

ラット口蓋粘膜における 炭酸ガスレーザーパルス波照射後の治癒過程

園田正人¹ 山崎 章²

Healing Process after Pulsed CO₂ Laser Irradiation on Rat Palatal Mucosa

Masahito SONODA¹ and Akira YAMASAKI²

Despite the extensive use of the pulsed CO₂ laser, the cellular response and healing process after irradiation with it is not fully understood. We conducted this study to evaluate the healing process of the laser wound by means of histopathology and immunohistochemistry.

The CO₂ laser irradiation was made on rat palatal mucosa with the parameters of 600 μ s pulse duration, 5W peak power, 151.52pps repetition rate, and 14.16J/mm² average energy density. The palatal mucosa dissected at 6 hrs and 1, 3, 5, and 7 days after irradiation was fixed and embedded in paraffin. The sections were stained with H-E or Azan-Mallory for histopathological examination or processed immunohistochemically to examine the expression of Hsp47, α -SMA, and Factor-VIII.

On day 1 post-irradiation, the laser wound consisted of coagulation necrosis showing the matrix configuration identical to that of the surrounding normal tissue, along the surface of which the emigration of regenerating epithelium was observed. In the tissue surrounding the laser wound, the up-regulation of Hsp47 in fibroblasts and vascular endothelial cells was noted. On day 3, re-epithelization of the wound surface was completed and Hsp47-expressed fibroblasts and vascular endothelial cells progressively infiltrated into the wound. Some fibroblasts exhibited the expression of α -SMA. On day 7, the wound was almost entirely replaced by newly formed fibroblasts and capillaries, most of which appeared to express strong Hsp47. Many of Hsp47-positive fibroblasts in the laser wound also showed α -SMA-expression. The extracellular matrix of the laser wound showed Factor-VIII-positive reaction throughout the experimental period except 6 hours post-irradiation, suggesting the persistence of inflammatory reaction.

Since there was no significant difference in the healing process between laser wound and scalpel-made wound, we speculate that laser irradiation and the resultant tissue coagulation may not necessarily disturb the healing process.

Key words : CO₂ laser, Hsp47, α -SMA, Factor-VIII

受付：平成20年4月17日，受理：平成20年5月20日
奥羽大学大学院歯学研究科顎口腔外科学専攻¹
奥羽大学歯学部口腔病態解析制御学講座口腔病理学²
(指導：福岡 章教授)

Ohu University Graduate School of Dentistry, Oral
Surgery Major¹
Department of Oral Medical sciences, Oral Pathology,
Ohu University, School of Dentistry²
(Director : Prof. Akira FUKUOKA)

緒 言

炭酸ガスレーザーは、その波長(10.6 μ m)の特性により、生体組織に照射された時光エネルギーが水に吸収されて熱に変換、瞬時に組織を気化蒸散する。この高度な組織破壊能力により主に軟組織の外科手術に頻用されてきた。一方、照射に伴う切開部断端での熱損傷、すなわち組織の炭化と凝固が創傷治癒を遅らせるとして長年問題視されてきた¹⁻⁵⁾。熱損傷を抑えかつ切開能力を維持するためには高エネルギーによる短時間照射が求められる⁶⁾が、このことは手術の正確さ、なかでも切開深度のコントロールを犠牲にすることになる。パルス波炭酸ガスレーザーはこのようなメスとしてのレーザーの持つ二律背反性を解消するために開発された⁷⁻¹³⁾。パルス波レーザーは、高瞬間出力(ハイピークパワー)のレーザー光を短いパルス幅で間に十分な休止期間をおいて照射することにより、周囲の熱損傷を抑えつつ十分な切開能力を維持しつつ時間的余裕を術者に与え、これによって切除範囲のコントロールを容易にしようとするものである。近年、様々なパルス幅、パルス数、ピークパワーを用いた切開能力に拘泥しない多様な治療法が開発、提供されている。

