 2RF では、照射パワー 5.6、8.5 W、照射時間 30 s の条件下にて、サンプルに穿孔は観察されなかった。照射パワー 11.3 W、照射時間 24±3 s にて、穿孔が観察された。

3.4. 考察

3.4.1. 有効性の比較

組織表面への照射結果によるレーザー波長の比較

波長 980 nm において、組織の収縮が観察された最小の平均エネルギー密度は 3630 J/cm² であった。波長 1470 nm において、組織の収縮が観察された最小の平均エネルギー密度は 2600 J/cm² であった。波長 1470 nm の方が波長 980 nm より小さい平均エネルギー密度で収縮を誘起できた。

波長 980 nm において、穿孔が観測された平均エネルギー密度は、8550 J/cm² であった。このとき、組織の収縮が認められず、突発的に穿孔が観察された。波長 1470 nm において、穿孔が観測された平均エネルギー密度は、9100 J/cm² であった。波長 1470 nm の方が、波長 980 nm より穿孔の起きる平均エネルギー密度が大きかった。レーザー照射によって組織に熱エネルギーを加え、組織を凝固・収縮させることは重要であるが、組織が穿孔を起こすと皮下出血や静脈炎などの有害事象の原因となることが臨床的にわかっている⁶⁾。そのため、組織が十分に収縮するが穿孔は起こさないような最適な照射条件を検討する必要がある。

Fig. 3-4(a)に波長 980 nm での平均パワー密度と照射時間を変化させたときの組織の照射効果の関係を示す。Fig. 3-4 (a)における実線は、波長 980 nm において組織の穿孔が観察された平均エネルギー密度 8550 J/cm² の曲線である。しかし、この平均エネルギー密度 8550 J/cm² より大きい平均エネルギー密度 9100、11400、12100 及び 14300 J/cm² では穿孔は観察されず、収縮のみが観察された。これらの照射条件を見ると、穿孔を起こした 8550 J/cm² では、平均パワー密度 1710 W/cm²、照射時間 5 s であったが、穿孔を起こさなかった 9100、11400、12100 及び 14300 J/cm² では、平均パワー密度と照射時間はそれぞれ、910 W/cm²×10 s、1140 W/cm²×10 s、1210 W/cm²×10 s、1430 W/cm²×10 s であり、8550 J/cm² に比べていずれも平均パワー密度は小さく、照射時間が長かった。

Fig. 3-4 (b)に波長 1470 nm での平均パワー密度と照射時間を変化させたときの組織の照射効果の関係を示す。Fig. 3-4 (b)における実線は、波長 1470 nm において組織の収縮と蒸散が観察された平均エネルギー密度 4550 J/cm² の曲線である。4550 J/cm² よりも平均エネルギー密度が大きい 4900 及び 6100 J/cm² では組織の収縮のみが認められ、蒸散は認められなかった。これらの照射条件を見ると、4550 J/cm² では平均パワー密度 910 W/cm²、照射時間 5 s であったが、4900 及び 6100 J/cm² では、平均パワー密度と照射時間はそれぞれ、490 W/cm²×10 s 及び 610 W/cm²×10 s であり、4550 J/cm² に比べて平均パワー密度は小さく、照射時間が長

かった。いずれの波長でも、小さい平均パワー密度で長時間照射を行った方が組織の穿孔や蒸散が起こりにくかった。Kasper ら^[5]も、8~12 W の中程度のパワーで、引き抜き速度を 0.2~2 mm/s と遅くし、組織に時間をかけて熱を与えることで、収縮を誘起できたことや、照射パワーが低いほど穿孔が少なかったと報告している。収縮の原因となるタンパク質の変性・凝固は 60~70°C で起こり、穿孔の原因となる炭化は、150~300°C で起こる^[7]。そのため、組織に時間をかけて熱を与えることで、組織の収縮が起きる温度 60°C 以上、穿孔の起こらない温度 150°C 以下の温度を長く維持することが可能であると考えられる。Fig. 3-9 に、波長 980 nm 及び 1470 nm において組織の収縮が観察されたときの平均パワー密度と照射時間を示す。波長 1470 nm の方が波長 980 nm より低い平均パワー密度で組織の収縮を誘起できた。

波長により収縮が観察される平均パワー密度に差が見られた原因として、第 2 章にて評価した光学特性値の違いが挙げられる。波長 1470 nm における静脈組織の μ_a は波長 980 nm における μ_a よりも 9 倍程度大きかった。この結果から、波長 1470 nm の方が波長 980 nm より光エネルギーが効率よく吸収されると考えられた。波長 1470 nm における δ は、波長 980 nm の 5 分の 1 程度と小さく、さらにヒト静脈の厚み 0.8 mm よりも小さかった。よって、波長 1470 nm の光は波長 980 nm の光よりも組織表面に光エネルギーがとどまりやすいことから、小さい平均パワー密度で収縮を誘起できたと考えられた。以上の事から、波長 1470 nm の方が、波長 980 nm を用いた EVLA よりも有効性が高い可能性が示唆された。

臨床を模擬した非臨床試験における照射方式の比較

Fig. 3-7 に示すように、引き抜き速度 1 mm/s において、照射パワー 5.8 W では、980 nm + BF は、1470 nm + RF、及び 1470 nm + 2RF を使用した時の収縮率と比較すると、最も低い値を取った。1470 nm + RF、及び 1470 nm + 2RF を比較すると、ラジアルファイバーのほうが収縮率は大きかった。しかし、収縮率のばらつきにおいては、2 リングファイバーのほうが小さかった。この結果より、1470 nm + 2RF のほうが、安定して組織の収縮を誘起できると考えられる。照射パワー 8.9 W において、980 nm + BF の収縮率のばらつきは、1470 nm + 2RF と比較して、大きかった。照射パワー 11.8 W のとき、980 nm + BF の収縮率は 1470 nm + 2RF を使用した時より大きかった。広川ら^[7]は、臨床にて 980 nm + BF を使用し、8~10 W にて照射した際、血管閉塞率は 48 時間後において 100%、7 ヶ月後では 98.1% であり、良好であったと報告している。これらの結果より、照射パワー 8.9 W において収縮率 40% という値は、十分であると考えられる。よって、1470 nm + 2RF は設定したすべてのパワーにおいて、50% 程度の十分な収縮率が得られた。治療静脈を長期的に閉塞させるためには、静脈壁内のコラーゲン線維を全周に渡って変性させることで、創傷治癒過程を誘起することが必要である^[5,8]。Fig. 3-8 の組織学的評価の結果、980 nm + BF は 5.8 W から 11.8 W まで、ファイバーが静脈壁に接触した場所のみの局所的な組織の壊死が観察された。このような静脈壁への局所的に集中したレーザー照射や全周的な熱のダメージが生じていない領域は高確率で閉塞しない、あるいは再疎通を生じる可能性がある^[1]。一方、1470 nm + RF、及び 1470

nm + 2RF では、照射パワー5.8 W においても内膜から外膜までの広範囲な壊死が認められた。特に 1470 nm + 2RF においては全ての照射パワーでファイバーと血管壁の付着による破断が無く、また穿孔も観察されず、全周的な血管壁の変性が確認された。

波長の違いによる照射効果を検討するため、980 nm + BF の比較対象として 1470 nm + BF を加えて、引き抜き速度 2 mm/s にて検討した。ベアファイバーを用いて 2 波長間の照射効果の比較を行った結果、1470 nm + BF よりも、980 nm + BF のほうが収縮率が高かった。980 nm + BF では、照射パワーが大きくなるにつれ、収縮率は上昇し、11.8 W において 39%まで上昇したが、収縮率のばらつきが大きく、引き抜き速度 1 mm/s のときの収縮率 61%には及ばなかった。1470 nm + BF において、照射パワー7.9 W 以上では、穿孔が観察された。一方、穿孔が観察されなかったサンプルの収縮率は、Fig. 3-10 には示していないが、照射パワー 7.9、9.8、11.8 W において、それぞれ 44% ($n=3$)、63% ($n=1$)、68% ($n=2$)であり、いずれも 980 nm + BF より高い収縮率であった。これは、第 2 章の光学特性値の測定結果より、静脈組織において、波長 1470 nm における μ_a は、波長 980 nm より 7 倍大きかったため、波長 1470 nm の方が光エネルギーが効率よく組織に吸収されたと考えられた。以上のことから、ベアファイバーを使用し、照射パワーを揃えて照射した際には、波長 1470 nm を用いた方が波長 980 nm を用いた場合よりも、組織がレーザーの光エネルギーを吸収しやすい波長であることが照射実験、吸収係数の両面の結果から明らかになった。

波長 1470 nm のメリットを活かすには、組織の炭化を起こさないように、ベアファイバーよりもパワー密度の小さいファイバーを使用すればよいと考えられる。そこで、ベアファイバーよりもパワー密度の小さい 1470 nm + RF、及び 1470 nm + 2RF について、引き抜き速度 2 mm/s にて照射実験を行った。1470 nm + RF では、照射パワー5.8 W にて、収縮率 54%と十分な値が得られた。しかし、パワーが大きくなると、組織とファイバーとの付着が起こった。1470 nm + 2RF で照射した際、収縮率は、照射パワー2.8、4.7、7.9 W において、パワーが大きいかほど、収縮率は増加し 56%まで上昇した。照射パワー7.9、9.8、11.8 W において、収縮率は 55%程度と一定値に収束したことから、収縮率の最大値は 55%程度であるといえる。収縮率は 1470 nm + RF の方が大きいものの、エラーバーは、1470 nm + 2RF のほうが小さかった。この結果から、1470 nm + 2RF の方が、静脈組織に対してばらつきが少なく、安定的に収縮を誘起できた。Fig. 3-11 に示した、1470 nm + 2RF で照射後のサンプルの組織切片像より、照射パワー7.9 W 以上では、全周に渡って外膜までの凝固が観察された。これらのことから、1470 nm + 2RF にて、照射パワー7.9 W 以上にて照射を行うと、血管の長期的な閉塞に関して有効である。また、引き抜き速度 2 mm/s は一般的な引き抜き速度より 2 倍速いが、静脈組織は十分に焼灼できたことから、1470 nm + 2RF は EVLA の治療時間を短縮できる可能性や、術者によって引き抜き速度が異なる場合でも十分な収縮率が得られる可能性が示唆された。

3.4.2. 安全性の比較

Fig. 3-5 に示すように、同じ平均エネルギー密度でレーザー照射した場合、波長 980 nm では、外膜側まで熱変性を誘発するのに対し、波長 1470 nm では、熱変性の影響は波長 980 nm に対して、表層にとどまった。これは 2 章で算出した光学特性値の違いによるものと考えられる。波長 1470 nm における δ は、波長 980 nm の 5 分の 1 程度と小さく、さらにヒト静脈の厚み 0.8 mm よりも小さいために、周辺組織への熱変性の影響が 980 nm より小さく抑えられると考えられる。Mordon ら^[12]の報告によると、治療後の有害事象を防ぐためには、周辺組織の熱影響を避けなければならないとしている。以上より、波長 1470 nm の方が 980 nm よりも光エネルギーの侵達が浅く、熱変性の影響を局限させ、治療の安全性が向上できる可能性が示唆された。

1470 nm + RF は、照射パワー 4.7 W 以下では、付着は発生しないものの、収縮率は不十分であった。7.9 W 以上で付着が観察され、照射パワーが大きいほど、付着の発生確率が増加した。波長 1470 nm における μ_a は、波長 980 nm より 7 倍大きかったということは、血管内にエネルギーが 7 倍吸収されやすく、血管内の水分が蒸散した結果、組織とファイバーとの付着をもたらしたと考えられた。これは、臨床においても確認されている現象であり、非臨床照射系が臨床を模擬できていると考えられた。ただ、照射中に付着が起こることで、同一部にレーザー光のエネルギーが集中し、組織の穿孔につながる可能性がある。

そこで、ファイバーを固定して同一部に照射 (引き抜き速度 0 mm/s) し、穿孔が起こる照射条件を評価するため、組織に対する過剰照射実験を行った。Fig. 3-12(b) に、組織の穿孔が発生するまでの照射エネルギーを示す。980 nm + BF、及び 1470 nm + RF の場合、穿孔は照射エネルギー 140 J 程度にて観察された。ベアファイバーは静脈組織とファイバーが離れているときと比べ、先端が組織と接触したときはエネルギー密度が 25 倍大きくなることにより、急激に温度が上昇し、組織の炭化及び穿孔を誘起すると考えられる。なお、これらの値は血管が円筒状、かつ蛇行していない理想的な形状をもとに算出した値であり、ファイバーの構造の比較を行うことのみで使用可能である。1470 nm + 2RF の場合、穿孔が発生する照射エネルギーは 270 J 程度であり、1470 nm + RF の 2 倍程度大きかった。これは、2 リングファイバーにおいて、レーザーに近いリングのパワー密度が 5 分の 3、ファイバー先端に近いほうのリングが 5 分の 2 程度、とラジアルファイバーよりもパワー密度が小さいことが原因として考えられた。

臨床における EVLA では、静脈周囲の TLA 麻酔、頭低位による静脈の虚脱やエコープローブによる圧迫の影響により静脈内には少量の血液しか存在していないと考えられるが、今後、*ex vivo* 実験を行い、血液の存在がレーザー照射による血管閉塞に及ぼす影響を評価する必要がある。

引き抜き速度 2 mm/s にて、ベアファイバーを使用すると、波長 980 nm において、照射パワー 4.7 W 以上、波長 1470 nm において全ての照射パワーにて、組織が炭化した。川田ら^[13]は、血液に含まれるタンパクがファイバー先端に付着し、レーザーの光エネルギーによって凝固することでファイバー先端の炭化が発生すると報告した。ファイバー先端の炭化部

位に光が吸収されることで、静脈に与えられるべきレーザーの光エネルギーが奪われてしまう。一方で、炭化物質が熱源となって血管の焼灼が起こることにより、レーザー波長特性を活かした焼灼効果は得られない。この熱源が高出力になると、組織に穿孔をもたらす。組織の穿孔によって、血管周囲組織にレーザーの光エネルギーが伝わり、皮下出血をもたらす。また、静脈周囲の神経組織を熱変性させた場合は、術後疼痛につながる。以上のように、炭化が、術後の有害事象を引き起こす原因^[14]であり、避けるべき現象である。1470 nm + RF、及び 1470 nm + 2RF では、組織の炭化は観察されなかった。以上より、2リングファイバーを用いる事で付着、及び穿孔のリスクを減らし、安全性が高まることが明らかとなった。

3.5. 結論

下肢静脈瘤の血管内治療用波長 980 nm 及び 1470 nm 半導体レーザー装置を用いて、照射効果(組織の収縮・穿孔)を検討し、2 波長における有効性と安全性を比較検討した。

波長 1470 nm の方が、波長 980 nm より小さい平均パワー密度及び平均エネルギー密度で収縮を誘起できた。さらに、波長 1470 nm の方が、穿孔の起きる平均エネルギー密度が大きかった。また、両波長とも小さい平均エネルギー密度で長時間照射を行った方が、穿孔を起こさずに収縮を誘起できた。

以上の結果から、波長 1470 nm レーザーを用いた EVLA の方が波長 980 nm を用いた EVLA より安全性と有効性が高い可能性が示唆された。

臨床を模擬するため、独自に構築した非臨床照射系を用いて、レーザー波長、照射パワー、照射時間やファイバー形状の違いによって照射効果を網羅的に評価し、2 章において算出した静脈組織の光学特性値や組織学的評価から、照射方式・条件に対する安全性及び有効性を評価した。

980 nm + BF が臨床において有害事象を引き起こす原因として、有効性と安全性が両立する照射条件がないということが明らかになった。

1470 nm + RF では、有効性及び安全性が両立する照射条件が限定されるため、照射条件の選定が重要であることが明らかになった。

1470 nm + 2RF は、有効性と安全性が両立する照射条件を有し、長期的な血管の閉塞に有効で、かつ穿孔のリスクを減らし、安全性が高いことが明らかとなった。また、EVLA の治療時間を短縮でき、効率の良い照射条件であることが示された。

以上の結果から、1470 nm + 2RF の組み合わせが最も安全性と有効性が高い可能性が示唆された。

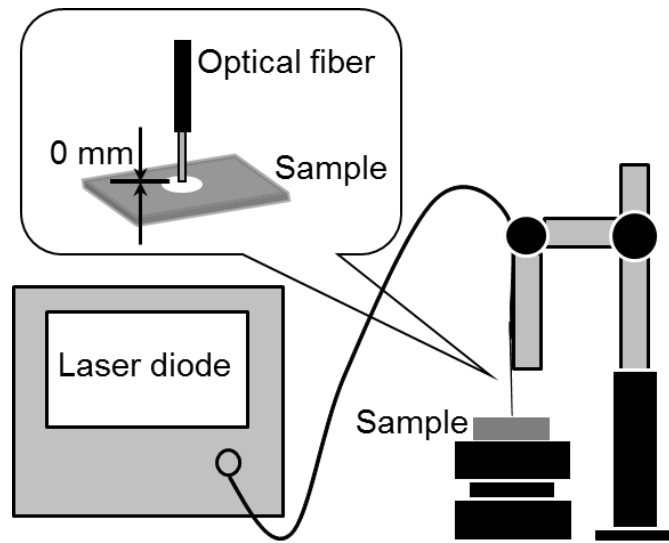


Fig. 3-1 Schematic of the optical setup for laser irradiation.

Fig. 3-2(a)

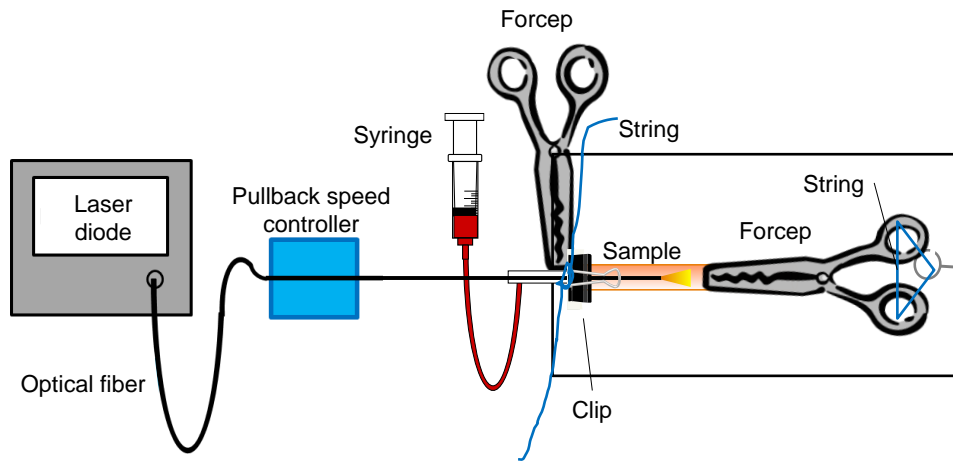


Fig. 3-2(b)

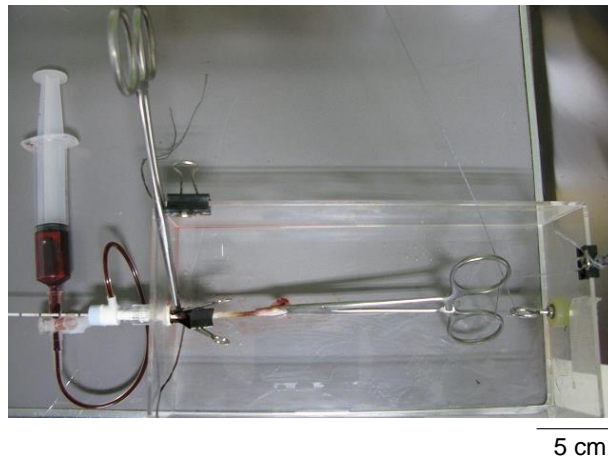


Fig. 3-2(c)

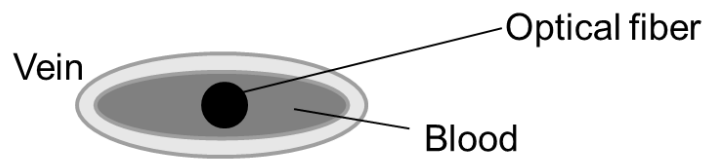


Fig. 3-2 (a) Schematic diagram of *ex vivo* setup for laser irradiation experiment. The optical fiber was withdrawn by a speed controller.

