

エキシマレーザーの角膜に対する応用

とくに角膜切開について (図13, 表2)

神 鳥 英 世・野 寄 喜美春 (埼玉医科大学眼科学教室)

Application of Excimer Laser to the Corneal Incision

Hideyo Kandori, Kimiharu Noyori

Department of Ophthalmology, Saitama Medical School

要 約

エキシマレーザーは、紫外線領域の波長を持つパルス波の高出力レーザーである。我々はエキシマレーザーの種々の波長の内から、Ar-Fの193nmを選び角膜に照射した。角膜の切開創を光学顕微鏡、走査及び透過電子顕微鏡で観察したところ、明らかな熱変性は認めず、角膜上皮から実質まで鋭利な切開創が得られた。角膜の厚さの75%以上に達する深い切開を行なった時には、切開部直下の角膜内皮細胞に変性が認められた。出力と切開の深さとの関係は正比例し、エキシマレーザーは角膜切開の深さの規制が可能であることが判った。(日眼 92:2136—2142, 1988)

キーワード: エキシマレーザー, アルゴンフルオライド, 193nm, 角膜切開

Abstract

Excimer lasers are high-power sources of pulsed ultraviolet radiation. We performed experimental studies of excimer laser ablation (Ar-F: 193nm) on rabbit corneas. The corneas were examined histologically. No histological evidence of thermal damage was found at the edge of the incision. Light microscopically and transmission electron microscopically, the inside walls of the laser incision from the epithelium to the stroma were smooth and sharp. When the excimer laser incision was made over 75% of corneal thickness, endothelial cells were damaged along the side of the incision. The quantitative relationship between the power of the energy of the laser and the depth of the incision was examined. It was found that the depth of the incision could be controlled by varying the power or number of pulses of the Ar-F excimer laser. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 92: 2136—2142, 1988)

Key words: Excimer laser, Argon-Fluoride, 193nm, Corneal incision

I 緒 言

眼科領域では、種々の波長のレーザーの臨床応用が行われているが、大別するとアルゴン、CO₂レーザーなど熱効果を利用するものと、QスイッチYAGレーザーなど衝撃効果を利用するものに分けられる。近年、

開発されたエキシマレーザーは、紫外線領域のレーザーで、熱作用を伴うことなく、photochemical decompositionによって、組織分子を破壊あるいは切断できる特性をもっている。眼科領域では、1983年に初めてTrokell等によって、主として角膜切開への応用が提唱され¹⁾、現在、多くの研究が進められている。

別刷請求先: 350-04 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38 埼玉医科大学眼科学教室 神鳥 英世
(昭和63年8月31日受付, 昭和63年9月24日改訂受理)

Reprint requests to: Hideyo Kandori, M.D. Dept. of Ophthalmol., Saitama Medical School
38 Morohongo, Moroyama-machi, Iruma-gun, Saitama 350-04, Japan

(Received August 31, 1988 and accepted in revised form September 24, 1988)

エキシマ (excimer) とは, excited dimer を語源とした人造語²⁾で, dimer はレーザー媒質である 2 分子を指し, 励起状態 (レーザー発振) 時には, 放電管内で安定した結合をしているが, 発振直後に 2 分子が分離することを意味している. また通常, レーザー媒質として, 稀ガスとハロゲン分子を混合し, この組み合わせを変えることにより, 種々の波長のレーザービームを発振することができる (表 1).

我々は角膜の鋭利な切開創を得る目的で, 角膜コラーゲン線維の吸光特性が最大である, 190nm 付近に最も近い波長を発振する, Argon fluoride (193nm) を選んだ. 予備実験として, 種々の物質, 例えば紙, プラスチックなどで試みた後, 摘出した家兎眼の角膜に, スリット状のレーザービームを照射し, 総出力と切開創の深さとの相関, 切開創の組織学的検討および周辺組織, とくに角膜内皮細胞に対する影響を検討した.