現在、パルス波炭酸ガスレーザーは、皮膚科領域での小腫瘍の切除やresurfacing、瘢痕除去、口腔領域における白板症や扁平苔癬などの表在性病変や小帯の切除に威力を発揮している¹⁴⁻¹⁶⁾。これらの場合、レーザー光は単なるメス代用としての組織切断よりむしろ組織の蒸散もしくは剝削、場合によっては組織凝固を目的に使用されている。最近歯科臨床において、潰瘍性疾患の治療¹⁷⁾、外科処置後の疼痛緩和や殺菌、象牙質知覚過敏症の治療¹⁸⁾にピークパワーを低く設定したパルス波炭酸ガスレーザーが効果を挙げているが、この場合はもっぱら組織凝固を主眼としている。このように、かつてメス切創との比較において治癒阻害要因とみなされていたレーザー照射に伴う組織凝固は、レーザー治療の多様化にともない現在では治療手段の1つになっている。一方このように多様化したレーザー治療に対する科学的裏付けは今日に至るまで充分になされていない。適切なレー

ザー治療を行うためには標的組織に与えるレーザーの影響を十分に理解しておく必要がある。

最近横手ら¹⁹⁾は、組織凝固を目的に、ピークパワーを低く、パルス数を少なく設定して照射エネルギーをより低く抑えたパルス波炭酸ガスレーザーをラット口蓋粘膜に照射し、そこでの組織反応を検討した。その結果、実質欠損を伴わず限定的に凝固壊死を起こすことが可能で、その周囲組織では細胞の活性化が生じていることを示した。本研究では横手ら¹⁹⁾の実験に比べ、より高エネルギー密度となるよう設定した条件の下照射を行い、固有層に実質欠損とより広範囲の組織凝固を生じさせ、そこでどのような組織反応および治癒過程が展開されるかを免疫組織化学的に検討した。

材料と方法

1. 実験動物と実験装置

実験動物として8~9週齢体重250~300g雄性Wistarラット(日本クレア社)を用いた。動物の取り扱いには奥羽大学動物実験規程に従った。50mg/kgのペントバルビタールナトリウム(ネンブタール, ABOTT社)腹腔内投与により麻酔下、ラットを実験台に固定し開口させ、臼歯部歯肉に隣接する口蓋粘膜にレーザー光を照射した(図1)。

レーザー発振装置としてPanalasC05 Σ (松下電器産業(株)社製)を使用した。照射は内径0.7mmのコンタクトチップ(テーパー2A)を用い、ピークパワー5W、パルス幅600 μ s、パルス数151.52pps、のSPモードにより、臼歯部口蓋粘膜近遠心方向に約1.4mmの範囲を30秒間走査させて行った。この条件下でのレーザー光は、defocus beamとしてコンタクトチップ内径の範囲を照射し、仕様上の照射面エネルギー密度は14.16J/mm²となる。この照射により肉眼的に粘膜表面に実質欠損が生じ、一部着色した。比較のため、外科用メスによる約1.0mm幅の骨に達する切除創を照射相当部に作成した。

2. 標本作製

照射6時間、1, 3, 5, 7日後、麻酔下に口蓋粘膜を口蓋骨と一塊として採取後、直ちにリン酸緩衝4%パラホルムアルデヒドにて固定した。なお、実験期間は予備実験に基づいて設定した。固

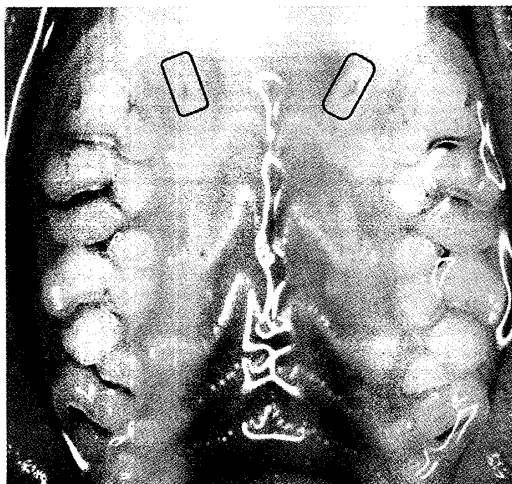


図1 ラット口蓋。レーザー照射部位を示す。

定後、10日間10% EDTA溶液にて脱灰を行い、パラフィンに包埋、厚さ4 μ mの連続切片を作製した。ヘマトキシリン・エオジン（H-E）染色を施して病理組織学的に検討した後、アザン・マロリー染色を行い細胞外基質、特に膠原線維の変化を検討した。次いで創傷治癒に関わる細胞の動態を把握する為以下の免疫組織化学的検索を行った。