(b) Photograph of *ex vivo* experimental setup using a continuous mode laser. One end of a vein was clamped by a clip, and the other was pulled to stretch the vein using a weight of 20 g to mimic the environment in the body.

(c) Cross-section of vein in laser irradiation experiment.

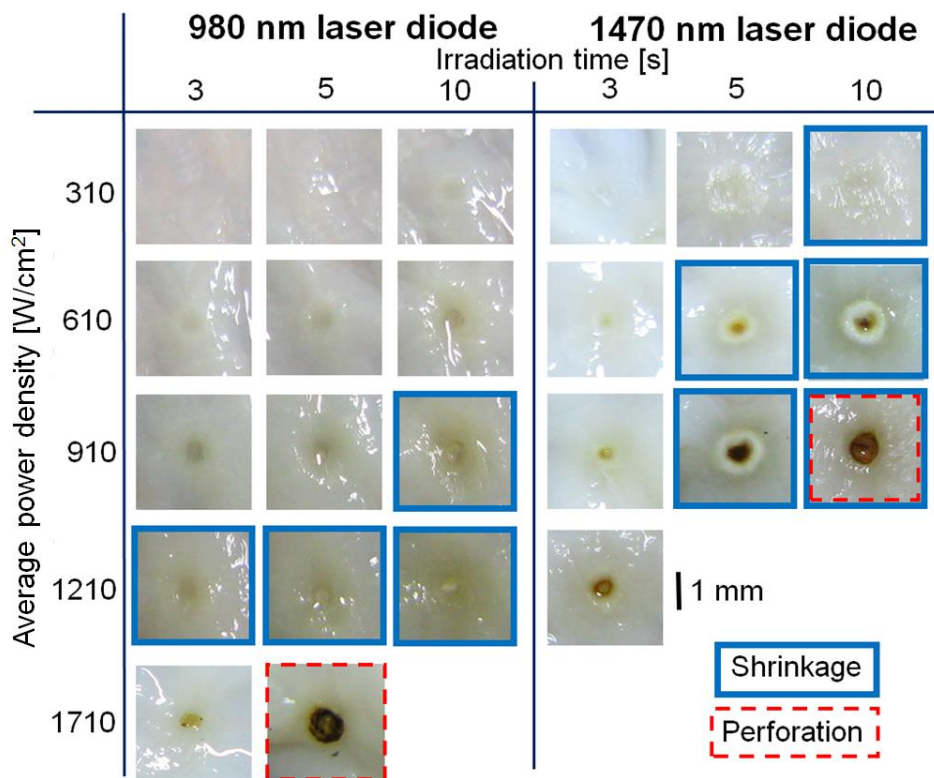


Fig. 3-3 Photograph of the human vein wall tissues after 980 nm and 1470 nm laser irradiations.

Fig. 3-4(a)

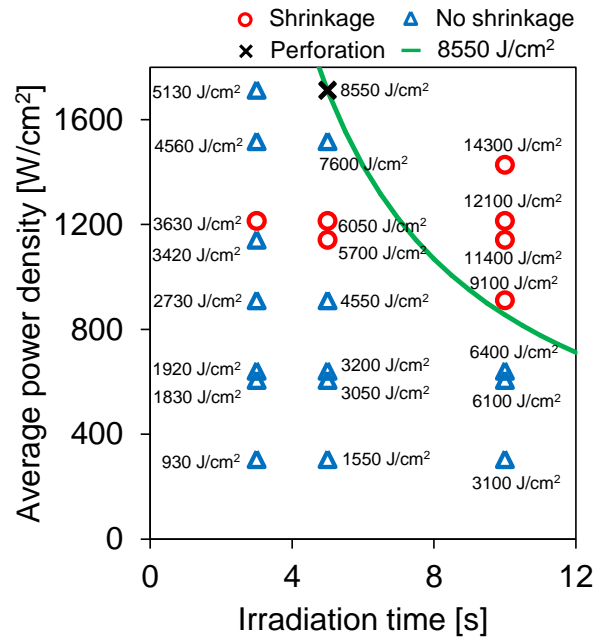


Fig. 3-4(b)

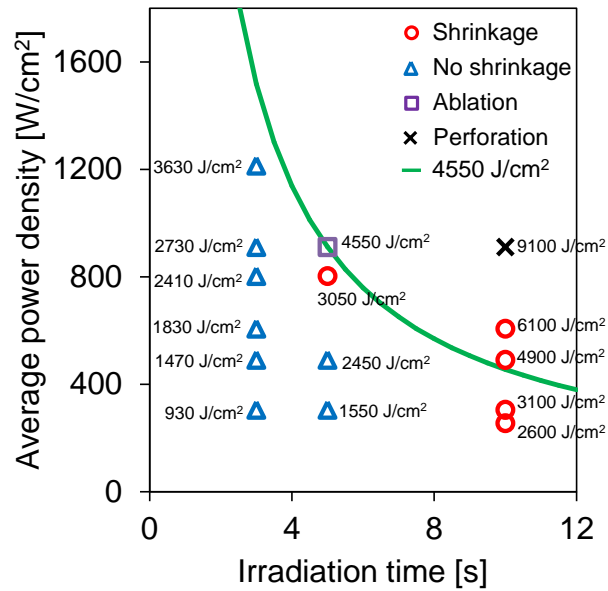


Fig. 3-4 The relation of average power density, irradiation time and the irradiation effects.

(a) At the wavelength of 980 nm. (b) At the wavelength of 1470 nm.

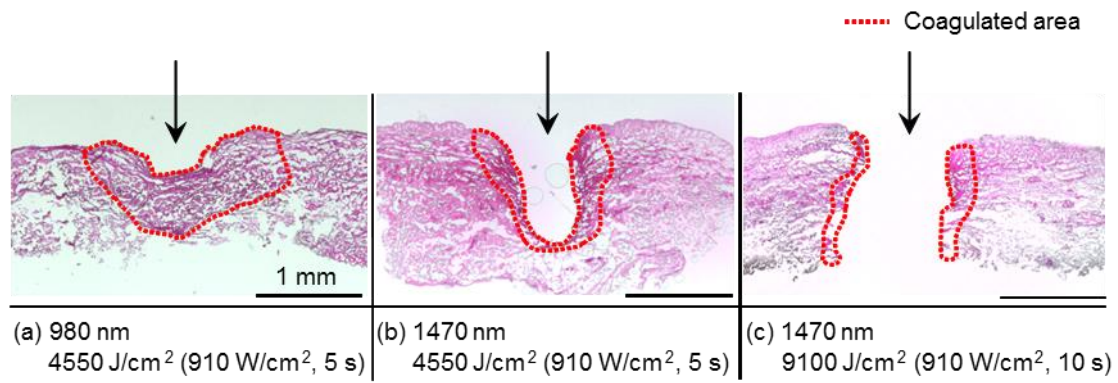


Fig. 3-5 The cross-section views of human varicose veins were investigated by hematoxylin-eosin stain. The arrows show the fiber-tissue contact point.

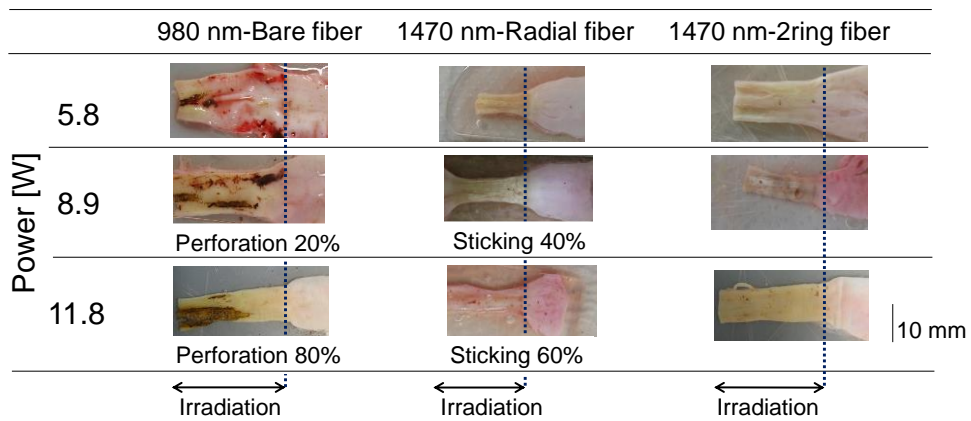


Fig. 3-6 Intravascular lumen after laser irradiation at a pullback speed of 1 mm/s.

Tissue carbonization was observed in all cases using a bare fiber.

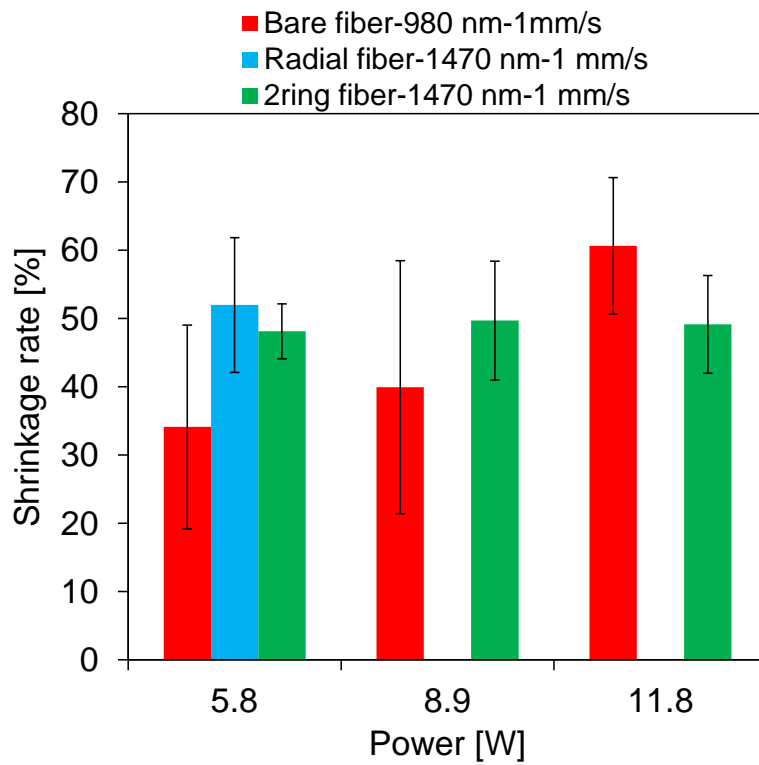


Fig. 3-7 Shrinkage rate of veins after laser irradiation at a pullback speed of 1 mm/s ($n=5$). Error bar indicates the standard deviation.

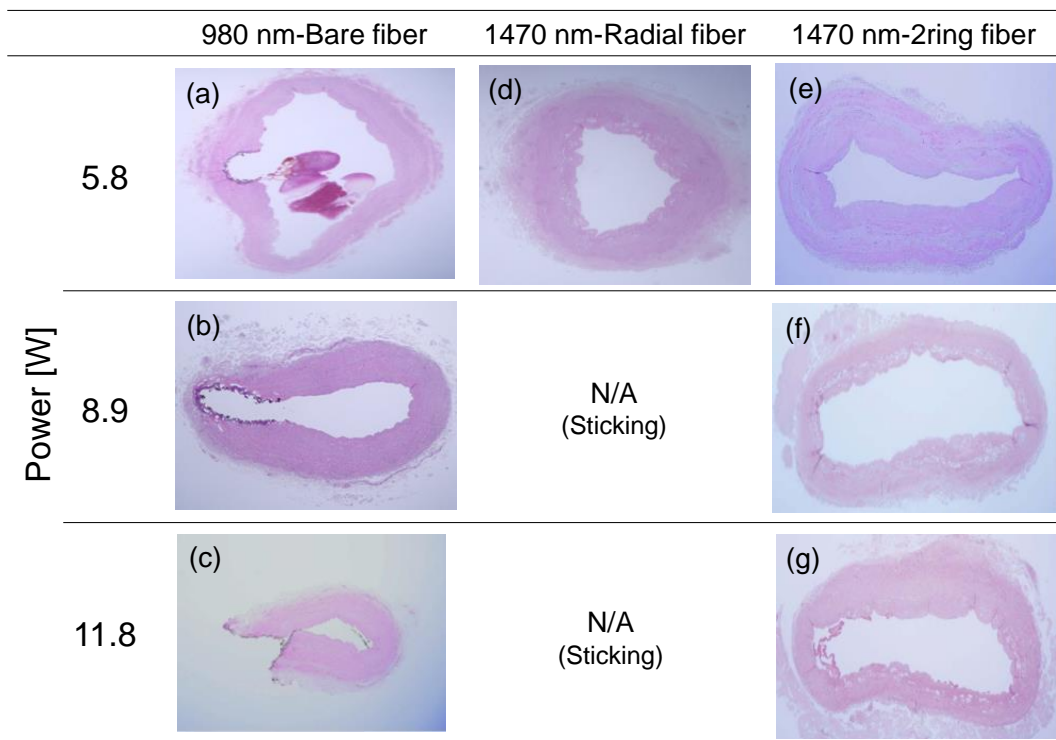


Fig. 3-8 Histological analysis of tissue after laser irradiation at a pullback speed of 1 mm/s.

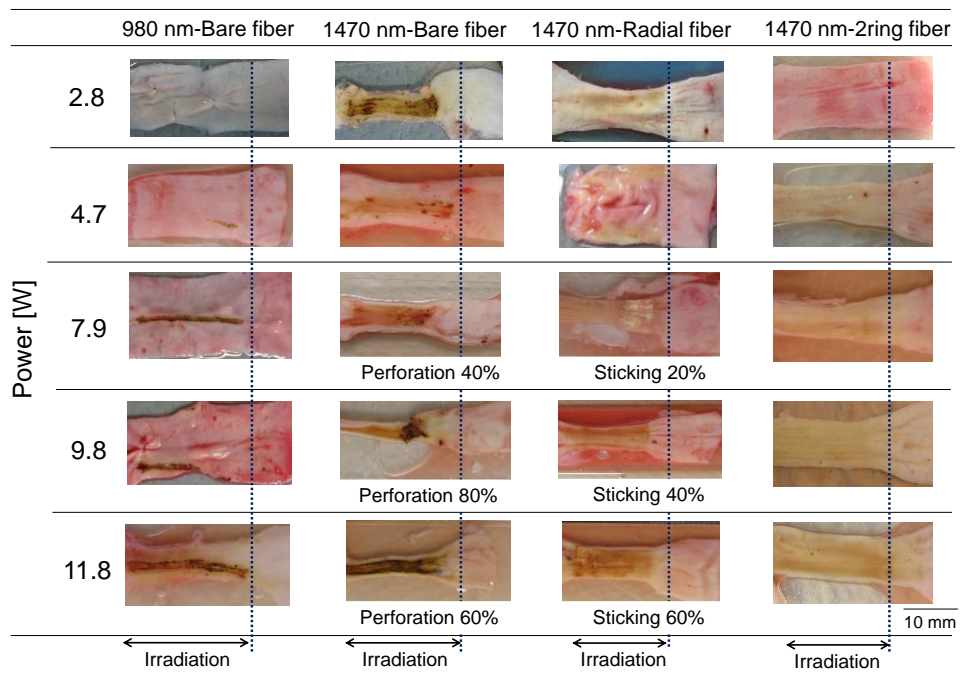


Fig. 3-9 Intravascular lumen after laser irradiation in pullback speed 2 mm/s.

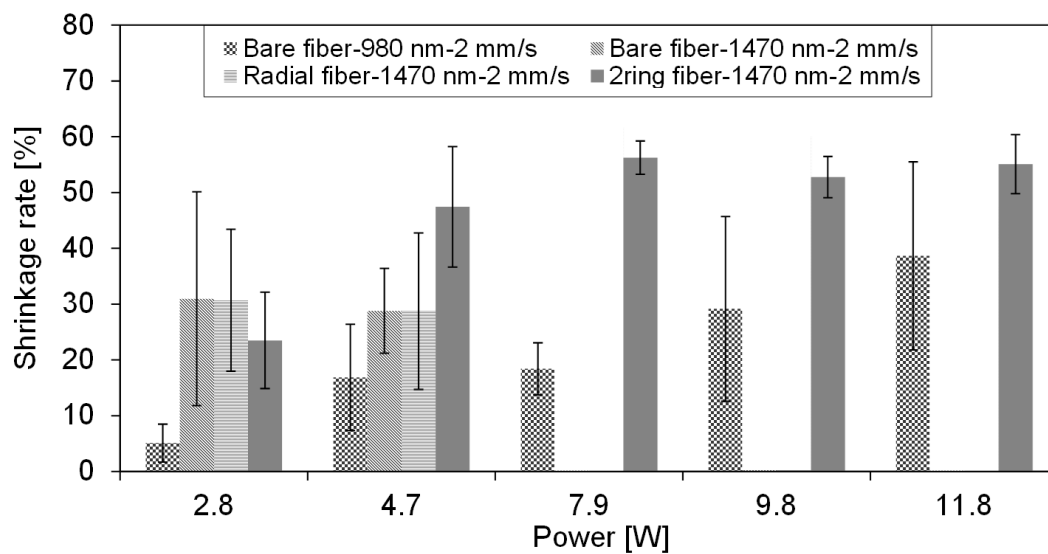


Fig. 3-10 Shrinkage rate of veins after laser irradiation at a pullback speed of 2 mm/s ($n=5$). Error bar indicates the standard deviation.

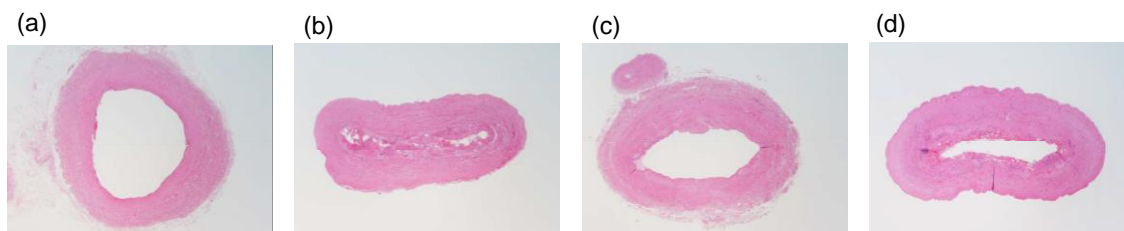


Fig. 3-11 Histological analysis of tissue after laser irradiation at a pullback speed of 2 mm/s.
 (a) 4.7 W, (b) 7.9 W, (c) 9.8 W, (d) 11.8 W.