表 1 Excimer Laser Wavelengths

Laser medium	Wavelength(nm)
Fluorine	157
*Argon fluoride	193
Krypton chloride	222
Krypton fluoride	248
Xenon chloride	308
Nitrogen	337
Xenon fluoride	351

II 実験装置および方法

1. 使用装置

実験には体重2~3kg の, 白色及び有色家兎眼を使用した. 使用した装置は Lambda Physic 社製エキシマレーザー装置 Model EMG-102MSC で, レーザー媒質として Argon fluoride を用い193nm を発振する (図 1). 本装置の最大パルスエネルギーは240mJ, レーザービーム形状(断面積)22×6mm, パルス数は1~100 Hz まで可変, パルス幅は17ns である. 本装置ではレー

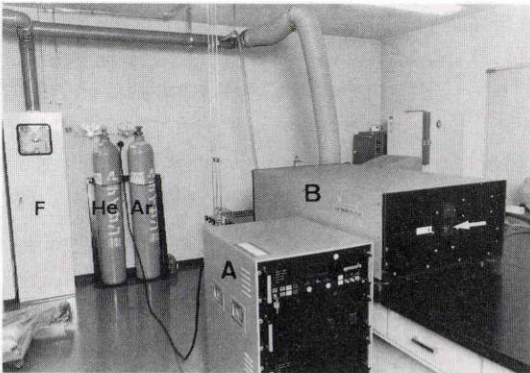


図 1 使用したエキシマレーザー装置: Lambda Physics Model EMG-102MSC. レーザー媒質は Argon fluoride で193nm を発振する. A: 電源部, B: レーザー発振部, 矢印: レーザー発振口, Ar: アルゴンガス, He: ヘリウムガス, F: フッ素ガス

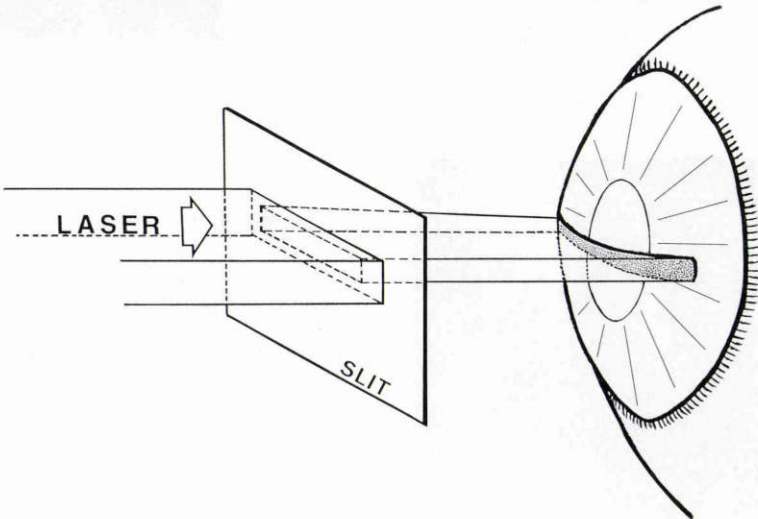


図 2 実験の方法: 摘出した家兎眼の前方10mm の位置に, 長さ15mm, 幅それぞれ 0.1, 0.2, 0.5mm のスリットをもつアルミニウム板を置き, レーザービームの形状を規制する.

ザー発振部に集光系を用いず、直接レーザービームを取り出しているため、ビーム断面積が $22 \times 6 \text{ mm}$ と大きいため、微細な切開創を得る目的で、長さ 15 mm 、幅 $0.1, 0.2, 0.5 \text{ mm}$ のスリットをもつアルミニウム板を固定し、照射部の面積を規定した。

2. 実験方法

摘出した家兎眼の前方、約 10 mm の位置に、前記のアルミニウム板のスリットを置き、レーザービームがスリットで規制されて、角膜を照射できるように、眼球とスリットを同一の高さに調節した(図2)。またエキシマレーザーは不可視光のため、切開目標部にビームが正しく照射できるように、あらかじめ蛍光紙に当て、確認しながら照射した。

レーザーの出力と、切開の深さとの関係を検討するため、1パルス当りのエネルギーは、常に $200 \text{ mJ/cm}^2/\text{pulse}$ になるよう、joulemeterで測定し、確認したうえで照射した。パルス数は主として 100 Hz を用い、照射時間を6, 8, 10, 12, 15, 20, 24秒と変えることで、総出力を変化させた。