3. 免疫組織化学

免疫組織化学では表1に示した一次抗体を用い、Labeled-streptavidin biotin (LSAB法)で行った。抗heat shock protein 47（以下Hsp47）抗体は線維芽細胞の同定²⁰⁾のために、抗 α 平滑筋アクチン（以下 α -SMA）抗体は筋線維芽細胞の分化マーカーとして、抗第VIII因子関連抗原（以下Factor-VIII）抗体は血管内皮細胞の同定と血漿成分の検出のためそれぞれ用いた。キシレンにより脱パラフィンを行ったのち、Hsp47のためには50mMグリシン-塩酸緩衝液（pH3.5, 95 $^{\circ}$ C）、Factor-VIIIのためにはProteinase K（ダコ・ジャパン社、東京）を用いて、抗原の賦活化を行った。切片を0.3%過酸化水素PBSに室温で20分浸漬して内因性ペルオキシダーゼを除去した後、抗体の非特異的反応を防止する為、切片にヤギ正常血清を室温で20分反応させた。次いで、Hsp47および α -SMAに対する二次抗体としてビオチン標識ヤギ抗マウスIgG（1：100, CHEMICON社, USA）を室温で30分反応させた。Factor-VIIIに対してはビオチン標識ヤギ抗ラットIgG（1：100,

表1 使用抗体

抗体	希釈倍率	クローン	反応時間	製品会社
マウス抗ヒトHPS47 モノクローナル抗体	1：100	M16	1時間	Stressgen, USA
マウス抗ヒト α -SMA モノクローナル抗体	1：50	1A4	1時間	ダコ・ジャパン社, 東京
ウサギ抗ヒトFactor-VIII ポリクローナル抗体	1：5000		1時間	ダコ・ジャパン社, 東京

CHEMICON社, USA) を室温で10分反応させた。ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン（ニチレイ社、東京）を室温で10分反応させたのち、0.02% 3-3' ジアミノベンチジン・4 HCl/0.05M トリス塩酸緩衝液, pH7.6（DAB基質キット, ニチレイ社、東京）にて発色させた。核染色はヘマトキシリンで行った。一次抗体に替えてPBSで反応を行った切片を陰性対照としたが、これら対照切片すべてにおいて陽性反応は認められなかった。なおHsp47については、構成的発現確認のため、無処置ラットから得た試料において同様の検索を行った。

結 果

1. 病理組織学的所見

1) H-E染色

照射後6時間、照射中心部では骨近くまで達する楔状の実質欠損が認められた。その周囲組織は細胞の崩壊、消失、細胞外基質線維構造の不明瞭化や均質化および染色性の変化など凝固壊死の形態を示していた。その範囲は深部で狭く、表層で側方に拡がる漏斗状を呈していた。表面は中心部を除き凝固上皮で覆われていた。壊死組織、すなわちレーザー創と周囲健常組織との境界は不明確であった。レーザー創に隣接する血管周囲に単核細胞の浸潤を認めたが、創内への炎症細胞浸潤は認められなかった（図2a）。

照射後1日、レーザー表層で好中球を主体とする密な浸潤が認められた。レーザー創周辺部では単核細胞が主体でこれらは周囲正常組織でも観察された。表面には壊死上皮が残存していたが、その直下で再生上皮が壊死組織上を伸展していた。この時点では単核細胞浸潤を除き、周囲組織の組