Fig. 3-12(a)

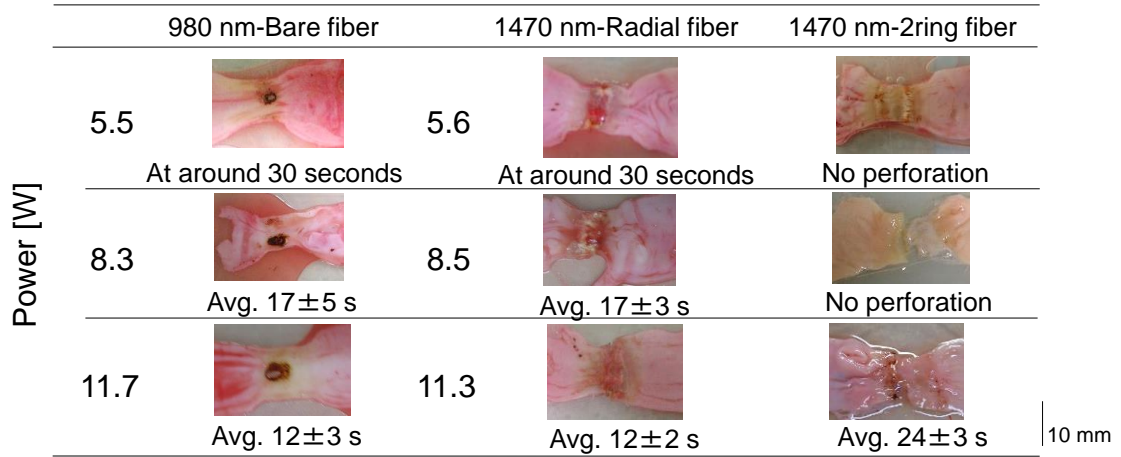


Fig. 3-12(b)

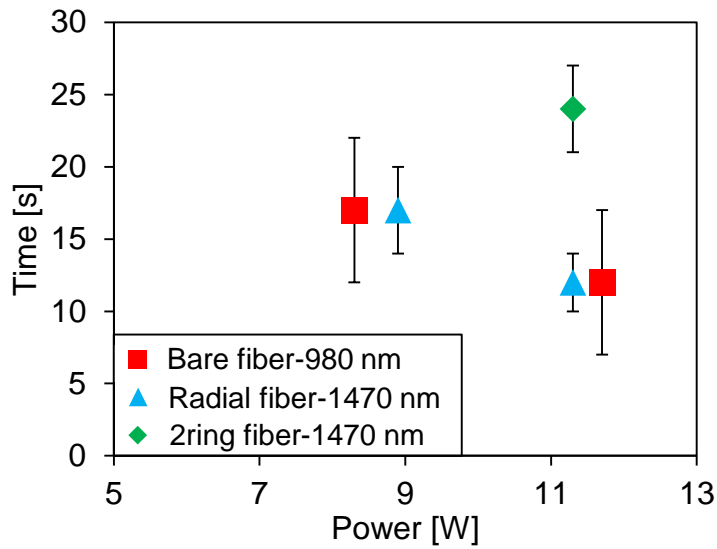


Fig. 3-12(a) Vein lumen wall after laser irradiation and time required for tissue perforation ($n=5$).

(b) Relationship between power and time required for tissue perforation.

Table 3-1 Summary of irradiation effects.

	Irradiation type (Pullback speed 0, 1 mm/s)	980 nm+ bare fiber			1470 nm+ radial fiber			1470 nm+ 2ring fiber		
		5.8	8.9	11.8	5.8	8.9	11.8	5.8	8.9	11.8
	Power [W]	5.8	8.9	11.8	5.8	8.9	11.8	5.8	8.9	11.8
Efficacy	Shrinkage rate	×	△	○	○	×	×			○
	Histological analysis	×	×	×	○	×	×			○
Safety	Probability of perforation or sticking [%]	0	20	80	0	40	60	0	0	0
	Energy required for perforation		△			△			○	

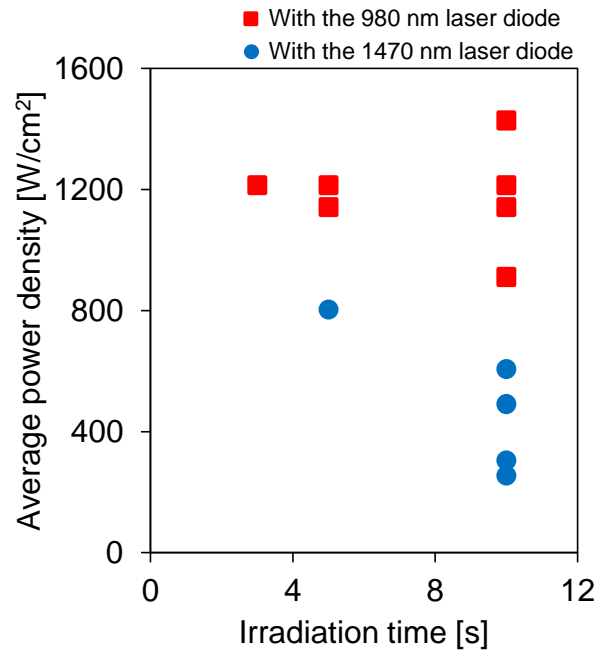


Fig. 3-13 The relation of average power density, irradiation time and the tissue shrinkage at wavelengths of 980 nm and 1470 nm.

参考文献

- [1] M. Vuylsteke, D. J. Van, J. Roelens, T. De Bo, S. Mordon: Endovenous laser treatment: a morphological study in an animal model. *Phlebology*, 24(4): 166-175, 2009.
- [2] M. Hirokawa, N. Sugano, Y. Inoue, T. Iwasaki, N. Kurihara, H. Nakamura, H. Terasaki, Y. Yusa, R. Nakashima, T. Iwai: A novel endovenous laser treatment of great saphenous vein reflux with a 1320 nm Nd: YAG laser and a pull-back device. 15th World Congress-Union Internationale de Phlebologie, 241-244, 2005.
- [3] C. F. Fernández, M. Roizental, J. Carvallo: Combined endovenous laser therapy and microphlebectomy in the treatment of varicose veins: Efficacy and complications of a large single-center experience. *J. Vasc. Surg.*, 48(4): 947-952, 2008.
- [4] C. W. van der Geld, R. R. van den Bos, P. W. van Ruijven, T. Nijsten, H. A. Neumann, M. J. van Gemert: The heat-pipe resembling action of boiling bubbles in endovenous laser ablation. *Lasers Med. Sci.*, 25(6): 907-909, 2010.
- [5] S. Kaspar, J. Siller, Z. Cervinkova, T. Danek: Standardisation of parameters during endovenous laser therapy of truncal varicose veins--experimental ex-vivo study. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 34, 224-228, 2007.
- [6] 広川雅之, 栗原伸久: 下肢静脈瘤に対する 980 nm レーザーを用いた標準的血管内レーザー治療. *Jpn. J. Vasc. Surg.* 21: 583-588, 2012.
- [7] 加藤純二, 栗津邦男, 篠木毅, 守矢佳世子: レーザーを理解しよう, 加藤純二, 栗津邦男, 篠木毅, 守矢佳世子編, 一からわかるレーザー歯科治療, 1-7, 2003, 医歯薬出版株式会社.
- [8] T. M. Vuylsteke, S. R. Mordon: Endovenous laser ablation: a review of mechanisms of action. *Ann. Vasc. Surg.*, 26, 424-433, 2012.
- [9] U. Maurins, E. Rabe, F. Pannier: Does laser power influence the results of endovenous laser ablation (EVLA) of incompetent saphenous veins with the 1470-nm diode laser? A prospective randomized study comparing 15 and 25 W. *International angiology: a journal of the International Union of Angiology*, 28(1): 32-37, 2009.
- [10] 岩井武尚 著. 和田登 編集: こうして治す下肢静脈瘤, 105, 2008, 保健同人社.
- [11] 橋新裕一: 光・レーザーの安全基準とその動向. *日本レーザー医学会誌*, 33(1): 27-33, 2012.
- [12] S. R. Mordon, B. Wassmer, J. Zemmouri: Mathematical modeling of endovenous laser treatment (ELT). *Biomedical Engineering OnLine*, 5: 26, 2006.
- [13] 川田通広, 伊藤基巳紀, 木村正廣, 笹栗志朗: 下肢静脈瘤レーザー治療におけるファイバー先端温度変化について-810 nm 半導体レーザーによる実験的検討-. *静脈学*, 20: 299-305, 2009.
- [14] 榎原直樹: 下肢静脈瘤に対する血管内治療へのレーザー応用と問題点. *Medical photonics*,

10, 40-44, 2012.

4. 血管内温度分布を推定する計算機シミュレーションモデルの構築

本章では、短期間で定量的かつ再現性の高い解析を可能とするため、生体組織光学に基づいてレーザー照射中の血管内温度分布を推定する計算機シミュレーションモデルを評価する。

4.1. 対象と装置

4.1.1. 対象

サンプルとして、ブタ頸静脈、ブタ静脈血を使用した。独立行政法人中小企業基盤整備機構 神戸医療機器開発センター内の株式会社アイビーテック神戸ラボにおいて、動物実験用のブタから摘出され、静脈としては生理食塩水に浸漬したものを使用した。静脈血は遠心分離し、ヘパリン、血漿、血小板、及び白血球を含む上澄み液を除去した。次に赤血球を以下のように 2 回洗浄した。赤血球に生理食塩水を加え、遠心分離し、上澄み液を取り除いた。最後に、赤血球にリン酸緩衝生理食塩水(Phosphate buffered Saline: PBS)を加え 4°Cで冷蔵保存した。実験時には冷蔵保存した赤血球を再度同じ条件で遠心分離し、上澄み液を除去した後、PBS を加え、ヘマトクリット値 Ht=42 に調製した。

4.1.2. 半導体レーザー

半導体レーザーとして ELVeS レーザー1470 (LEONARDO®1470, CeramOptec GmbH, Germany) を使用した。レーザー装置の外観を Fig. 4-1 に、仕様を Table 4-1 に示す。ELVeS レーザー1470 の発振波長は 1470 nm であり、出力は 2~15 W まで 0.1 W 間隔で設定可能である。照射方式としては連続波を用いた。

4.1.3. 光ファイバー

Fig. 4-2 に示すように、照射用光ファイバーとして直径 1.85 mm、コア径 500 μm のラディアルリングファイバー(ELVeS Radial 2ring™ Fiber, CeramOptec GmbH, Germany)を使用した。通常の光ファイバーと同様に、中心部のコアと、その周囲を覆うクラッドの二重構造となっており、その射出部は円錐状となっている。このため、コア内に入射されたレーザー光はクラッドによって全反射を繰り返し、出射端での反射と屈折によりファイバーの短軸方向に対し、360° 全周に放出される。また、先端軸方向からもレーザー光が出射される。なお、本論文における Cone1、Cone2 とはコア内に配置されているプリズム部、Edge とは先端照射部のことを指す。

4.1.4. 温度計測システム

温度計測にはセンサとして K 型のシーズ熱電対(T35LC-200L2K9B, 岡崎製作所)を用いた。Fig. 4-3 に熱電対の外観及び先端部形状を、Table 4-2 に仕様を示す。シーズは、インコネルのチューブの中に熱電対素線を入れ、酸化マグネシウムを固く充填して絶縁したものである。测温接点先端部に位置している。この温度センサと接続した高精度温度・電圧ユニット(NR-TH08, KEYENCE, Japan)で温度を測定し、マルチデータ収集システム(NR-500, KEYENCE, Japan)にて

測定したデータをサンプリング周波数 10 Hz で記録した。

4.2. 光・熱伝搬シミュレーション

4.2.1. 光・熱伝搬シミュレーションの原理

モンテカルロ法を用いた血液及び静脈組織内における光伝搬の計算、及び熱伝導計算を組み合わせた光・熱伝搬シミュレーションの原理について述べる。

4.2.1.1. 光伝搬計算

血液及び静脈組織内における光伝搬を計算するために、Wang らが開発したモンテカルロ法を基としたシミュレーションコード MCML (Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues)、及び CONV (Convolution for responses to a finite diameter photon beam incident on multi-layered tissues)を用いた^[1-3]。MCML は多層構造の物質内における光伝搬を計算することができ、本シミュレーションにおいては、血液及び静脈組織が平面かつ均一な構造であると仮定し、血液の厚さ(光ファイバー側面から静脈表面までの距離)、及び静脈の厚さを設定し、範囲内における光伝搬を計算した。波長 1470 nm における静脈血、及び静脈組織の吸収係数、及び散乱係数としては、2 章での実測結果よりそれぞれ Table 4-3 に示した値^[4-7]を用い、屈折率、及び散乱の異方性因子としては文献値よりそれぞれ 1.38、及び 0.9 を用いた^[8, 9]。光ファイバーの屈折率としては、合成石英の波長 1500 nm における屈折率を用いた^[10]。シミュレーションでは、ガウス分布に従う強度のレーザー光が、光ファイバーから血液に対して垂直に入射すると仮定し、レーザービームの中心を軸とした円柱座標系における各座標で組織に吸収されるエネルギー密度を算出した。モンテカルロ法での試行回数(入射光子数)を 10^6 とし、計算のグリッドサイズを深さ方向、半径方向、共に $10 \mu\text{m}$ とした。

4.2.1.2 熱伝導計算

熱伝導の計算では、モンテカルロシミュレーションで算出した生体組織内のエネルギー密度分布に基づき、温度上昇、及び時間経過と共に熱が拡散する過程を数値解析的に計算した。Fig. 4-4に示すように、光伝搬計算において、エネルギー密度分布はレーザービームの中心を軸とした円柱座標系で算出されるが、熱伝導計算においては簡略化のため、下式のような2次元非定常熱伝導方程式を使用し、熱源のエネルギー密度 $S [\text{W}/\text{m}^3]$ に対して、モンテカルロシミュレーションで算出したエネルギー密度を入力し、この熱源がファイバーの引き抜き速度で移動していくと仮定して時刻 t における熱力学温度 $T [\text{K}]$ を計算した。

$$\rho C_p \frac{\partial T}{\partial t} = \lambda \left(\frac{\partial^2 T}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 T}{\partial y^2} \right) + S.$$

ここで、密度 ρ 、比熱 C_p 、及び熱伝導率 λ の値は温度変化にかかわらず一定値であると仮定し、各熱物性値は血液と静脈壁のそれぞれについて文献値^[44]より Table 4-3 に示した値を用いた。

実際のシミュレーションでは上式を有限体積法により次式のように離散化した式を用い、計算を行った^[11]。

$$\rho C_p V_{i,j} \frac{T_{i,j}^{k+1} - T_{i,j}^k}{\Delta t} = \left(q_{i-\frac{1}{2},j} - q_{i+\frac{1}{2},j} \right) A_x |_{i,j} + \left(q_{i,j-\frac{1}{2}} - q_{i,j+\frac{1}{2}} \right) A_y |_{i,j} + S_{i,j},$$

ただし、Fig. 4-4 に示すように、 q は熱流束を指し、次式のように表される。

$$q_{i+\frac{1}{2},j} = -\lambda \frac{T_{i+1,j} - T_{i,j}}{\Delta x},$$

$$q_{i,j+\frac{1}{2}} = -\lambda \frac{T_{i,j+1} - T_{i,j}}{\Delta y}.$$

各位置での熱源のエネルギー密度 S [W/m^3] に従い、初期温度からの反復計算を逐次緩和法により収束させ、時間ステップ 0.1 s で各座標の温度を逐次算出し、各時刻における温度分布を算出した。今回のシミュレーションでは、気泡の発生や静脈組織の変形、凝固に伴う組織変性など複雑な過程は無視した。

4.2.2. 光・熱伝搬シミュレーションモデル内の温度分布算出過程

ファイバーからの光出射プロファイル評価(4.3 節参照)により得られたファイバーから出射されるレーザー光強度の軸方向での分布を基に、入射光強度が最大値の $1/e^2$ ($\approx 13.5\%$) となる長さをビーム直径に設定した。光出射比率測定結果を基に、全出力から Cone1、Cone2、及び Edge から出射するパワーを配分した。また、シミュレーションにおいて、それぞれの Cone から生体組織に入射するレーザー光は、ファイバー短軸方向の全周に照射されるためパワー密度が同じになるよう Fig. 4-5 に示す方法でエネルギー量を変換して入力した。光ファイバー、血液、及び静脈組織の初期温度は 20°C とし、Fig. 4-6 における上下、及び左側の境界条件は断熱として、左側は 20°C に固定して計算を行った。この照射条件でシミュレーションを行った場合のシミュレーションモデル内における温度分布の時間変化を Fig. 4-7 に示す。光ファイバーから照射されるレーザー光により生じた生体組織内のエネルギー密度分布に基づき、温度上昇、及び時間経過と共に熱が拡散する過程が観測された。

4.3. EVLA 照射用光ファイバーの光出射プロファイル評価

4.2.節のシミュレーション原理で既述したように、シミュレーションを用いて血管内の温度分布を推定するには、光ファイバーから出射されるレーザーのビーム半径、及び各位置で照射されるレー

レーザー光のエネルギーのパラメータが必要となる。そのため、下記のビームプロファイル測定実験、及び光出射比率測定を行うことにより上記パラメータを決定した。

4.3.1. 測定方法

4.3.1.1. 長軸方向の分布測定

長軸方向の出射光の強度分布を測定するために構築した光学系を Fig. 4-8 に示す。ファイバーを、クランプを用いて模式図に示す位置に固定し、波長 1470 nm、表示出力 6.0 W の半導体レーザーに接続し導光した。自動ステージ(SGSP26-85(X), SIGMAKOKI)に固定したナイフエッジを光ファイバー先端から 10 $\mu\text{m/s}$ の速度で矢印の方向に 20 mm 移動させ、ナイフエッジとスリットを通過したレーザー光の総透過光量を積分球型フォトダイオード検出器(S146C, Thorlabs)で検出し、接続したパワーメータ(PM100USB, Thorlabs)を用いて出力を計測した。スリットの幅は全周方向成分のうち、 10° になるよう、ファイバの長軸方向には 0.34 mm、短軸方向には 0.51 mm のスリット幅に設定した。測定した総透過光量の時間変化から、光ファイバーの各位置における出射光の強度分布を算出した。

4.3.1.2. 短軸方向の分布測定

短軸方向の出射光の強度分布を測定するために構築した光学系を Fig. 4-9 に示す。ファイバーを、クランプを用いて模式図に示す位置に固定し、波長 1470 nm、表示出力 6.0 W の半導体レーザーに接続し導光した。自動ステージ(SGSP26-85(X), SIGMAKOKI)に固定したナイフエッジを光ファイバー先端から 10 $\mu\text{m/s}$ の速度で矢印の方向に 20 mm 移動させ、ナイフエッジとスリットを通過したレーザー光の総透過光量を積分球型フォトダイオード検出器(S146C, Thorlabs)で検出し、接続したパワーメータ(PM100USB, Thorlabs)を用いて出力を計測した。短軸方向でのスリット幅はレーザー光の中心から $\pm 5^\circ$ になるよう長軸方向には 0.34 mm、短軸方向には 0.51 mm のスリット幅に設定した(Fig. 4-10)に示す。測定した総透過光量の時間変化から、光ファイバーの各位置における出射光の強度分布を算出した。