角膜に対する影響を観察するために、照射直後に 10% ホルマリンで固定後、角膜を細切した。光顕用として、通常の組織学的手法で脱水後、パラフィンで包埋し、切開線に直角な方向で薄切した後、hematoxylin-eosin染色を施した。また電顕用として、 1% グルタルアルデヒドを含む 0.1 M 磷酸緩衝液で固定し、 1% 四酸化オスミウムによる再固定後に、アルコールで脱水した。光学顕微鏡断片はトルイジンブルーで染色し観察した。走査電子顕微鏡用の組織はアルコールで脱水後、臨界点乾燥を行い金蒸着した後、観察した。透過電子顕微鏡用の組織はアルコールで

脱水後エポンに包埋して超薄切片を作製し、ウランと鉛で染色した後観察した。

III 結 果

スリットランプ所見では、切開創周囲に浮腫が認められるものの、規制したスリット幅と同一の鋭利な切開が得られた(図3・4)。光学顕微鏡での観察では、切開創は円滑で、その深さは総出力と比例していた(図5~8)。強拡大でも組織の変性はなく、とくに熱によると思われる変化は認められなかった(図9)。走査電子顕微鏡でも、角膜上皮から実質まで鋭利に切開されているのが観察された(図10)。

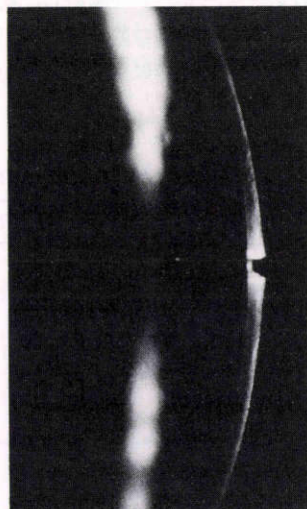


図4 スリット写真では、ほぼ角膜全層が鋭利に切開されている。

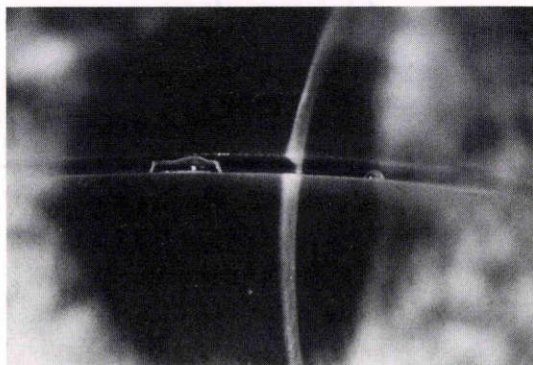


図3 0.5 mm のスリット幅で切開した際の前眼部写真。スリット幅と同じ間隔で直線的に切開線が得られている。切開創に空気が2個入っている。

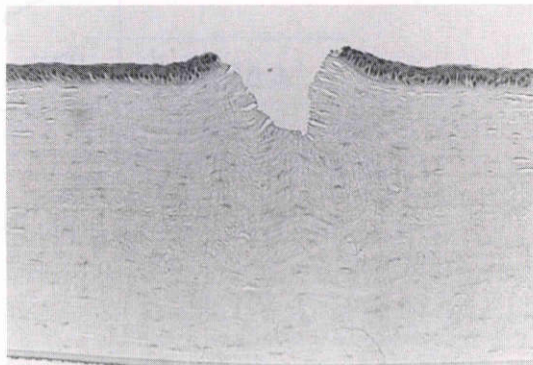


図5 光顕写真：スリット幅 0.2 mm 、 400 pulses 、 100 Hz 、 $200 \text{ mJ/cm}^2/\text{pulse}$ の切開創。角膜の約 $1/4$ 層が切開されている(HE染色、 $\times 200$)。