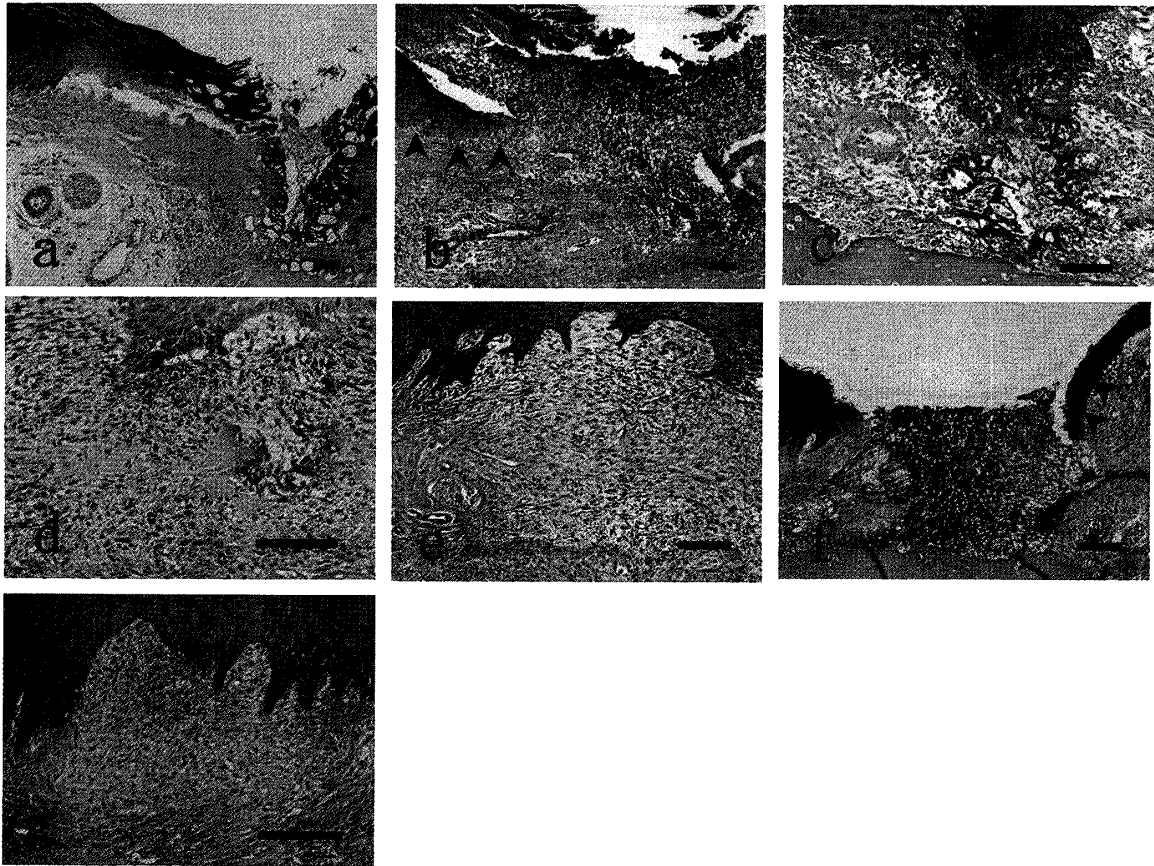


図2 パルス波照射による臼歯部口蓋粘膜の変化。H-E染色。

(a) 照射後6時間 (b) 照射後1日, 矢頭: 再生上皮 (c) 照射後3日 (d) 照射後5日
 (e) 照射後7日 (f) メス処置後1日, 矢頭: 再生上皮 (g) メス処置後7日
 スケールバー: 100 μ m ★: 照射中心部, 実質欠損底面

組織学的変化は生じていなかった (図2b)。

照射後3日, レーザー創は再生上皮により全面的に被覆され, 表面を覆う壊死上皮は消失していた。レーザー創中央部に単核細胞を伴った壊死組織および滲出物が認められたが, その周囲では毛細血管および線維芽細胞の増生が観察された (図2c)。

照射後5日, 一部に壊死組織が残存するもののレーザー創の大部分は新生線維芽細胞と毛細血管, すなわち肉芽組織によって置換されていた (図2d)。

照射7日, レーザー創全域が密に集積した線維芽細胞と毛細血管からなる肉芽組織によって置換されていた (図2e)。

メス切除群術後6時間および1日の切除創は凝血塊で満たされており, 周囲組織に変化は認められなかった。再生上皮の伸展は術後1日で認められたが, 創表面, すなわち凝血塊上を伸展するの

ではなく, 創の壁面に沿って沈潜する傾向が見られた (図2f)。術後3日, 創面は再生上皮により全面的に被覆され, 凝血塊内への線維芽細胞, 毛細血管の侵入が観察されたが, 一部, 再生上皮が創底部まで達し表面が陥没する例も観察された。5日以降, 切除創は肉芽組織で満たされ, 陥没もほぼ解消していた。

術後7日の所見には, 細胞密度を含めレーザー照射群とメス処置群の間に明らかな違いはなかった (図2g)。

2) アザン・マロリー染色

照射後6時間では, 組織学的 (H-E染色) に基質の変化が明らかなレーザー創中心部が赤染したが, 創辺縁部は周囲正常結合組織同様, 密な線維組織が青染して観察された (図3a)。照射後1日にはレーザー創内の赤染領域は消失したが, その周囲は正常組織と同様の染色性を維持していた