4.3.1.3. 光ファイバー内の 2 つの Cone 部からの光出射比率測定

光ファイバーの各 Cone 部から出射されるエネルギーの出射比率を測定するために構築した光学系を Fig. 4-11 に示す。波長 1470 nm、表示出力 6.0 W の半導体レーザーを導光したファイバーを積分型フォトダイオード検出器(S146C, Thorlabs)に挿入し、模式図に示す位置関係になるようにクランプで固定した。各位置関係における総透過光量を検出し、接続したパワーメータ(PM100USB, Thorlabs)から出力を計測した。各位置で得られた出力から、各 Cone 部で出射されるレーザーの出力を算出し、光出射比率を求めた。

4.3.2. 実験結果

4.3.2.1. 長軸方向出射プロファイル

ファイバーから出射されるレーザー光強度と長軸方向における測定位置との関係を Fig. 4-12 に示す。Cone1 から出射されるレーザー光は、位置 (平均値±標準偏差) 11.9 ± 0.1 mm、及び位置 12.1 ± 0.1 mm に 2 つのピークをもつ形で表れ、Cone2 から出射されるレーザー光は、位置 17.6 ± 0.2 mm に 1 つのピークを持つ形で表れた。Cone2 に対する Cone1 の最大ピーク比率は 3.87 であった。

4.3.2.1. 短軸方向出射プロファイル

Fig. 4-13 に、レーザー光強度と短軸方向における測定位置との関係を示す。光ファイバー先端から出射するレーザー光は、位置 (平均値±標準偏差) 2.3 ± 0.2 mm にピークをもつ形で表れた。本実験より得られたレーザー光強度の分布を基に、入射光強度が最大値の $1/e^2$ ($\approx 13.5\%$) となるビーム幅を求めた (Table 4-4)。シミュレーションでは、同様のビーム直径を持つガウス分布に従う強度のレーザーとして設定した。

4.3.2.3. 光ファイバー内の 2 つの Cone 部から出射されるエネルギーの出射比率

Fig. 4-14 にファイバーの光出射比率を示す。Cone1、Cone2、Edge の順に光出射比率が高くなった。Cone 間の光出射比率の差は 5.9%と小さく、Cone1、Cone2 で同程度の割合で出射されていた。先端方向から出射されるレーザー光のエネルギーは Cone 部と比較して非常に小さい比率を示した。出射比率測定結果を基に、全出力から Cone1、Cone2、及び Edge から出射するパワーを配分してシミュレーションを行った (Table 4-5)。

4.3.3. 考察

光ファイバーは、コア内に Cone 形状のプリズムを有し、1 つ目の Cone でレーザー光の一部を反射させ、残り全てのレーザー光が 2 つ目の Cone で反射されることで、レーザー光を 2 か所に分け、かつ全周方向に照射できる構造になるよう設計されている。したがって光ファイバーが図面通りの形状であれば、レーザー光は側面からしか出射されない。しかし、Fig. 4-15 に示すガイド光からも観察できるように、実際には光ファイバーの前方にも光が出射されている。Fig. 4-12 に示した長軸方向出射プロファイル測定結果では、Cone 位置付近に 2 か所のピークを持つプロファイルが計測された。しかし、レーザーの光強度のピーク比は Cone 間で異なり、また、Table 4-4 に示したように光ファイバー表面におけるビーム幅も異なった。光ファイバーのサンプルの顕微鏡画像を Fig. 4-16 に示す。全てのサンプルで Cone の位置が異なっていること、また、その位置と Fig. 4-12 及び Fig. 4-13 に整合性がみられることから、サンプル間でピーク位置に差が生じた要因は、ファイバー内の Cone の位置の誤差によるものと考えられた。Fig. 4-13Fig. 4 に示す短軸方向出射プロファイル測定結果より、ファイバー先端からレーザー光が出射されていることが明らかとなった。Fig. 4-15 に Cone 部の顕微鏡画像を示す。波長 635 nm のガイド光のファイバー内の軌跡を観察すると、

Cone の頂点付近から先端方向にレーザー光が漏れ出ていることがわかる。すなわち、実際の Cone は理想的な円錐形状ではなく、頂点部分が丸みを帯びた形状となっており、製造プロセスで許容された誤差の分だけ、ファイバー先端からレーザー光が漏出し、プロファイルがばらついたと考えられた。さらに、Fig. 4-14 に示した出射比率測定結果より、Cone 間の出射比率が互いに異なり、Cone 間の差が 5.9%であった。レーザー光がコア内を平行に移動したと仮定すれば、出射比率は Cone の断面積比に依存する。比率は実測値と異なるものの、光ファイバーの断面積比と出射比率測定結果は同様の傾向を示しており、測定結果の妥当性を裏付けるものとなった。一方で、先端から出射するレーザー光は Cone 部と比較して非常に小さい比率を示した。これも上記の製造誤差により生じたものと考えられた。

4.4. シミュレーションの妥当性の評価

本研究にて開発した光・熱伝搬シミュレーションは、モンテカルロ法を用いた生体組織内の光伝搬と熱伝導の計算から構成されている。しかし、実際の EVLA では、それらの現象に加え、血液と静脈組織内の水分の気相変化に伴う潜熱の影響、及び光ファイバーの牽引に伴う血液の流動による熱伝達現象が生じているため、実際の EVLA における血管内温度分布とシミュレーションとの間に誤差が生じていると考えられる。開発したシミュレーションを有用なものにするためには、それら未考慮の現象による実環境との温度の誤差がどの程度であるかを把握する必要がある。そこで、本章では、波長 1470 nm の半導体レーザーとラジアル 2 リングファイバーを組み合わせた EVLA の臨床環境を模擬した *ex vivo* 照射系を構築し、静脈壁外側表面の温度計測と静脈壁の組織学的評価によって静脈壁の厚さ、及び熱影響の有無を調べた。そして、*ex vivo* 実験と同様の照射条件でシミュレーションを行い、算出された温度を比較することでシミュレーションの妥当性を評価した。

4.4.1. 実験方法、及びシミュレーション方法

4.4.1.1. 静脈壁外側表面の温度計測実験

EVLA の臨床環境を模擬し、静脈壁外側表面の温度の時間変化を計測するために、Fig. に示す *ex vivo* 照射系を構築した。ブタ頸静脈の両端を糸で結び、張力をかけてケース内に固定した。ヘマトクリット値 Ht=42 に調製したブタ静脈血を静脈内に注入した。ケース外側からコネクタを通じて静脈内にファイバーを挿入した。その際、シリンジを用いて陰圧にすることで静脈壁と光ファイバーを密着させた。熱電対を光ファイバー表面との距離が静脈厚さになるように設置した。波長 1470 nm、出力を 7 W、あるいは 10 W に設定した半導体レーザーに接続したファイバーを自動ステージ (SGSP26-85(X), SIGMAKOKI)にて、引き抜き速度 1.0 mm/s に制御しながら牽引し、レーザー照射を行った。自動ステージの制御にはステージコントローラー (SHOT-602, シグマ光機)と PC 用ソフトウェア SGTERM を用いた。レーザー照射中、熱電対と接続した高精度温度電圧ユニット (NR-TH08, KEYENCE)で温度を測定し、マルチデータ収集システム (NR-500, KEYENCE)にてサンプリング周波数 10 Hz で記録し、静脈壁外側表面における温度の時間変化を測定した。

4.4.1.2. レーザー照射前後の静脈の厚さ測定、及び組織学的評価

レーザー照射前後の静脈を医療用ハサミを使用し、照射部位と未照射部位を短軸方向に切り取り、Tissue-Tek O.C.T Compound (Sakura Finetechnical Co. Ltd.)に包埋させて冷凍固定した。ただし、出力 10 W で照射した際に生じたスティッキングにより過照射された部分は除外した。凍結完了後、ルーチン用凍結ミクローム (CM1850, Leica Microsystems GmbH)で厚さ 10 μm に薄切した。薄切した試料をスライドガラス上に貼り付け、ヘマトキシリン・エオジン (Hematoxylin-Eosin; HE)染色を施した。HE 染色は病理染色の中でも最も一般的な染色であり、細胞、及び組織構造の全体像を把握するために用いられる。ヘマトキシリンにより核を、エオジンにより細胞質を染色することができる。HE 染色の手順を以下の①～⑧に示す。

① スライドガラスに貼り付けた試料を 99.5%エタノール (14713-24, Nacalai tesque)に約 30 秒間浸

漬させ試料を固定した後、包埋剤を除去するため、蒸留水に約 30 秒間浸漬させた。

- ② 70%, 80%, 99.5%エタノールに約 30 秒ずつ浸漬し、段階的に脱水を行った。
- ③ 試料を乾燥させた後、マイヤーヘマトキシリン液(131-09665, Wako)に 5 分間浸漬させた。
- ④ 蒸留水で軽くゆすぎ、蒸留水に 5 分間浸漬させヘマトキシリンの色出しを行った。
- ⑤ 試料を乾燥させ、0.1%エオジン Y エタノール溶液(054-06505, Wako)に一瞬だけ浸漬し、すぐに蒸留水で洗浄した。
- ⑥ 70%, 80%, 99.5%エタノールに約 30 秒ずつ浸漬し、段階的に脱水を行った。
- ⑦ 試料にレモゾール(120-00411, Wako)を 1,2 滴滴下し透徹させた。
- ⑧ 試料にソフトマウント(199-11311, Wako)を数滴滴下した後、カバーガラスを被せ、圧着させた。

HE 染色後、デジタルスライドスキャナ(NanoZoomer2.0-RS, 浜松ホトニクス)により染色画像を取得した。観察では焼灼前後の静脈壁厚さを測定した。ただし、各サンプルに対し Fig. 4-18 に示すように 15 箇所測定し、平均化することでそれぞれの厚さとした。また、レーザー照射後の静脈内部に生じた炭化層、空胞形成層、凝固層の 3 つの熱影響層の有無を確認した。ただし、炭化層は黒く変色している範囲、空胞形成層は水分が気化し、組織内に発生した空胞が球状かつ連続的に分布している範囲、凝固層は硝子質変性が連続的にみられる範囲^[12]と定義した。

4.4.1.3. シミュレーション方法

Ex-vivo 実験とシミュレーションを比較するために構築したシミュレーションモデルを Fig. 4-19 に示す。光ファイバーと静脈内壁が接していると仮定し、軸方向 20 mm、半径方向 5.0 mm、分解能 10 μm のシミュレーションモデルを構築した。シミュレーションモデル内の初期温度は実験環境と同様の 20°C に設定し、静脈の中心、すなわちモデル下側の境界条件は断熱に、その他の境界条件は 20°C に設定した。光出射プロファイル測定結果(4 章参照)から、ラディアル 2 リングファイバーから出射されるレーザーのビーム直径は Cone1、Cone2、Edge でそれぞれ 0.450、0.542、0.806 mm に設定した。レーザーの出力は 7、10 W に設定し、光出射比率測定結果より、全出力から Cone1、Cone2、及び Edge から出射するパワーを Table 4-5 に示す値に配分した。時間ステップ 0.1 s で各座標の温度を逐次算出し、各時刻における温度分布を算出した。シミュレーションモデル内の光ファイバー表面から静脈厚さ分だけ離れた位置 $\mu \pm \sigma$ を計測点とし、各測定点における温度の時間変化を算出した。

4.4.2. 実験結果

4.4.2.1. EVLA 非臨床照射系における静脈壁外側の温度

Fig. 4-20 に各出力における静脈壁外側に接した熱電対の温度の時間変化を示す。ただし、第 1 ピーク温度点が同時刻になるよう揃えた。すべての熱電対において 2 つのピーク温度を持つ形状の温度変化が計測された。設定出力 7 W において第 1 ピーク温度は $90.9 \pm 5.2^\circ\text{C}$ 、第 2 ピーク温度は $94.8 \pm 3.5^\circ\text{C}$ 、設定出力 10 W において、第 1 ピーク温度は $93.5 \pm 3.2^\circ\text{C}$ 、第 2 ピーク温度は $100.1 \pm 8.5^\circ\text{C}$ であった (Fig. 4-21)。設定出力の増加に伴って両ピーク点の温度が上昇した。

4.4.2.2. 焼灼後の断面の組織学的調査

レーザー照射を行う前のブタ静脈の静脈壁、及び焼灼後の静脈壁の厚さを Fig. 4-22 に示す。焼灼前の静脈壁厚さは平均値 \pm 標準偏差 ($\mu \pm \sigma$) で表すと $390 \pm 90 \mu\text{m}$ 、焼灼後の静脈壁の厚さは出力 7、10 W の時、それぞれ $340 \pm 80 \mu\text{m}$ 、 $340 \pm 70 \mu\text{m}$ であった。焼灼することで径だけでなく厚さの平均値も小さくなったが、*t* 検定を行った際、焼灼前後で *p* 値 < 0.05 を満たす有意差はどの出力でも見られなかった。各照射条件における静脈壁の断面染色画像を Fig. 4-23 に示す。レーザー照射後すべての静脈壁に炭化層はなく、空胞形成層及び凝固層が存在した。出力 7 W では、中膜まで空胞形成が見られ、外膜の全周に渡って凝固層が見られた。出力 10 W では外膜までのすべての範囲に空胞形成が見られた。

4.4.2.3. シミュレーション結果

レーザー照射パワーを7、10 W、ファイバーの牽引速度を1.0 mm/sとした場合の静脈壁外側表面における温度の時間変化を Fig. 4-24 に示す。出力が7 Wにおいて厚さが $\mu - \sigma$ の時のみ両方のピーク点で100°Cを超えた。また、出力が10 Wではすべての厚さにおいて両方のピーク点で100°Cを超えた。

4.4.3. 考察

静脈の断面薄切画像から、焼灼前の静脈壁の厚さはサンプルによって、また位置によっても異なり、さらに焼灼後の静脈壁の厚さはわずかであるが、小さくなることがわかった。そのため、厚さの変化を考慮していない計算機シミュレーションにおいて、距離を統一した単純な温度の比較は、妥当性評価の基準としては不明瞭である。そこで、焼灼前の厚さのばらつきを考慮し、光ファイバー表面から熱電対までの距離、すなわち静脈壁の厚さを $\mu - \sigma$ 、 $\mu + \sigma$ の2つの条件に設定したシミュレーションを行い、算出された2つの温度分布の時間変化と実験によって計測された温度の時間変化を比較することでシミュレーションの妥当性を評価した。Fig. 4-20 に示したように熱電対の温度の時間変化は2つのピークを持ち、かつ2回目のピーク温度の方が高く、そしてピーク間隔がおおよそ6 sであったという点で、シミュレーションと非常に似た形状を示した。シミュレーションで算出された各ピーク温度と温度計測実験で計測した熱電対の各ピーク温度の関係を Fig. 4-25 に示す。レーザーの出力が7 Wの時、実験値は2つのシミュレーション値の厚さを考慮した温度範囲内に収まった。一方、出力が10 Wの時は実験値に比べ、シミュレーション値は13°C以上の高い温度を示した。出力の変化率に対して実測した温度の増加率が低かったこと、及び増加率が鈍化した温度が100°C付近であったことから、このシミュレーションの温度の過大評価の要因は、温度上昇に使われるはずのエネルギーが静脈壁内部の水分の空胞形成に消費されたこと、すなわち気相変化に要する潜熱であると考えられた。そのため、100°Cを超えない範囲のシミュレーションは実環境を非常に良く模擬できており、100°Cを超えると潜熱の分だけ温度が過大評価されると考えられた。しかし、温度の時間変化のグラフ形状、及び温度の範囲は計測値と算出値で似た値を示しており、生体組織におけるレーザー光の光伝搬と熱伝導現象が他の現象に比べ支配的だと考えられた。このため、本シミュレーションの結果には実測値と比べてある程度の妥当性があると考えられた。

また、EVLA 非臨床照射実験後の断面観察画像から静脈壁内部に空胞形成、及び凝固の熱影響が生じていることが明らかとなった。これら熱影響と温度の関係は一定の相関があるとして多くの文献で報告がなれている^[12-17]。人間の細胞は加温条件によって異なるものの43°C程度から不可逆的に変性することが分かっており、加熱温度が上がるにつれて変性に要する時間が指数関数的に減少する。例えば Moritz らのブタの皮膚を用いた実験^[14]では、44°Cでは6時間程度、50°Cでは4分程度、60°Cでは5秒程度、70°Cではごくわずかな時間で表皮の不可逆的な損傷を引き起こすことが報告されている。また、報告によって各熱影響が発生する温度に少しの差がみられるものの、炭化は200~300°C、空胞形成は水の沸点である100°C付近、凝固は70°C以上の温度で発生すると報告されている。そのため、それらの相関関係から、今回の実験で組織内部に空胞形

成層が存在したということは、その層を含む内側は 100℃以上であった可能性がある。Fig. 4-24 の静脈壁外側の温度のシミュレーションにおいて出力が 7 W のときは厚さが $\mu\text{-}\sigma$ の時のみ 100℃を超え、出力が 10 W の時はすべての厚さで 100℃を超えた。この結果は Fig. 4-23 に示す通り、断面の熱影響層の状態と高い相関のある関係となり、実測温度とシミュレーション算出温度の比較と熱影響層とシミュレーションの比較の両方の評価で一定の妥当性を確認できた。

4.5. 結論

EVLA における血管内の温度を推定するために生体組織光学に基づいてレーザー照射後の血管内温度分布を推定する計算機シミュレーションモデルを開発することを目的とした。

光・熱伝搬シミュレーションモデルを用いた血管内温度分布の解析に必要な光ファイバーから出射されるレーザーのビーム半径、及び各位置で照射されるレーザー光のエネルギーのパラメータをビームプロファイル測定実験、及び光出射比率測定を行うことにより取得した。

さらに、開発したシミュレーションモデルの妥当性を評価するために、波長 1470 nm の半導体レーザーとラディアル 2 リングファイバーを組み合わせた血管内レーザー焼灼術の臨床環境を模擬した非臨床照射系を用いて静脈壁外側表面の温度を計測し、シミュレーション結果と比較することでシミュレーションの妥当性を評価した。

結果、100°Cを超える領域では潜熱の影響によりシミュレーションは過大評価されてしまうものの、100°Cを超えない領域ではシミュレーションは計測値に非常によく一致した。今後は必要に応じてシミュレーションの精度を高めていくことで新たな照射用ファイバーやレーザー光源の設計、そして臨床での治療計画において、より有用なものになると考えられた。

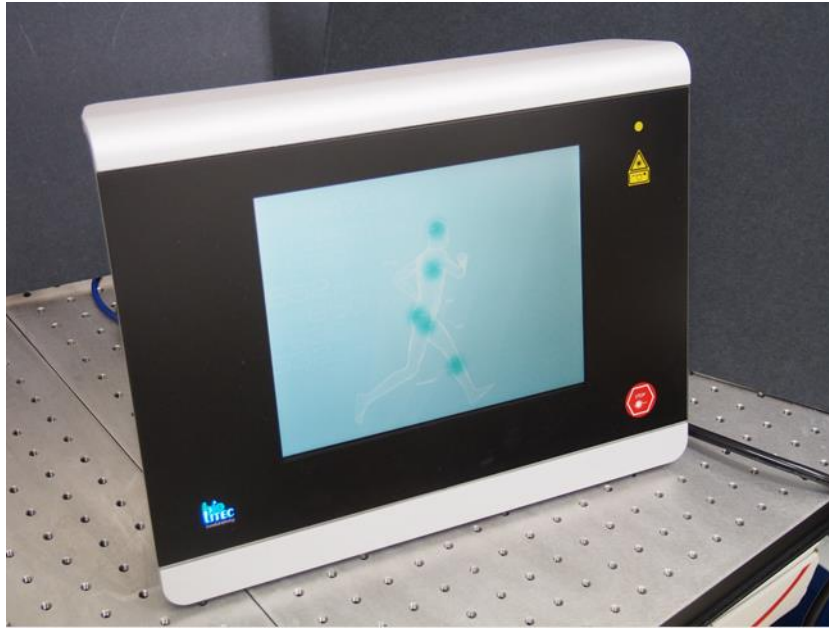


Fig. 4-1 Photograph of the laser diode (LEONARDO® 1470) used in this research.