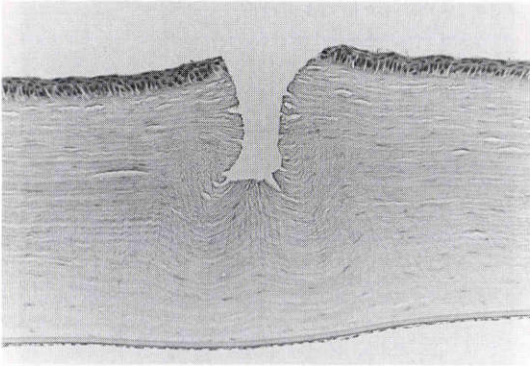


図6 光顕写真：0.2mmのスリット幅，600pulses, 100HZ, 200mJ/cm²/pulse の切開創，角膜の約1/2層が切開されている（HE染色，×200）。

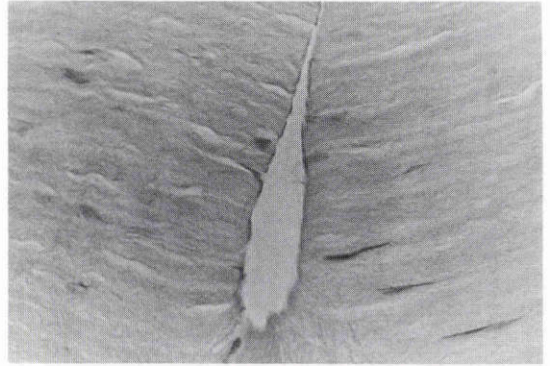


図9 光顕写真：切開創の強拡大，創の断端には，熱によると思われる変化は認められない，1,200pulses, 100Hz, 200mJ/cm²/pulse の切開創（HE染色，×600）。

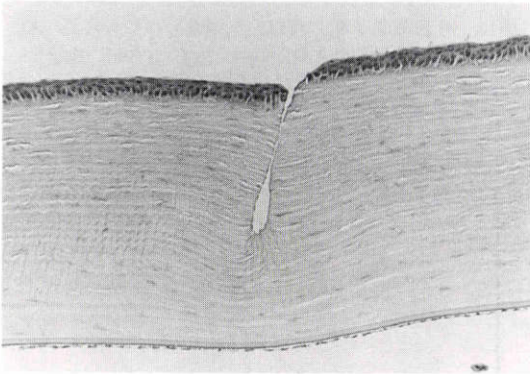


図7 光顕写真：0.1mmのスリット幅，800pulses, 100HZ, 200mJ/cm²/pulse の切開創，角膜の約2/3層が切開されている（HE染色，×200）。

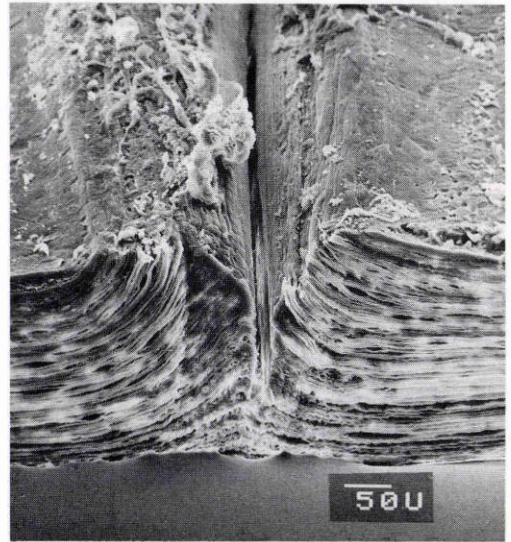


図10 走査電顕写真：角膜表層の上皮の配列に乱れはあるが，上皮から実質まで鋭利に切開されている（×160，Bar=50μm）。

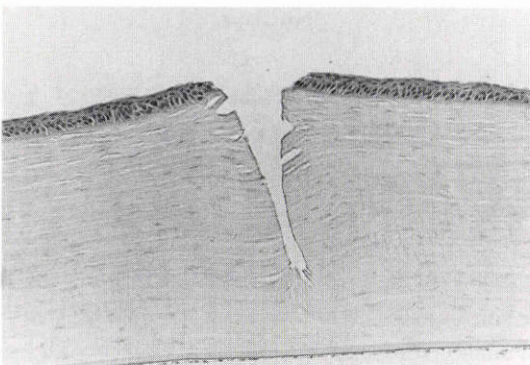


図8 光顕写真：0.1mmのスリット幅，1,200pulses, 100HZ, 200mJ/cm²/pulse の切開創，角膜の約3/4層が切開されている（HE染色，×200）。