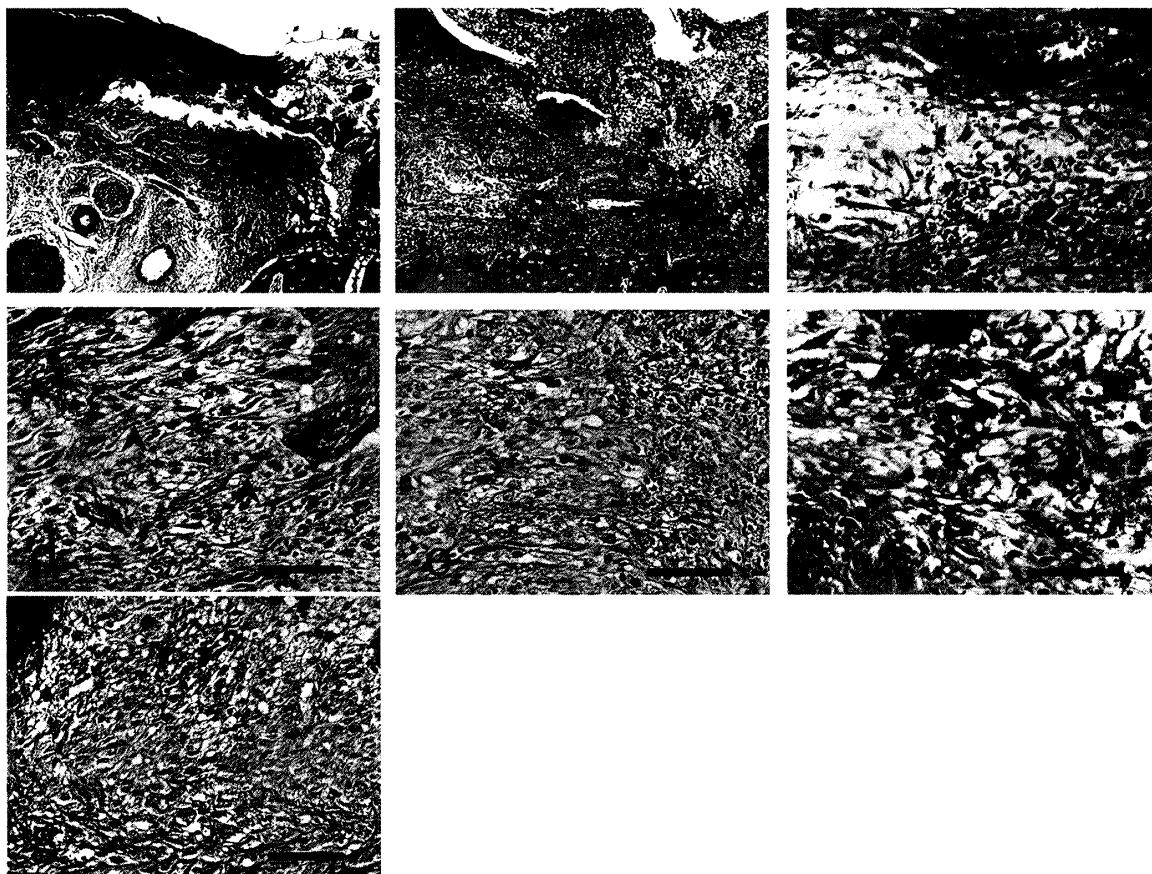


図3 アザン・マロリー染色。

(a) 照射後6時間 (b) 照射後1日 (c) 照射後3日 (d) 照射後5日, 矢頭: 微細な線維
 (e) 照射後7日 (f) メス処置後3日 (g) メス処置後7日
 スケールバー: a,b=100 μ m, c,d,e,f,g=50 μ m ★: 照射中心部, 実質欠損底面