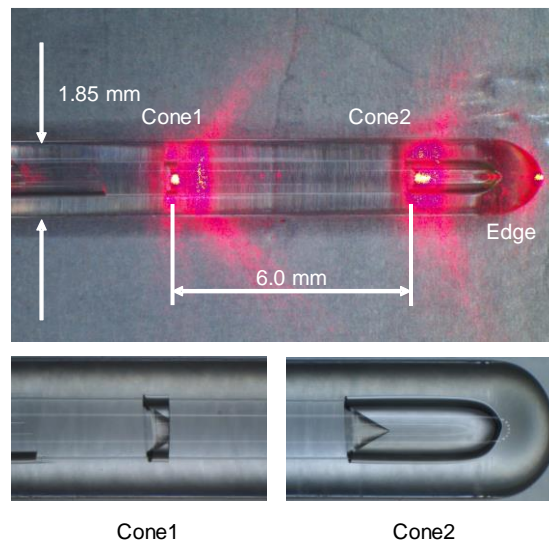


Fig. 4-2 Photomicrographs of the tip of the ELVeS Radial 2ring™ fiber.
The red light is the guide laser at a wavelength of 635 nm.

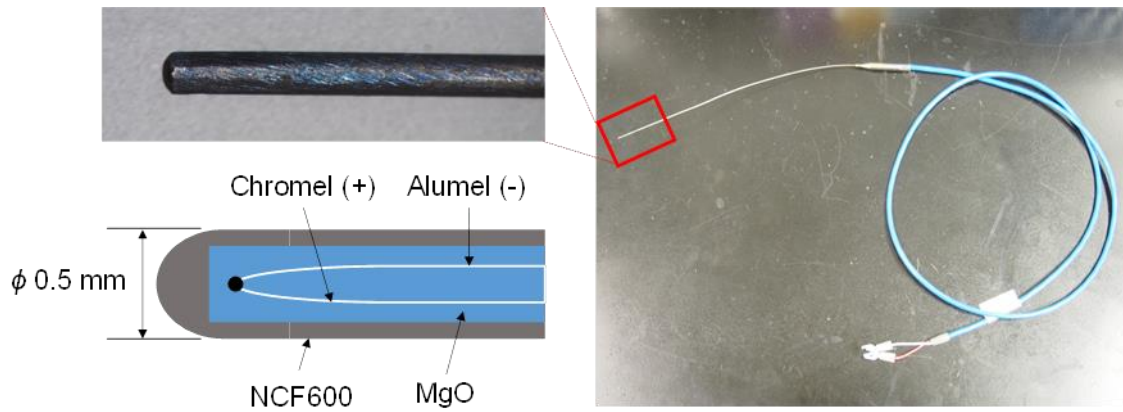


Fig. 4-3 Photographs of the thermocouple.

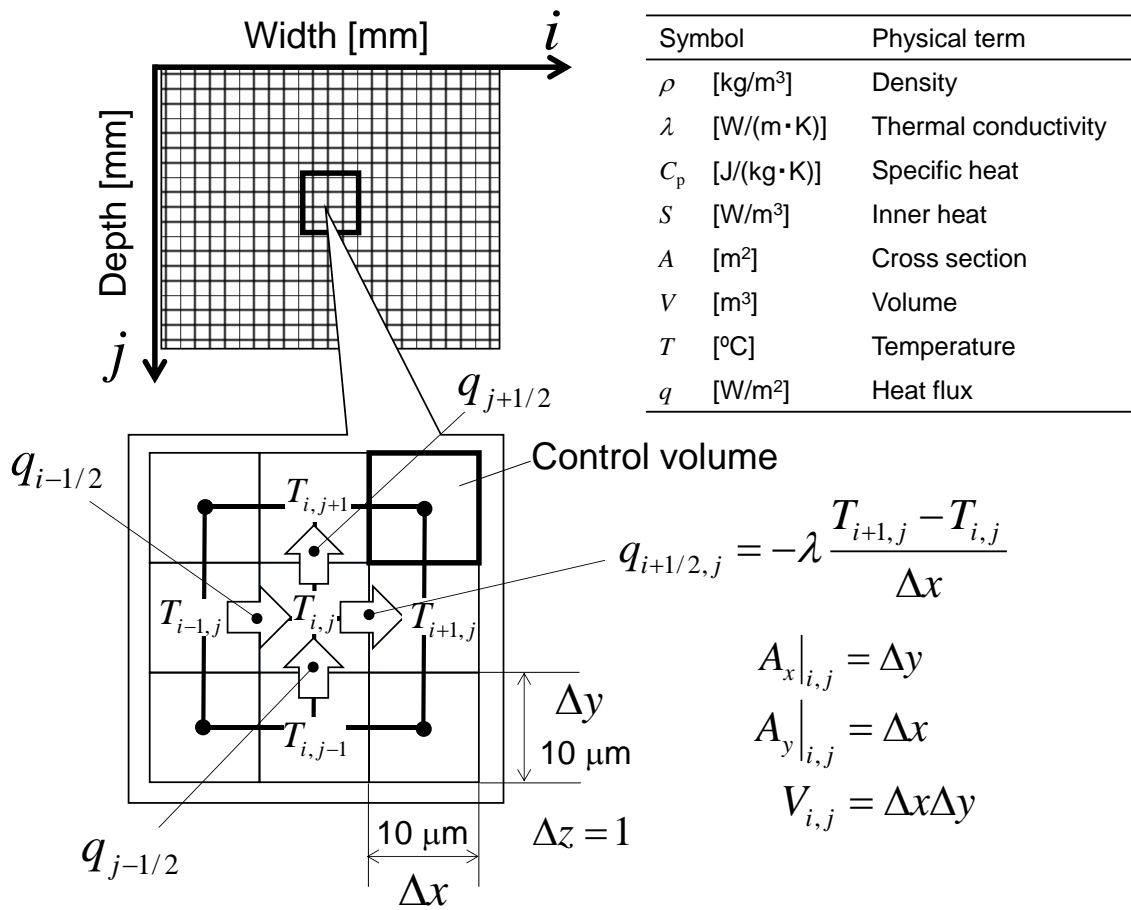


Fig. 4-4 Schematic of the discretization of the two-dimensional unsteady heat conductivity equation and of numerical analysis in order to calculate the two dimensional temperature distribution.

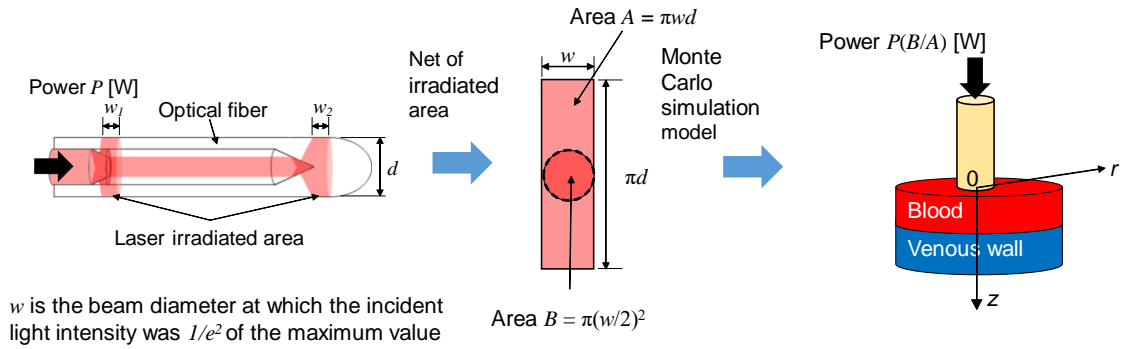


Fig. 4-5 Schematic of calculation of laser power used as input for the Monte Carlo simulation of light propagation (left and center) and the tissue model used in the simulation (right).

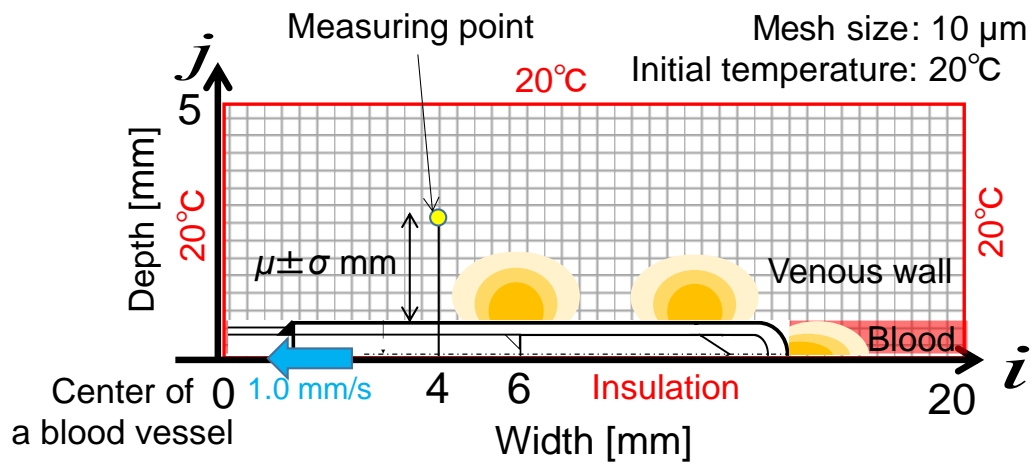


Fig. 4-6 Schematic of the computer simulation model to estimate the temperature distribution by solving the heat transfer equation.

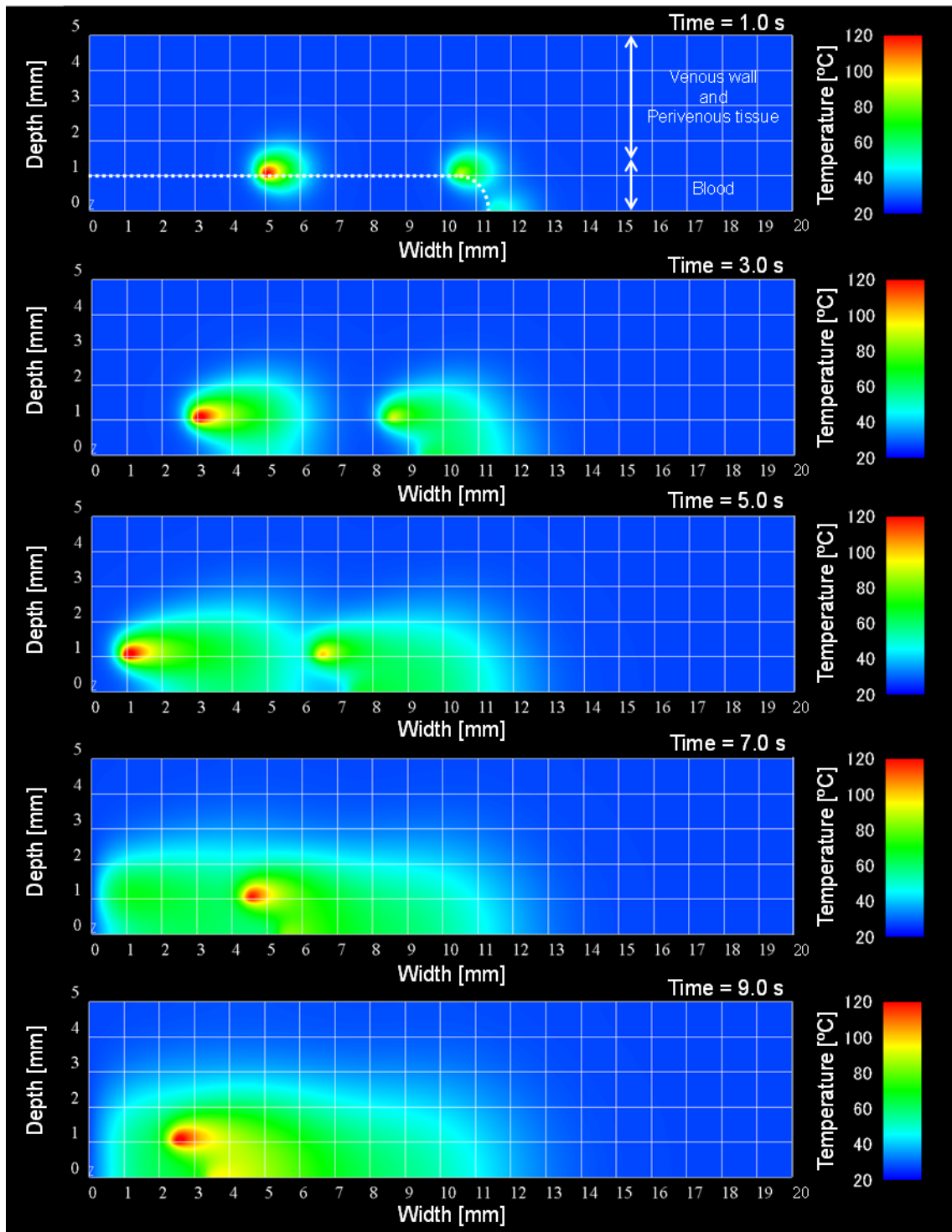


Fig. 4-7 Temporal variation of temperature distribution in simulation model of EVLA using the Radial 2ring Fiber.

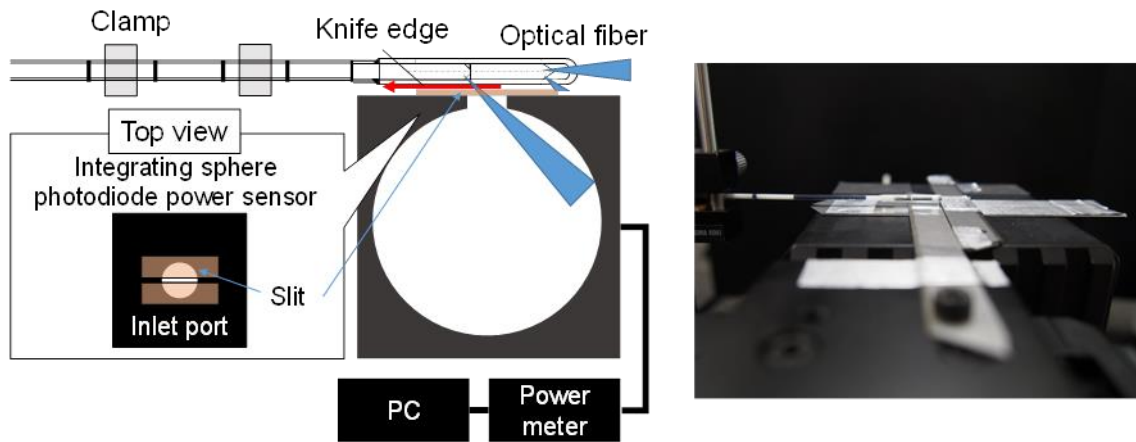


Fig. 4-8 Schematic of optical setup for the measurement of the distribution of laser power in the major axis of optical fiber (left), and photograph of experimental setup (right).

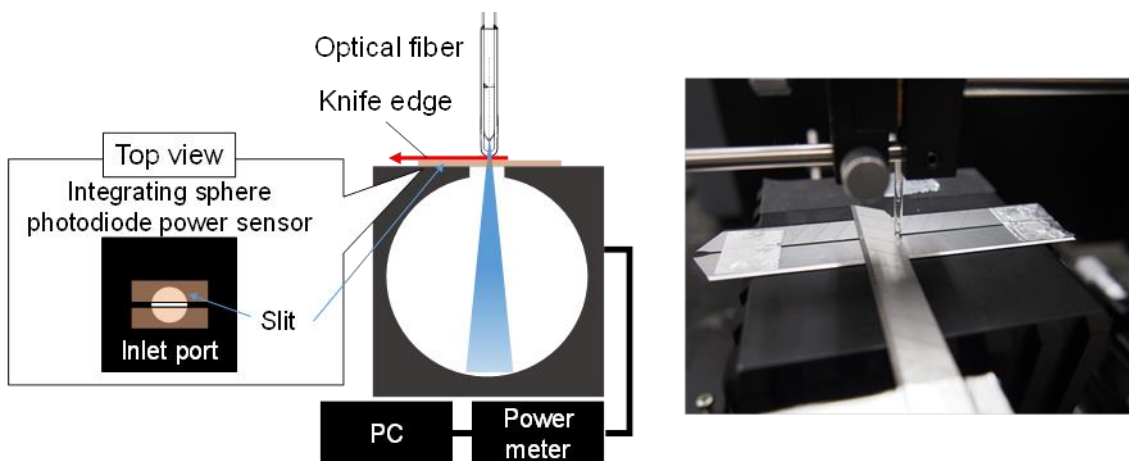


Fig. 4-9 Schematic of optical setup for the measurement of the distribution of laser power in the minor axis of optical fiber (left), and photograph of experimental setup (right).

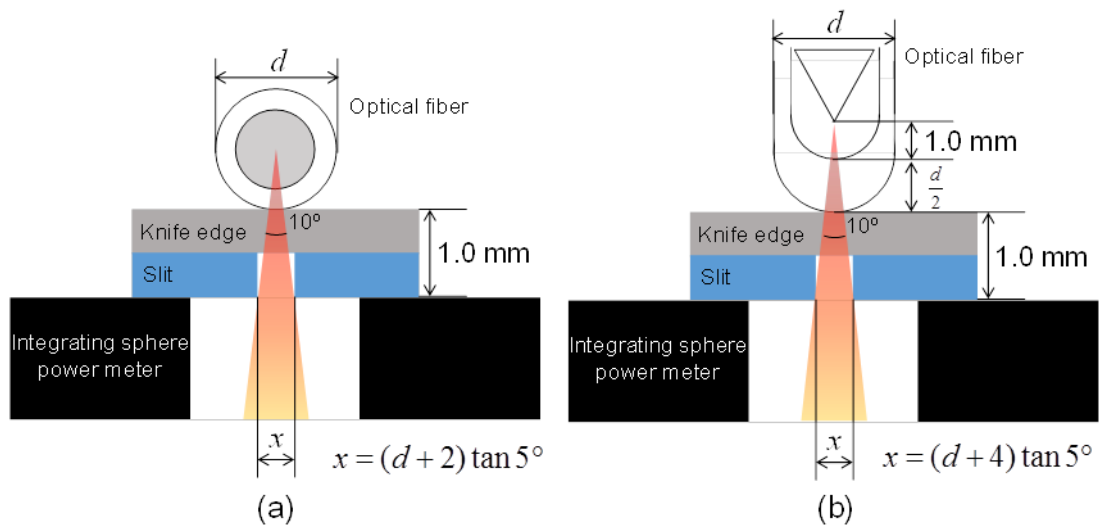


Fig. 4-10 Schematic of the power meter slit for (a) major axis and (b) minor axis.