また透過電子顕微鏡での観察で，keratocyteが切開創で切断されていたが，細胞やその周辺の実質組織には熱変性は認めなかった（図11），しかし走査電子顕微鏡で，内皮細胞を観察すると，約3/4層の深さの角膜切開でも，内皮細胞には軽度の変性が認められた（図12・13）。

0.2mmのスリット幅を使用した時，肉眼的に角膜上で明瞭な切開線が得られるのは，総出力約1,000mJ/cm²以上であり，0.1mmのスリット幅で，角膜の約

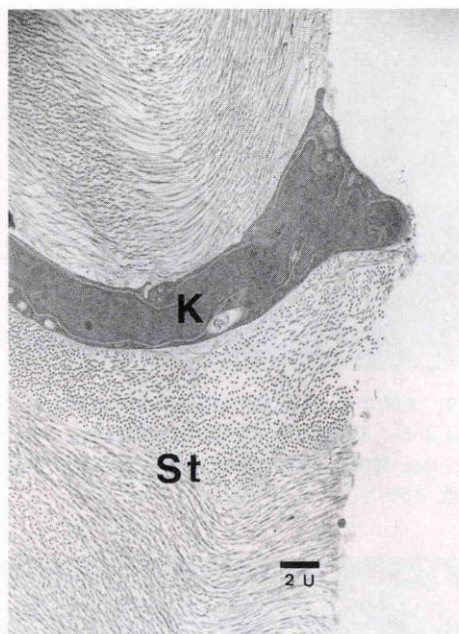


図11 透過電顕写真：Keratoocyte (K) が中央部で切開されているが、細胞および近接実質組織 (St) には熱による変化は認められない ($\times 8,000$, Bar=2 μm).

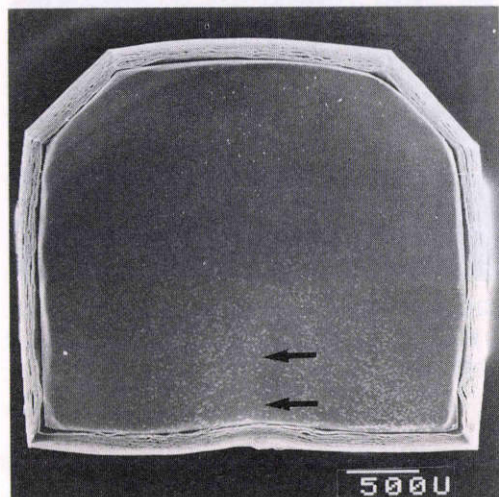


図12 走査電顕写真：切開創直下の内皮細胞、矢印の裏面に角膜表層から2/3層に達する切開創がある ($\times 80$, Bar=500 μm).

1/2層の切開を得るためには、総出力 $120 \times 10^3 \text{ mJ/cm}^2$ が必要であった。また角膜全層を切開するには、総出力 $300 \times 10^3 \text{ mJ/cm}^2$ 以上を必要とするが、これは100

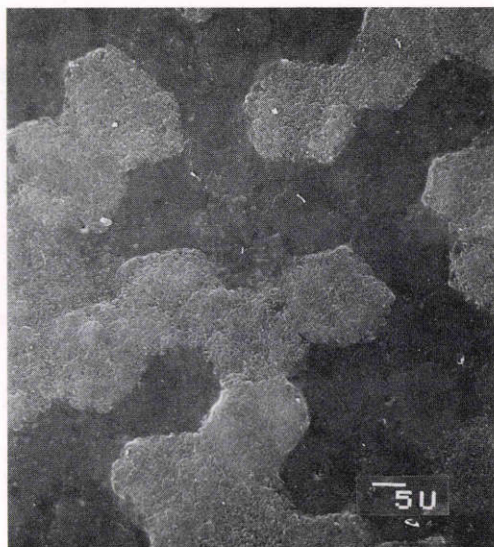
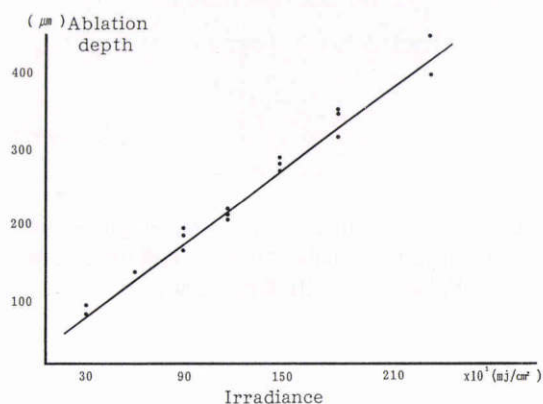