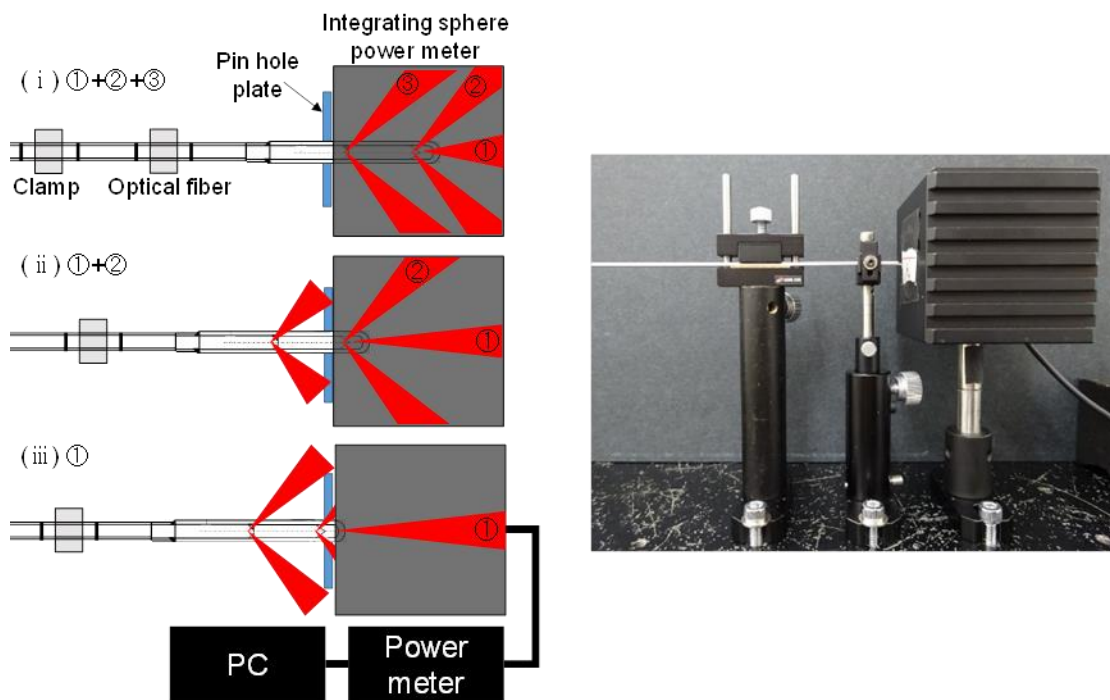


Fig. 4-11 Schematic for the measurement of the emission ratio of light emitted by each cone, and photograph of experimental setup (right).

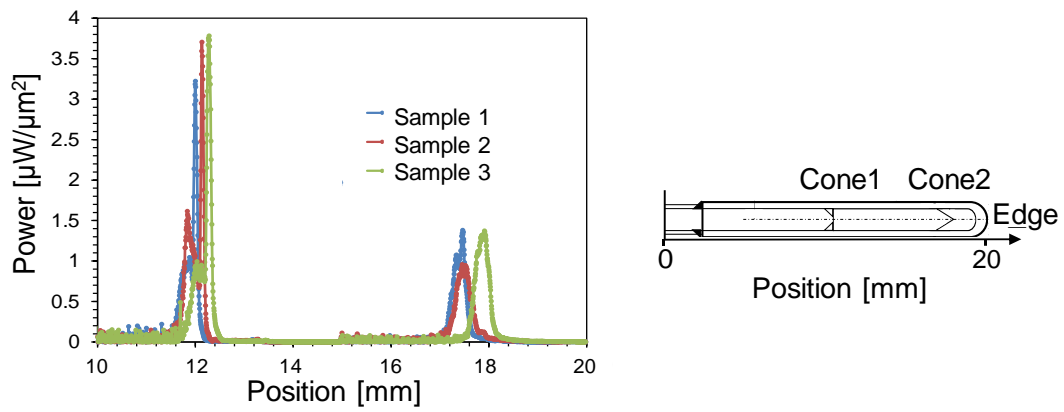


Fig. 4-12 Profiles of the laser power density on the surface of the fiber along the central axis, measured by scanning the slit in front of the power meter.

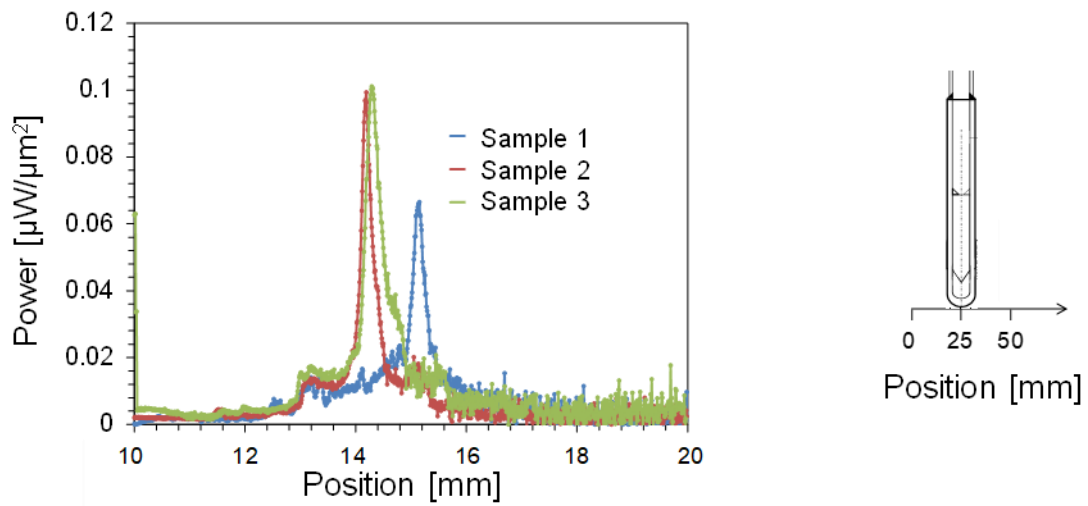


Fig. 4-13 Profiles of the laser power density on the surface of the fiber along the minor axis, measured by scanning the slit in front of the power meter.

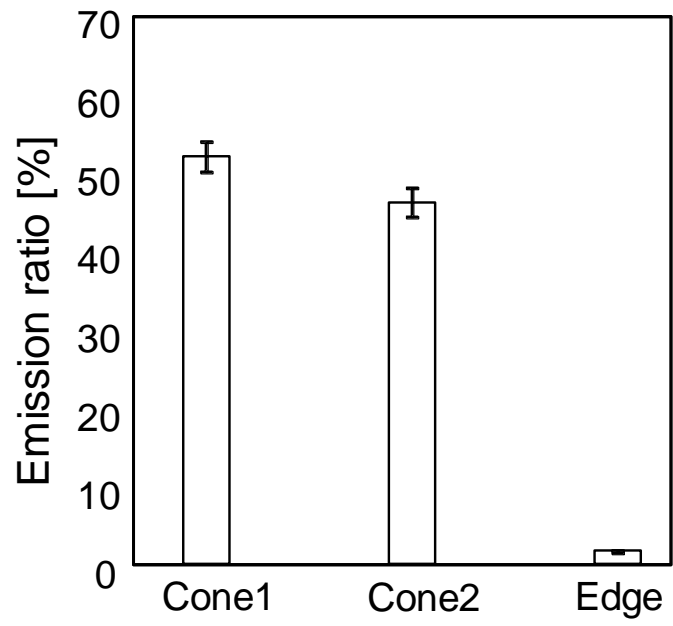


Fig. 4-14 Output ratio of the light emitted by a fiber.

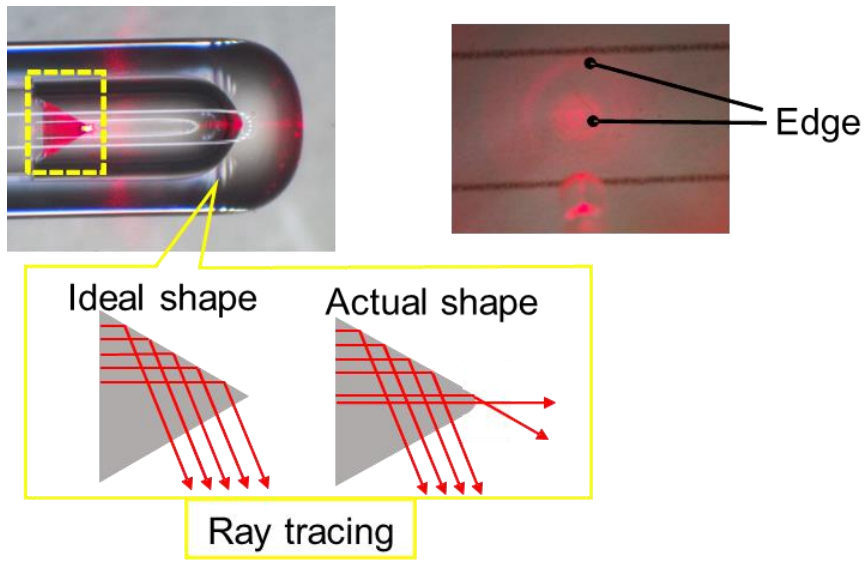


Fig. 4-15 Ray tracing at the Cone2 in optical fiber (left), and the projection of guide light (635 nm) irradiated from a fiber.

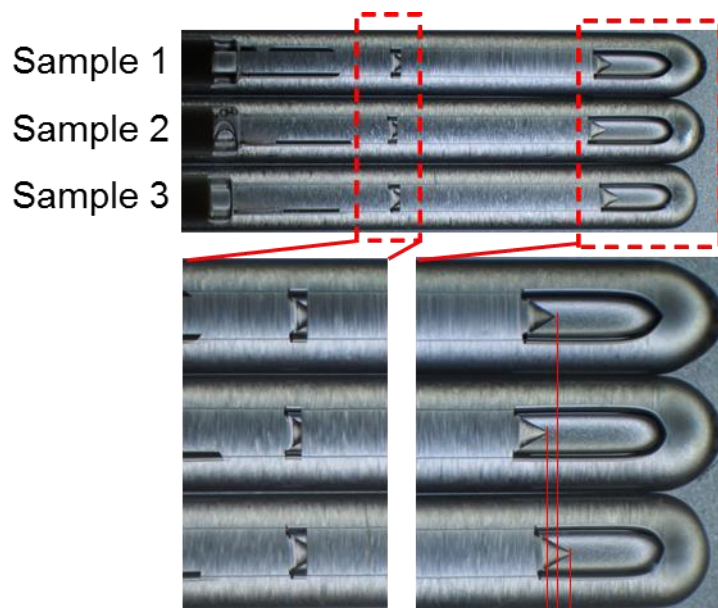


Fig. 4-16 The stereo microscopic images of fibers.

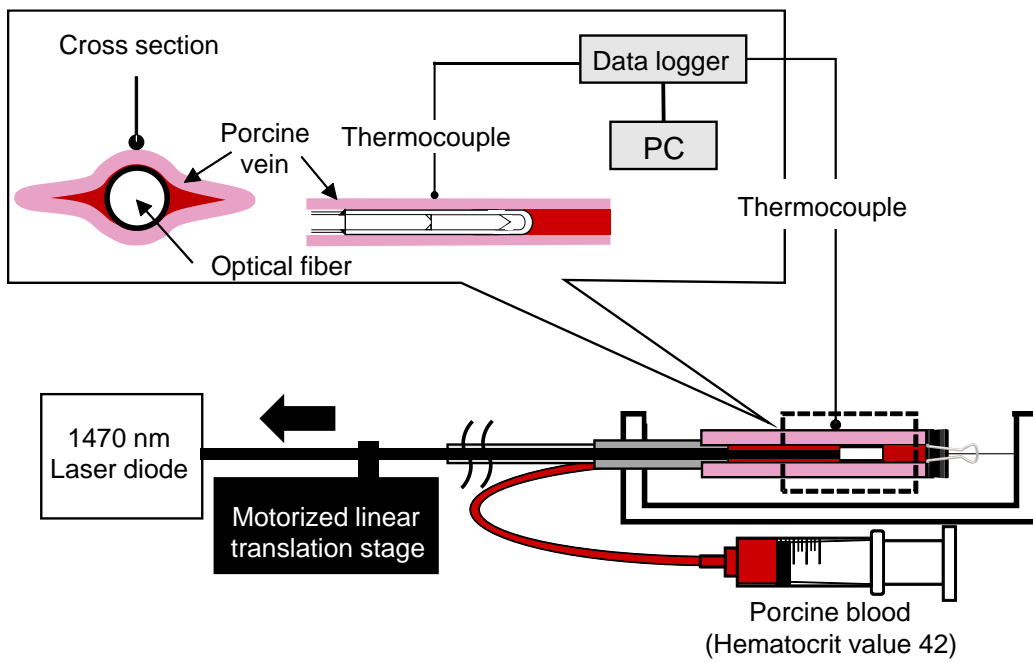


Fig. 4-17 Schematic of the *ex vivo* experimental setup for measuring the temperature of the porcine vein.

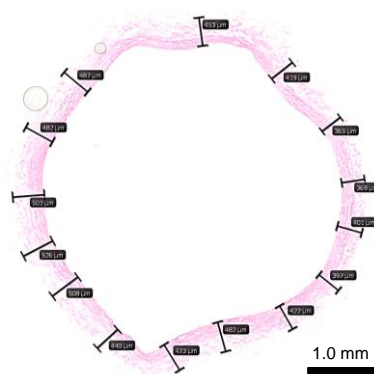


Fig. 4-18 Photomicrograph of HE stained cross section of normal porcine vein. Thickness of normal veins and ones after irradiation at 7 W and 10 W was calculated by measuring thickness at fifteen positions and averaging them.

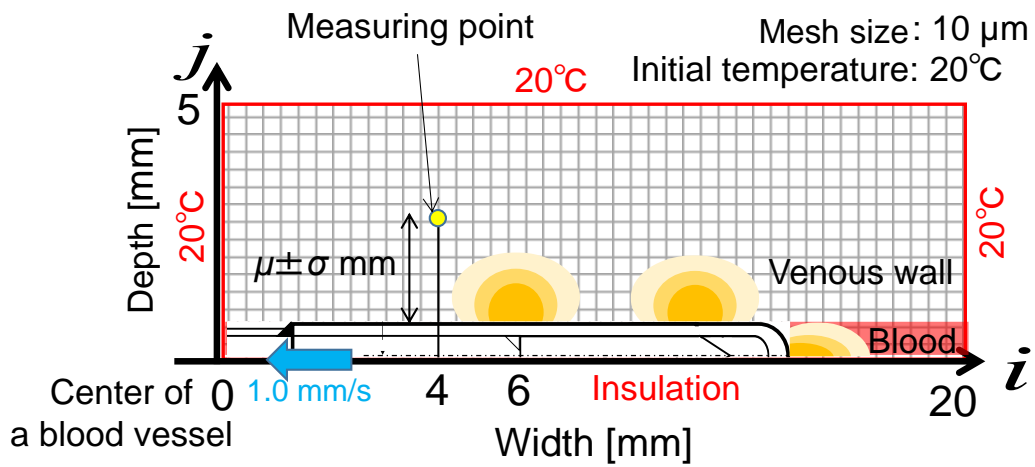


Fig. 4-19 Schematic of the computer simulation model to estimate the temperature distribution by solving the heat transfer equation.

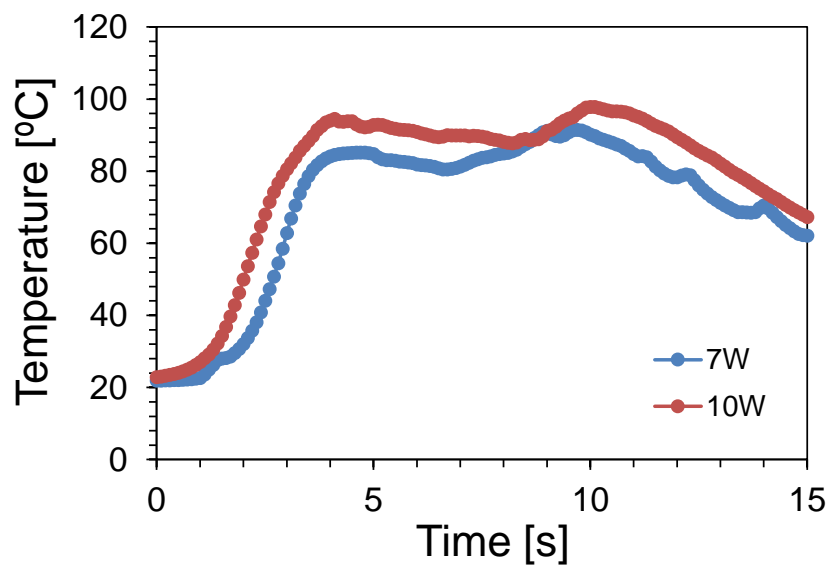


Fig. 4-20 Temporal variation of temperature at the measuring point by the thermocouple set at the outer surface of the porcine vein at the irradiation powers of 7 W and 10 W.

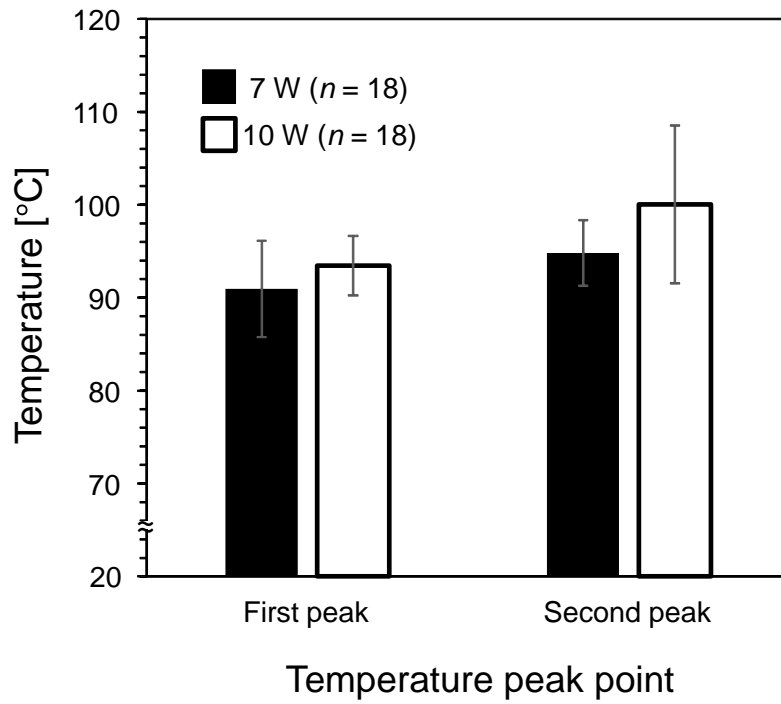


Fig. 4-21 Peak temperatures measured with the thermocouple at output powers of 7 and 10 W.