図13 走査電顕写真：図12、矢印部分の拡大写真、軽度の角膜内皮変性が認められる ($\times 3,800$, Bar=5 μm).

表 2



Hz/秒のパルス数で、照射時間は15秒以上となる。しかしこのように総出力を変えることにより、任意の深さの切開を得ることができた (表2)。

IV 考 察

エキシマレーザーは、角膜組織に熱変性などの影響を与えず、非常に鋭利な切開ができるとされている³⁾⁴⁾ (Puliafito, Marshall 等, 1985). その切開創は CO_2 レーザーと異なり、創周囲に熱変性を生ぜず、またパルス型 YAG レーザーのような破裂を起こさず、鋭利なダイヤモンドメスによる切開に似ている (Marshall 等,

1986).

しかし Aron-Rosa⁶⁾等(1985)は光頭の高拡大写真(700倍)で、出力1J/cm²で角膜を切開したとき、周囲に0.75~2.0mmの範囲で、熱変性を認めたと報告しているが、今回の我々の実験では Puliafito³⁾等(1985)の報告と同様に、エキシマレーザーの出力にかかわらず、熱変性による明らかな組織の変化は認めなかった。

Krueger⁷⁾等(1985)はエキシマレーザーの波長及び出力と、角膜の切開の深さとの関係を報告しているが、193nmの波長では、切開の深さと出力とが比例し、その深さを最も規制しやすいと報告している⁸⁾。レンズ系によりビームを集光させているため、総出力は我々より少ないが、出力に比例して切開が深くなるという、実験結果は一致している。

またこのレーザーはパルス発振(パルス幅17ns)であるために、角膜切開時に生ずる衝撃波による圧力及び変形が、内皮細胞の脱落変性を起こすといわれている。今回の実験で、角膜の厚さの約3/4を切開した場合でも、内皮細胞の軽度の変性が認められたことから、ビームが内皮細胞にある程度の影響を与えていることが推測される。したがって切開の深さ及び出力によって、内皮細胞がどのような影響を受けるか、さらに検討する必要がある⁹⁾。

このようにエキシマレーザーの特徴は、角膜に極めて少ない影響を与えながら、非常に鋭利な切開が可能である点である。また術者が意図するような形状、深さの切開が得られることも大きな利点である。このため、各種の角膜切開、特に refractive keratoplasty や corneal ablation への応用が考えられている¹⁰⁾(Kerr-Muir 等 1987)。

しかし欠点として、1) 紫外線領域のレーザーであるため、エネルギーが水に非常によく吸収され、涙液量の多少によっても、切開の深さが左右され、また同様に角膜の全層が切開された瞬間に、前房水が流出することにより、切開が困難になることである。しかしこの性質は refractive surgery の場合、逆に過度の深い切開を回避できるという利点もある。

2) 発振波長が紫外線領域であるため、不可視光であり、このため実験中に、しばしばエキシマレーザーの光路を、蛍光紙にて確認する複雑な作業が必要であった。

3) 現在の集光系を用いない実験では、深い切開を得るためには、10秒前後の時間が必要であり、従って眼球運動が問題となる。最初 burbiturate 静脈麻酔、自発