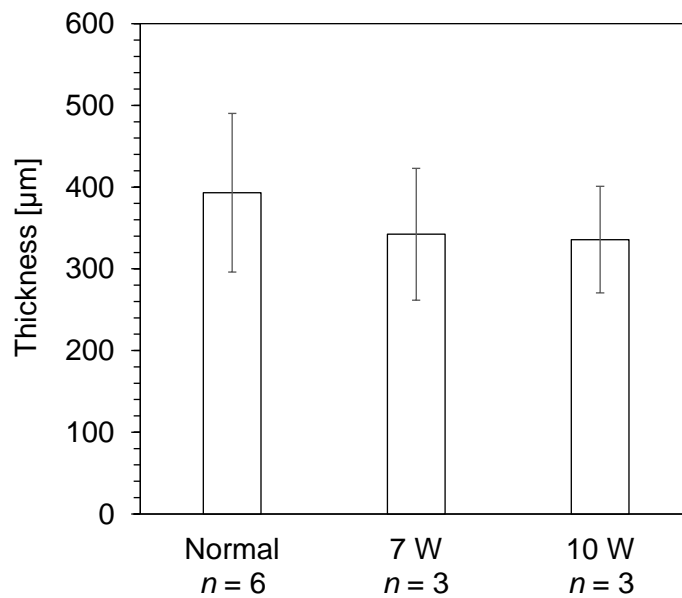


Fig. 4-22 Variation of thickness of porcine vein wall before and after laser irradiation.

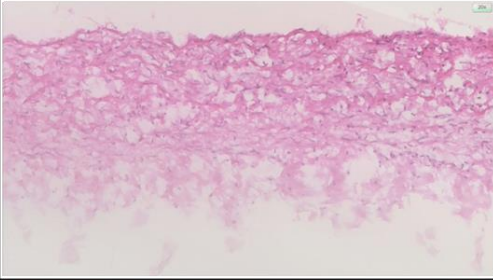
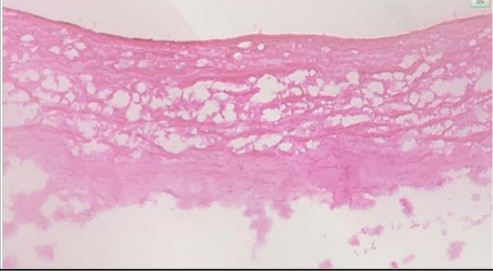
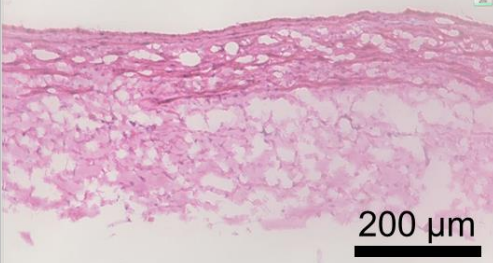
		Cross sectional image	Rate of sticking
Power (LEED)	Normal		
	7 W (70 J/cm)		0/3
	10 W (100 J/cm)		2/3

Fig. 4-23 Histological changes in porcine venous wall after laser irradiation. “Sticking” refers to cases in which the shrunken vein stuck to the optical fiber.

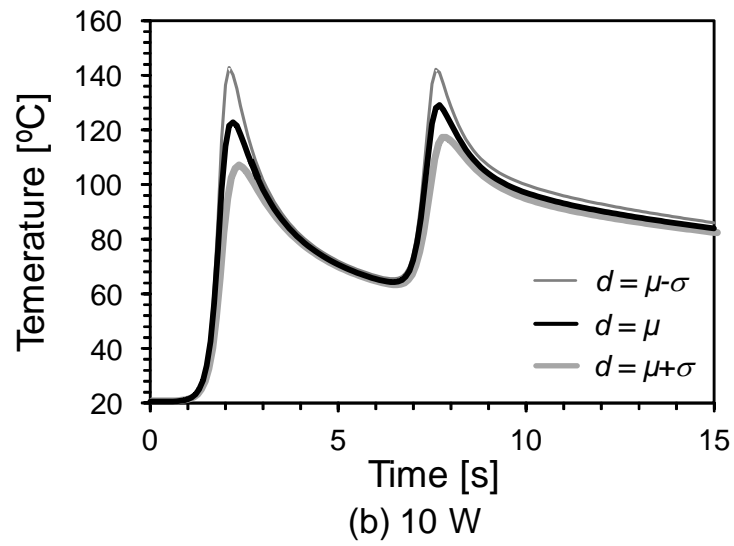
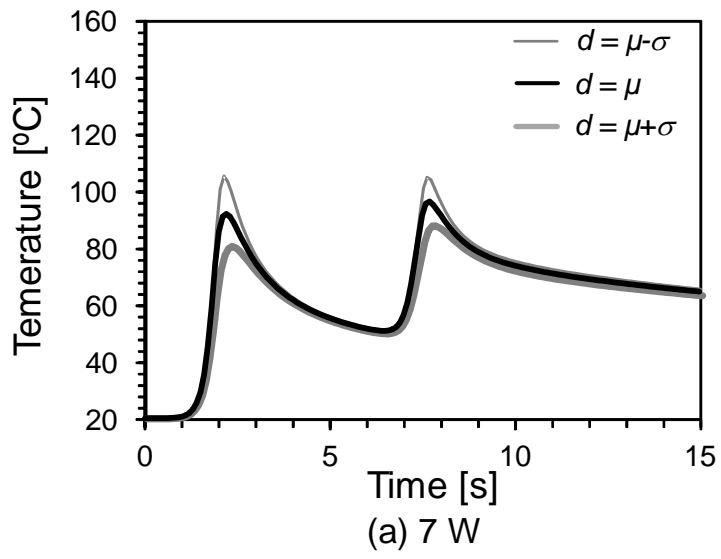


Fig. 4-24 Time courses in temperature on the outer surface of the venous wall at output power of (a) 7 W and (b) 10 W. Measurement points were set to the thickness of normal venous wall, $d = \mu \pm \sigma$ (mean \pm standard deviation).

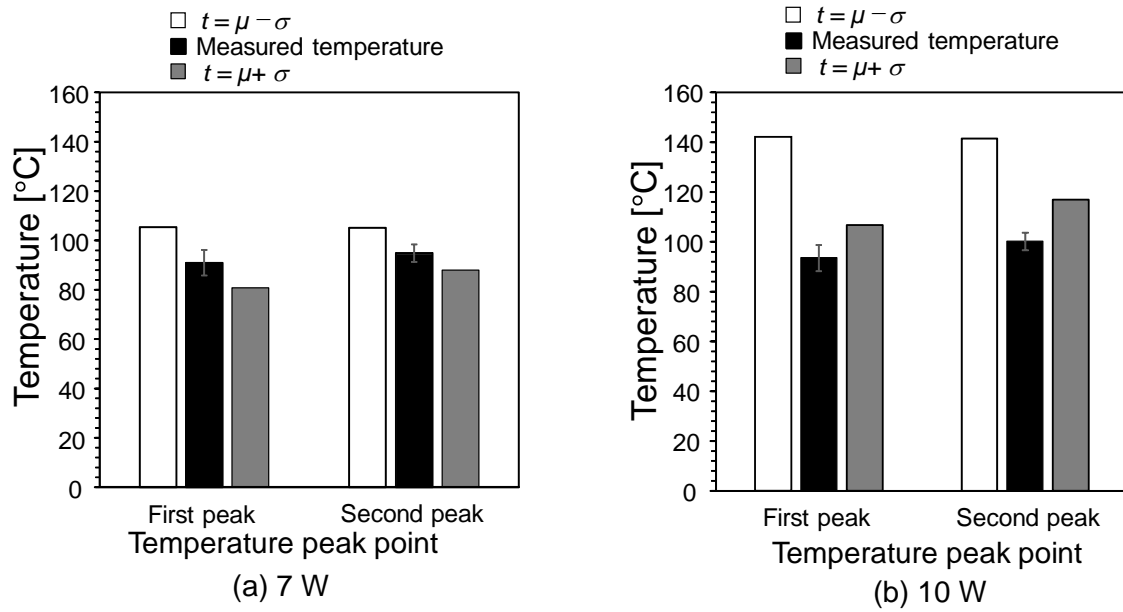


Fig. 4-25 Relationships between calculated and measured peak temperatures for Cone1 and Cone2 at output powers of (a) 7 W and (b) 10 W.

Table 4-1 Specifications of the laser diode used in this reserch.

Specs	Values
Wavelength	1470±30, 635±10 nm (Aiming beam)
Power range	2–15 W
Wave form	Continuous wave
Dimension	370(Width) × 85(Depth) × 275(Height) mm
Weight	8.5 kg
Laser class	Class 4

Table 4-2 Specifications of the thermocouple.

Specs	Values
Thermocouple type	K
Material	Positive Chromel
	Negative Alumel
Measurement accuracy (<i>T</i> : temperature)	±1.5% (-40 ≤ <i>T</i> < 350°C) ±0.004· <i>T</i> % (350 ≤ <i>T</i> < 1000°C)
Time constant	14 ms
Temperature range	-40–1000°C

Table 4-3 Optical properties at a wavelength of 1470 nm and thermal properties used in the simulation, taking account of light and heat propagation.

Physical term	Symbol	Blood	Venous wall	Reference
Refractive index	<i>n</i> [-]	1.38	1.38	[4-6]
Absorption coefficient	μ_a [cm ⁻¹]	18.3	18.2	[7]
Scattering coefficient	μ_s [cm ⁻¹]	176	151	[7]
Anisotropy factor	<i>g</i> [-]	0.9	0.9	[4, 5]
Density	ρ [kg/m ³]	1050	1050	[7]
Thermal conductivity	λ [W/(m·K)]	0.56	0.56	[7]
Specific heat	C_p [J/(kg·K)]	3820	3780	[7]

Table 4-4 Beam diameter of each irradiation point at the surface of fiber.

Beam diameter [mm]		
Corn1	Corn2	Edge
0.450	0.542	0.806

Table 4-5 Power of each irradiation point of a fiber, and total power was distributed to each irradiation point in proportion to the measured emitting ratio.

Power [W]						
Total	Cone1		Cone2		Edge	
7.0	3.65	(52.1%)	3.23	(46.2%)	0.12	(1.7%)
10.0	5.21		4.62		0.17	

参考文献

- [1] Oregon Medical Laser Center: Monte Carlo simulations (Accessed Oct 23, 2018), <https://omlc.org/software/mc/mcml/index.html>
- [2] L. Wang, S. L. Jacques, L. Zheng: MCML – Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues. *Comput. Methods Programs Biomed*, 47: 131-146, 1995.
- [3] L. Wang, S. L. Jacques, L. Zheng: CONV – convolution for responses to a finite diameter photon beam incident on multi-layered tissues. *Comput. Methods Programs Biomed*, 54, 141-150, 1997.
- [4] R. J. Hinchliffe, J. Ubhi, A. Beech, J. Ellison, B. D. Braithwaite: A prospective randomized controlled trial of VNUS closure versus surgery for the treatment of recurrent long saphenous varicose veins. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, 31, 212-218, 2006.
- [5] T. Rautio, A. Ohinmaa, J. Perälä, P. Ohtonen, T. Heikkinen, H. Wiik, P. Karjalainen, K. Haukipuro, T. Juvonen: Endovenous obliteration versus conventional stripping operation in the treatment of primary varicose veins: a randomized controlled trial with comparison of the costs. *J. Vasc. Surg.*, 35, 958-965, 2002.
- [6] F. Lurie, D. Creton, B. Eklof, L. S. Kabnick, R. L. Kistner, O. Pichot, S. Schuller-Petrovic, C. Sessa: Prospective randomized study of endovenous radiofrequency obliteration (closure procedure) versus ligation and stripping in a selected patient population (EVOLVEs Study). *J. Vasc. Surg.*, 38, 207-214, 2003.
- [7] F. Lurie, D. Creton, B. Eklof, L. S. Kabnick, R. L. Kistner, O. Pichot, C. Sessa, S. Schuller-Petrovic: Prospective randomized study of endovenous radiofrequency obliteration (closure) versus ligation and vein stripping (EVOLVEs): two-year follow-up. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, 29, 67-73, 2005. 桑木智之, 黒澤美枝子, 高橋研一, 細谷安彦: トートラ 人体の構造と機能 第3版. 丸善, 2010.
- [8] V. V. Tuchin, “1.6.2 Refractive-index variations of tissue,” in *Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis* (second edition), 104-106, SPIE, Bellingham, Washington, USA, 2007.
- [9] V. V. Tuchin, “1.8.2 Concepts of phantom construction,” in *Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis* (second edition), 132-137, SPIE, Bellingham, Washington, USA, 2007.
- [10] シグマ光機株式会社総合カタログ 01 初版, B329, 2014.
- [11] Suhas V. Patankar 原著. 水谷幸夫, 香月正司 共訳: コンピュータによる熱移動と流れの数値解析, 森北出版株式会社, 1999
- [12] Welch, Ashley J., van Gemert, Martin JC, “13. Thermal Damage and Rate Processes in Biologic Tissues,” in *Optical-Thermal Response of Laser-Irradiated Tissue*, 496-499, Springer, 2011.
- [13] M. E. Vuylsteke, S. R. Mordon: Endovenous laser ablation: a review of mechanisms of action. *Ann. Vasc. Surg.*, 26: 424-433, 2012.

- [14] Moritz AR, Henriques FC: Studies of Thermal Injury: II. The Relative Importance of Time and Surface Temperature in the Causation of Cutaneous Burns. *Am J Pathol*; 23: 695-720, 1947.
- [15] Yamamoto T, Sakata M: Influence of fibers and wavelengths on the mechanism of action of endovenous laser ablation. *J. Vasc. Surg Venous and Lymphatic Disorders.*, 2, 61-69, 2014
- [16] C-M Fan, R Rox-Anderson: Endovenous laser ablation: mechanism of action. *Phlebology*; 23: 206-213, 2008.
- [17] M.E. Vuylsteke, Th. Martinelli, J. Van Dorpe, J. Roelens, S. Mordon, I. Fourneau: Endovenous Laser Ablation: The Role of Intraluminal Blood. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, 03: 017, 2011.

5 結論

総括

本研究の目的は、生体組織光学に基づいて、血管内レーザー治療を評価することであり、独自に構築した非臨床照射実験系を用いて、対象疾患である下肢静脈瘤に対する血管内レーザー治療の有効性と安全性について定量的に評価し、血管内レーザー治療のレギュラトリーサイエンスを確立させた。

第2章では、生体組織内での光の吸収や散乱の特性を定量的に把握するために、双積分球光学系を用いて、サンプルの拡散反射率 R_d と総透過率 T_t を測定し、逆モンテカルロ法を用いて、吸収係数 μ_a 、換算散乱係数 μ_s' 、光侵達度 δ を算出した。ヒト静脈の波長 1470 nm における μ_a は、波長 980 nm より 7 倍大きかったという結果から、波長 1470 nm の方が光エネルギーが効率よく静脈組織に吸収されると考えられ、本波長のレーザーを使用することで治療の有効性が高まる可能性が示唆された。波長 1470 nm における δ は、波長 980 nm の 5 分の 1 程度と小さく、さらにヒト静脈の厚み 0.8 mm よりも小さいために、周辺組織への熱変性の影響が 980 nm より小さく抑えられると考えられる。以上より、波長 1470 nm の方が 980 nm よりも光エネルギーの侵達が浅く、熱変性の影響を限局させ、治療の安全性が向上できる可能性が示唆された。

第3章では、臨床試験を模擬した非臨床試験を行うことで、レーザー照射方式・条件の違いによる有効性、及び安全性の比較を行った。980 nm 及び 1470 nm の 2 波長のレーザー装置と、従来の光ファイバーであるベアファイバー (BF)、海外で使用されているラジアルファイバー (RF)、及び 2 リングファイバー (2RF) の 3 種において照射実験を行った。独自に構築した非臨床照射系を構築して *ex vivo* 照射実験を行い、レーザーと生体組織との相互作用の定量的な評価を行った。その結果、波長 1470 nm の方が、波長 980 nm より小さい平均パワー密度及び平均エネルギー密度で収縮を誘起できた。さらに、波長 1470 nm の方が、穿孔の起きる平均エネルギー密度が大きかった。また、両波長とも小さい平均エネルギー密度で長時間照射を行った方が、穿孔を起こさずに収縮を誘起できた。次に、及び照射方式の違いによる有効性、及び安全性の比較に加え、臨床試験では評価できない苛酷試験も実施し、照射方式の違いによる安全性の評価を行った。その結果、980 nm + BF が臨床において有害事象を引き起こす原因として、有効性と安全性が両立する照射条件がないということが明らかになった。1470 nm + RF では、有効性及び安全性が両立する照射条件が限定されるため、照射条件の選定が重要であることが明らかになった。1470 nm + 2RF は、有効性と安全性が両立する照射条件を有し、長期的な血管の閉塞に有効で、かつ穿孔のリスクを減らし、安全性が高いことが明らかとなった。また、EVLA の治療時間を短縮でき、効率の良い照射条件であることが示された。以上の結果から、波長 1470 nm レーザー及び 2 リングファイバーの組み合わせが最も安全性と有効性が高い可能性が示唆された。

第4章では、血管内温度を推定するために生体組織光学に基づいてレーザー照射中の血管内温度分布を推定する計算機シミュレーションモデルを評価した。シミュレーションモ

デル構築により、短期間で定量的かつ再現性の高い解析が可能となる。まず、光ファイバーから出射されるレーザーのビーム半径、及び各位置で照射されるレーザー光のエネルギーのパラメータをビームプロファイル測定実験、及び光出射比率測定を行うことにより取得した。次に、開発した光・熱伝搬シミュレーションモデルの妥当性を評価するために、波長 1470 nm の半導体レーザーとラジアル 2 リングファイバーを組み合わせた血管内レーザー焼灼術の臨床環境を模擬した非臨床照射系を用いて静脈壁外側表面の温度を計測し、シミュレーション結果と比較することでシミュレーションの妥当性を評価した。その結果、100°Cを超える領域では潜熱の影響によりシミュレーションは過大評価されてしまうものの、100°Cを超えない領域ではシミュレーションは計測値に非常によく一致した。今後は必要に応じてシミュレーションの精度を高めていくことで新たな照射用ファイバーやレーザー光源の設計、そして臨床での治療計画において、より有用なものになると考えられた。

医療機器認可に対する非臨床実験の重要性

医療機器の特性の評価において、医薬品と大きく異なるのは、医療機器は術者の使用経験の違いが治療効果に大きく影響するという点である。EVLA において、波長 980 nm レーザーを使用した場合、術後の皮下出血が発生する確率は、11~100%と術者によって大きく違う^[1-3]。波長 980 nm のレーザー、及び照射パワー11~12 W と、ほぼ同じ条件にて照射した場合でも、EVLA の血管閉塞率は、88~100%^[4-6]とばらつきがあった。そのため、臨床で使用した際に医療過誤が発生した場合、その責任の所在が術者なのか、機器なのか問題になることがある。術者の経験に依存しない非臨床試験ならば、未知の危険を予測可能であり、後に発生した医療過誤の原因を特定できることも利点である。本研究では、静脈組織を照射系に固定し、ファイバーの引き抜き速度をコントローラーで制御しているため、実験者の手技には依存しない結果であるといえる。算出した収縮率の結果は、装置、及びファイバーの違いのみの結果を示している。そのため、臨床中に起きた医療過誤の判断材料として後に用いることも可能である。例えば、術者 A が波長 980 nm レーザー、及びベアファイバーの組み合わせを使用し、9 W にて EVLA を行った場合、十分な血管閉塞を得られなかったと仮定する。今回の結果から推察すると、引き抜き速度 1 mm/s では、40%程度の十分な収縮率が得られるが、引き抜き速度 2 mm/s では 30%と収縮率の値が小さいため、術者 A のファイバーの引き抜き速度が速すぎたことが一因として考えられる。また、術者 B は経験豊富で、1 mm/s での引き抜きに慣れていると仮定する。波長 1470 nm レーザーとラジアルファイバーを使用し、パワー9 W にて照射を行ったが、組織とファイバーの付着が起これ、うまく引き抜けなかった。この場合は、非臨床実験にて付着が観察されなかった 2 リングファイバーを使用することで、付着なく、十分な組織の収縮を誘起できると考えられる。また、術者本人にも一定のラーニングカーブが必要であり、トレーニング方法の確立が急務である^[7]。臨床を模擬した照射系を医師のトレーニング用装置として使用することで、治療の質を一定に整えることも期待できる。装置として作成が難しい場合には、シミュレーターを作成するこ

とが考えられるが、実際の治療から得られる感触までを再現するには費用がかかることが問題である。さらに、大量なデータを迅速に統計学的処理する技術やコストが必要となる。本研究にて作成したシミュレーションソフトを、術者に使用してもらい、治療中の血管内温度の把握のために使用することも一案である。

本研究では、安全性の評価において、組織の穿孔の確率を算出した。現行の EVLA では、治療中の静脈組織の穿孔は避けられない^[7]という認識が強い。穿孔を恐れて低いエネルギーにて照射を行うと、再疎通の確率が高くなる^[8]との報告があったためである。高いエネルギーで照射を行うことで術後の皮下出血や疼痛をもたらし、患者の QOL を下げる結果となっていた。今回の結果では、波長 980 nm とベアファイバーの組み合わせを使用した場合、組織の収縮を最優先し、引き抜き速度 1 mm/s、照射パワー 11.8 W にて照射すると、穿孔が 80% の確率で起こり、有効性と安全性が両立しない。また、波長 1470 nm、及びラジアルファイバーを使用し、照射パワー 8.9、11.8 W にて照射した場合、組織への付着は 40、60% の確率で起こるが、2 リングファイバーは付着が観察されなかった。組織への付着が起きてから、穿孔が起きるまでは最短 12 s であることが今回の苛酷試験の結果から得られた。組織の同一部位に 12 s 間照射することは臨床では起きないため、付着が穿孔をもたらすとは言えないが、一旦付着すると、組織の同一部位にエネルギーが集中する。EVLA に求められるのは、全周、全長にわたる組織の変性であるため、組織の付着は起こすべきでない。以上より、治療のリスクを非臨床試験の結果から予想することができた。

本研究では、非臨床実験を行うことで、治療で使用するに値する照射条件の範囲を定めることができた。前述のように、波長 980 nm、及びベアファイバーの場合、有効性と安全性は両立する照射条件がないこと、波長 1470 nm、及びラジアルファイバーの組み合わせでは、照射条件が限定されること、2 リングファイバーを使用すると、引き抜き速度 2 mm/s では、照射パワー 4.8 W 以下では有効性が担保されないといった制限はあるが、引き抜き速度 1 mm/s で使用する際には有効性、及び安全性が担保された。これは、サンプルがヒト摘出組織であり、治療を模擬しやすかったことが一因として挙げられる。ただ、非臨床実験を他のレーザー治療に対し一般化を行うには、精巧なサンプルが鍵を握っていると言える。サンプルが精密に模擬できていれば、本研究のように、照射効果の違いはレーザー装置、及びファイバーの違いにあると考えることが可能になる。よって、光学的、物理的に生体を模擬したサンプルがレーザー治療の発展に欠かせない。一般的に非臨床試験では、対象として動物やヒトの摘出組織を使用することになる。動物サンプルを考える場合、現在日本で倫理的な問題が指摘されており、将来使用できなくなる可能性が高い。また、大量なサンプル数が必要となるため、その代替法として、生体模擬ファントム等の開発が必要となる。また、そのサンプルの特性も組織によって違う。EVLA の場合、組織の治療マーカーとして、組織の収縮を挙げているため、生体模擬ファントムを使う場合は、収縮性のあるファントムを作成する必要があると考えられる。EVLA はレーザー照射の前に、静脈周囲に麻酔液の注入を行う。この効果より、静脈の攣縮が誘起されることで血管径が小さくなる。また、麻酔液がヒート

シンクの役割を果たすことで、周囲組織への熱影響を減らす^[9]。非臨床試験では、この麻酔の効果を検討することや術後の経過を追うことはできない。今回構築した照射実験系において、血管周囲に 37°C 程度に調節した生理食塩水を満たした中で照射を行えば、血管周囲の環境をより臨床に近づけることができると考えられる。これらのことから、本研究における結果は、静脈組織に対して苛酷な条件で照射した結果であり、治療直後の結果のみを示したものである。

前述のように、医療機器申請の際のデバイスラグが問題となっている。一因として、医療機器における評価系レギュラトリーサイエンスが確立されていないことが挙げられる。本研究では、非臨床実験において、医療機器の有効性、及び安全性の評価を行うことができた。企業、医師、及び大学などの施設間の意思疎通、つまり臨床と産学官の連携を非臨床試験の早い段階から行っていくことで、効率よく試験を進めていくことができると考えられる。その際には、治験、及び実際の臨床において必要とされるデータについて企業、及び医師からのヒアリングを行うことが大事である。本研究では、照射系を構築する段階から、臨床経験豊富な医師に助言をいただいた。また定期的なミーティングにて、得られた結果についてディスカッションを行い、意思疎通をはかった。本研究の結果の一部は、臨床試験を行う前の非臨床実験データとして PMDA に提出された。これにより、最終的に迅速な審査へとつながり、日本の EVLA 治療効率改善の一端を担うことができた。他国でも EVLA に対する非臨床実験は行われている。最適な照射条件を求めるために組織の温度上昇を検討した報告^[10]や、波長 980 nm、及びベアファイバーの組み合わせを使用し、ファイバーの引き抜き速度を考慮した照射実験を行った報告^[11]がある。これらは、臨床で使用される以前に行われたのではなく、臨床で広まった後に、臨床において乱立した様々な手技をまとめる位置づけの論文である。また、EVLA 用に新しいファイバーが次々と開発されているが、開発した経緯について定性的に記されているのみである。そのため、新しいファイバーが開発されるたびに最適な照射条件を求めるのは術者である医師が行っている。日本においても、医師が非臨床実験を行っている。これらのことから、非臨床実験は開発段階から行っておくべきだと考えられる。非臨床実験のゴールとしては、安全性の担保が第一である。臨床試験では行うことができない苛酷試験を行えることが非臨床試験の強みである。有効性の検討に関しては、治療を行っても効果のない範囲から、危険な範囲までを予測し、ある程度の範囲まで照射条件を狭めることが求められる。この観点から、本研究は安全性の検討は行うことができた。有効性の検討に関しては、引き抜き速度 1 mm/s における 2 リングファイバーの有効な照射条件について、医師に非臨床実験を行ってもらうことで、さらに最適な照射範囲を絞り込むことができたと考えられる。

EVLA のために開発されたレーザー装置、及びファイバーを用いた至適照射条件を非臨床実験により定めることで、レーザー医療機器の開発から医師が使用するまでの期間に評価すべきである安全性、及び有効性の項目を適切に評価できた。

参考文献

- [1] C. K. Oh, D. S. Jung, H. S. Jang, K. S. Kwon: Endovenous laser surgery of the incompetent greater saphenous vein with a 980-nm diode laser. *Dermatol. Surg.*, 29: 1135-1140, 2003.
- [2] L. H. Rasmussen, L. Bjoern, M. Lawaetz, A. Blemings, B. Lawaetz, B. Eklof: Randomized trial comparing endovenous laser ablation of the great saphenous vein with high ligation and stripping in patients with varicose veins: short-term results. *J. Vasc. Surg.*, 46: 308-315, 2007.
- [3] J. Desmytère, C. Grard, B. Wassmer, S. Mordon: Endovenous 980-nm laser treatment of saphenous veins in a series of 500 patients. *J. Vasc. Surg.*, 46: 1242-1247, 2007.
- [4] F. Pannier, E. Rabe: Mid-term results following endovenous laser ablation (EVLA) of saphenous veins with a 980 nm diode laser. *Int. Angiol.*, 27: 475-481, 2008.
- [5] E. A. Prince, S. H. Ahn, G. J. Dubel, G. M. Soares: An investigation of the relationship between energy density and endovenous laser ablation success: does energy density matter? *J. Vasc. Interv. Radiol.*, 19: 1449-1453, 2008.
- [6] H. S. Kim, J. N. Ikechi, H. Kelvin, P. S. J. McElgunn: Lower energy endovenous laser ablation of the great saphenous vein with 980 nm diode laser in continuous mode. *Cardiovasc. Intervent. Radiol.*, 29: 64-69, 2006.
- [7] 広川雅之, 栗原伸久: 下肢静脈瘤に対する 980 nm レーザーを用いた標準的血管内レーザー治療. *Jpn. J. Vasc. Surg.* 21: 583-588, 2012.
- [8] P. E. Timperman, M. Sichlau, R. K. Ryu: Greater energy delivery improves treatment success of endovenous laser treatment of incompetent saphenous vein. *Journal of vascular and international radiology*, 15: 1061-1063, 2004.
- [9] T. M. Vuylsteke, S. R. Mordon: Endovenous laser ablation: a review of mechanisms of action. *Ann. Vasc. Surg.*, 26, 424-433, 2012.
- [10] J. A. Fernandez, R. Posso: A mathematical analysis using 1470nm and radical emitting fiber. *Endovenous Laser Ablation of Varicose Veins 10 years after: Past, Present & Future, IUA World Congress*, 18-25, 2010.
- [11] S. Kaspar, J. Siller, Z. Cervinkova, T. Danek: Standardisation of parameters during endovenous laser therapy of truncal varicose veins-experimental ex-vivo study. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, 34, 224-228, 2007.

業績一覧

査読付き原著論文

1. 野添 紗希, 本多 典広, 石井 克典, 栗津 邦男, 下肢静脈瘤に対する血管内レーザー治療における波長 980 nm および 1470 nm レーザーの有効性および安全性の光学特性値に基づいた比較, 日本レーザー医学会誌, 33(1), p. 7-14, 2012.
2. 野添 紗希, 本多 典広, 石井 克典, 栗津 邦男, 下肢静脈瘤の血管内レーザー焼灼術に対する波長 980 nm および 1470 nm レーザーを用いた非臨床実験による至適照射条件の検討, 日本レーザー医学会誌, 34(4), p. 372-381, 2013.
3. Saki Nozoe, Takashi Matsui, Kyozo Tsujikawa, Masaaki Taruno, Hirokazu Kubota, Masaharu Ohashi, and Kazuhide Nakajima, Variable Mode Excitation Ratio Method for Measuring Attenuation Coefficients of LP Mode Groups, J. Lightwave Technol., 36, p. 2387-2393, 2018.
4. Saki Nozoe, Hisanao Hazama, Kunio Awazu, Development of a Computer Simulation Model of Intravascular Laser-Tissue Thermal Interaction for Endovenous Laser Ablation, Journal of Japan Society for Laser Surgery and Medicine (in press).

国際学会発表 (査読付き)

1. Saki Nozoe, Norihiro Honda, Katsunori Ishii, Kunio Awazu, Quantitative analysis of endovenous laser treatment based on human vein optical properties, Proceedings Volume 8092, Medical Laser Applications and Laser-Tissue Interactions V; 80921J, 2011.
2. N. Honda, S. Nozoe, K. Awazu: Monitoring of tissue coagulation during laser therapy using aiming laser during photo therapy, Conference on Laser Surgery and Medicine, 2012.
3. S. Nozoe, R. Fukumoto, T. Sakamoto, T. Matsui, Y. Amma, K. Takenaga, K. Tsujikawa, S. Aozasa, K. Aikawa, and K. Nakajima, Low Crosstalk 125 μm -Cladding Multi-Core Fiber with Limited Air-Holes Fabricated with Over-Cladding Bundled Rods Technique, in Optical Fiber Communication Conference, paper Th1H.6, 2017.
4. S. Nozoe, T. Matsui, K. Tsujikawa, K. Nakajima, M. Taruno, H. Kubota and M. Ohashi, Fiber attenuation coefficient and bending loss measurement of few-mode fibers by utilizing variable mode power ratio, Opto-Electronics and Communications Conference, 2017.
5. S. Nozoe, T. Sakamoto, T. Matsui, Y. Amma, K. Takenaga, Y. Abe, K. Tsujikawa, S. Aozasa, K. Aikawa and K. Nakajima, 125 μm -cladding 2LP-mode and 4-core multi-core fibre with air-hole structure for low crosstalk in C+L band, European Conference on Optical Communication, 2017.

国際学会発表 (査読なし)

1. S. Nozoe, N. Honda, K. Ishii, K. Awazu, Wavelength dependency of endovenous laser ablation at 980 nm and 1470 nm based on tissue optics, Proceedings of Conference on Laser Surgery and Medicine 2012, CLSM4-2, 2012.

国内学会発表（査読なし）筆頭のみ

1. 野添紗希, 本多典広, 石井克典, 栗津邦男, ヒト静脈の光学特性値に基づいた血管内レーザー治療の定量解析, 第32回日本レーザー医学会総会, 2011.
2. 野添紗希, 本多典広, 石井克典, 栗津邦男, 下肢静脈瘤レーザー治療の効果 - 安全性向上に向けた至適照射条件の検討 -, 電気学会研究会資料, OQD-11-030, 2011.
3. S. Nozoe, N. Honda, K. Ishii, K. Awazu, Quantitative analysis of endovenous laser treatment based on human vein optical properties, 第50回日本生体医工学会大会, 2011.
4. 野添紗希, 本多典広, 石井克典, 栗津邦男, 下肢静脈瘤レーザー治療の効果 - 安全性向上に向けた至適照射条件の検討 -, 電気学会研究会資料, OQD-11-030, 2011.
5. 野添紗希, 本多典広, 石井克典, 栗津邦男, 下肢静脈瘤血管内レーザー治療における至適照射パラメータ検討, 第25回日本レーザー医学会関西地方会, 2012.
6. 野添紗希, 高田隼也, 本多典広, 石井克典, 栗津邦男, 下肢静脈瘤の血管内レーザー治療に対する非臨床実験による至適照射条件の検討, レーザー学会学術講演会第33回年次大会, 2013.
7. 野添 紗希, 半澤 信智, 辻川 恭三, 山本 文彦, Few-mode ファイバの損失要因分析に関する検討, B-13-35, 2014年電子情報通信学会ソサエティ大会, 2014.
8. 野添紗希, 半澤 信智, 辻川 恭三, 山本 文彦, Few-mode ファイバの高次モードにおける損失要因分析, 信学技報, 114(269), 45-49, 2014.
9. 野添紗希, 半澤 信智, 辻川 恭三, 山本 文彦, Few-mode ファイバの損失要因分析の測定精度向上に関する検討 B-13-19, 2015年電子情報通信学会総合大会, 2015.
10. 野添紗希, 半澤信智, 辻川恭三, 黒河賢二, 松井隆, 中島和秀, 2モードファイバにおけるファイバヒューズ伝搬特性評価, 信学技報, 115(360), 39-43, 2015.
11. 野添紗希, 半澤 信智, 辻川 恭三, 山本 文彦, Few-mode ファイバにおけるLP11モードの損失要因分析に関する考察, B-13-22, 2015年電子情報通信学会ソサエティ大会, 2015.
12. 野添紗希, 坂本泰志, 辻川恭三, 中島和秀, 空孔利用によるLP11モードのクロストーク抑制の検討, B-13-38, 2016年電子情報通信学会総合大会, 2016.
13. 野添紗希, 松井隆, 辻川恭三, 中島和秀, インパルス応答法を用いた数モード光ファイバの損失測定法, B-13-14, 2016年電子情報通信学会ソサエティ大会, 2016.
14. 野添紗希, 松井隆, 辻川恭三, 垂野将明, 久保田寛和, 大橋正治, 中島和秀, インパルス応答法を用いた Few-mode ファイバの LP モードごとの損失測定法, 信学技報, 116(413), 2017.
15. 野添紗希, 福本良平, 坂本泰志, 松井隆, 安間淑通, 竹永勝宏, 辻川恭三, 青笹真一, 愛川和彦, 中島和秀, クラッド一括合成法を用いた4孔構造の125 μm 径低クロストークマルチコアファイバ, B-13-24, 2017年電子情報通信学会総合大会, 2017.

16. 野添紗希, 坂本泰志, 松井隆, 安間淑通, 竹永勝宏, 阿部宜輝, 辻川恭三, 青笹真一, 愛川和彦, 中島和秀, 空孔構造を有する低クロストーク 125 μm クラッド径 2LP モード 4 コアファイバ, B-10-5, 2017 年電子情報通信学会ソサエティ大会, 2017.
17. 野添紗希, 坂本泰志, 松井隆, 安間淑通, 竹永勝宏, 阿部宜輝, 辻川恭三, 青笹真一, 愛川和彦, 中島和秀, 空孔構造を有する低クロストーク 125 μm クラッド径 2LP モード 4 コアファイバ, 信学技報, 117(323), 45-49, 2017.
18. 野添紗希, 坂本泰志, 松井隆, 辻川恭三, 中島和秀マルチコアファイバへのコア間空孔付与による充填コア数拡大の検討, B-13-23, 2018 年電子情報通信学会総合大会, 2018.
19. 野添紗希, 松井隆, 辻川恭三, 中島和秀, 空孔付与ステップインデックス型 125 μm クラッド径 2LP モードマルチコアファイバ, B-10-5, 2018 年電子情報通信学会ソサエティ大会, 2018.

表彰

1. 電子情報通信学会 学術奨励賞 (2018).

謝辞

本研究は、大阪大学工学部環境・エネルギー工学科量子エネルギー工学講座量子ビーム応用工学領域において行われました。この研究の遂行にあたり、終始懇篤なるご指導、ご鞭撻を賜りました栗津邦男教授に深謝の意を表します。

本論文の副査を担当していただきました大阪大学大学院工学研究科 環境・エネルギー工学専攻 量子反応工学領域 村田勲教授には、新たな観点から本研究を見つめ直す機会を与えていただき、心より感謝申し上げます。

研究を進めるに際し、医学的な見地からアドバイスを頂きました、お茶の水血管外科クリニック院長の広川雅之氏に感謝の意を表します。

下肢静脈瘤血管内レーザー治療装置を貸与していただいた株式会社インテグラル代表取締役の五十幡玲子氏、技術部部長の関崎博巳氏に心より感謝します。

また、大変有意義な御指導を賜りました間久直准教授、石井克典助教、本多典広氏、本研究を進めるにあたって、惜しみないご協力を頂きました吉森優登氏に深く感謝致します。学生生活を支えていただきました宮崎陽子秘書、工藤雅子氏、学生各位に深く感謝いたします。

最後に、大きな理解とともに研究生活を支えていただきました両親に心より御礼申し上げます。