呼吸下で実験を行なったが、眼球運動のため切開線がずれ、角膜上皮から実質にかけて、幅広くV字型に切開され、鋭利な切開創が得られなかった。また出力と切開の深さとの正確な比較もできないので、今回は眼球を摘出した家兎眼を用いたが、生体眼を用いたとき、眼球運動をどのように阻止するかが今後の課題である。Schroeder¹¹⁾等(1987)は、スリット付きの金属板をプラスチックリングに取り付け、リングを強膜に密着させ、金属板と角膜の間の空気を吸引し真空にすることにより固定している。また Seiler¹²⁾等(1988)はスリット付きのハードコンタクトレンズに金属箔を付着させ角膜に装用させることにより、眼球運動による切開のずれを防いでいる。眼球運動の抑制は、現在、最大の課題であるが、人眼に応用する場合には、球後麻酔などにより、家兎眼よりも容易に抑制が可能と思われる。

実験中のレーザーに関する安全対策としては、電気回路のみでなく、レーザービームによる、紫外線及びオゾンの発生がある。しかしこの波長の紫外線は、通常のガラス、プラスチック性のメガネで、十分に角膜への障害を防ぐことが可能である。またオゾンは大量に発生すると粘膜刺激作用があるが、今回の実験では全く感じていない。

最も危険なのは弗素ガスの取扱いである。エキシマレーザーでは、発振終了後に、レーザー媒質である弗素とアルゴンとが分離し、有毒な弗素が排出される。人体に対し非常に毒性が強く、また強い金属腐食作用があるため、ガスの操作及び換気には細心の注意が必要である。

稿を終えるにあたり、御協力頂きました順天堂大学、山口達夫講師に感謝致します。

本研究は、文部省科学研究費補助金(一般研究 A62440070, 研究代表者、野寄喜美春)の補助を受けた。付記して感謝の意を表する。

本論文の要旨は、第92回日本眼科学会総会で発表した。

文 献

- 1) Trokel SL, Srinivasan R, Braren B: Excimer laser surgery of the cornea. Am J Ophthalmol 96: 710—715, 1983.
- 2) 野寄喜美春, 清水弘一: レーザー眼治療. 東京, 医学書院, 7—8, 1987.
- 3) Puliafito CA, Steinert RF, Deutsch TF, et al: Excimer laser ablation of the cornea and lens. Ophthalmology 92: 741—748, 1985.
- 4) Marshall J, Trokel SL, Rothery S, et al: An

- ultrastructural study of corneal incisions induced by an excimer laser at 193 nm. *Ophthalmology* 92: 749—758, 1985.
- 5) **Marshall J, Trokel SL, Rothery S, et al:** A comparative study of corneal incisions induced by diamond and steel knives and two ultraviolet radiations from an excimer laser. *British J Ophthalmol* 70: 482—501, 1986.
 - 6) **Aron-Rosa D, Carre F, Cassiani P, et al:** Keratorefractive surgery with the excimer laser. *Am J Ophthalmol* 100: 741—742, 1985.
 - 7) **Krueger RR, Trokel SL:** Quantitation of corneal ablation by ultraviolet laser light. *Arch Ophthalmol* 103: 1741—1742, 1985.
 - 8) **Nanevitz TM, Prince MR, Puliafito CA, et al:** Excimer laser ablation of the lens. *Arch Ophthalmol* 104: 1825—1829, 1986.
 - 9) **Dehm EJ, Puliafito CA, Adler CM, et al:** Corneal endothelial injury in rabbits following excimer laser ablation at 193 and 248 nm. *Arch Ophthalmol* 104: 1364—1368, 1986.
 - 10) **Kerr-Muir MG, Trokel SL, Marshall J, et al:** Ultrastructural comparison of conventional surgical and argon fluoride excimer laser keratectomy. *Am J Ophthalmol* 103: 448—453, 1987.
 - 11) **Schroeder E, Dardenne MU, Neuhaan T, et al:** An ophthalmic excimer laser for corneal surgery. *Am J Ophthalmol* 103: 472—473, 1987.
 - 12) **Seiler T, Bende T, Trokel SL, et al:** Excimer laser keratectomy for correction of astigmatism. *Am J Ophthalmol* 105: 117—124, 1988.

(第92回日眼総会原著)