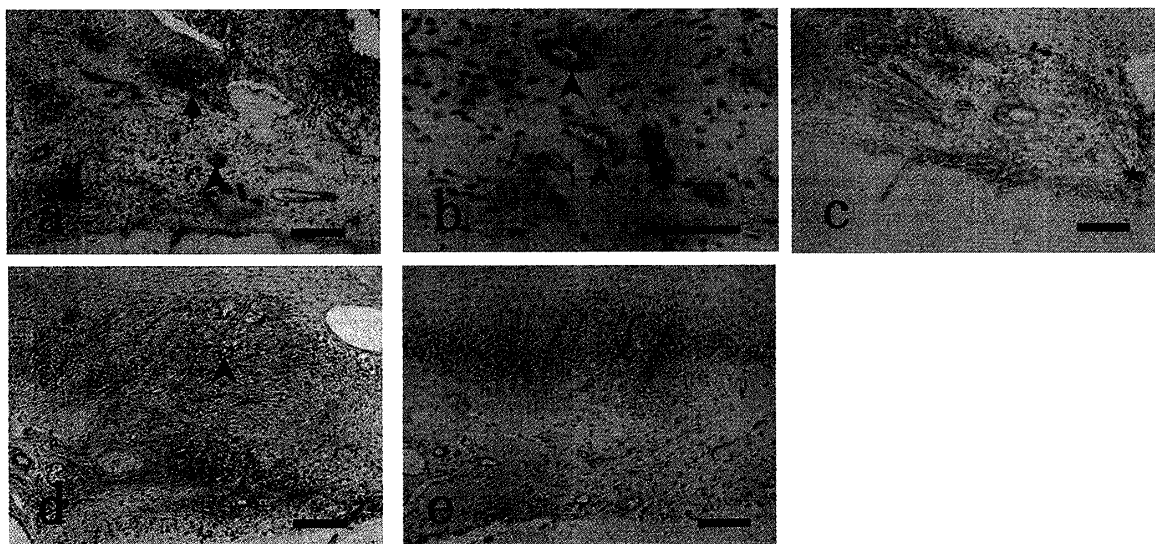


図4 Factor-VIII免疫染色。

(a) 照射後1日, 矢印: 再生上皮直下の細胞基質, 矢頭: 血管内皮細胞
 (b) aの強拡大, 矢頭: 血管内皮細胞 (c) 照射後3日
 (d) 照射後7日, 矢頭: 血管内皮細胞 (e) メス処置後7日
 スケールバー: a,c,d,e=100 μ m, b=50 μ m ★: 照射中心部, 実質欠損底面

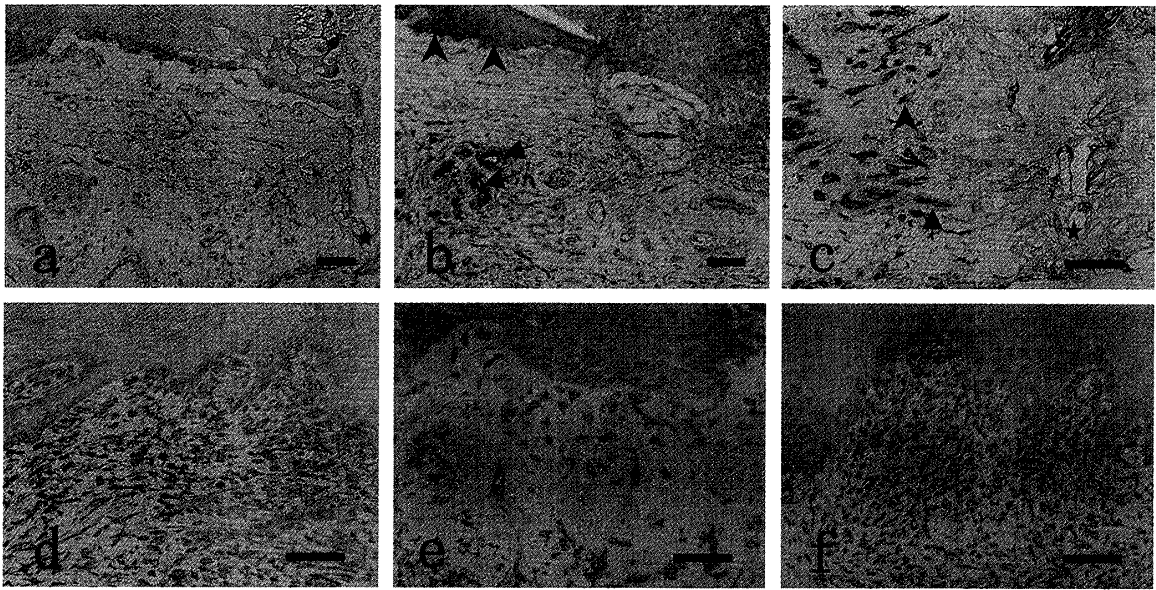


図5 Hsp47免疫染色。

(a) 照射後6時間 (b) 照射後1日, 矢頭: 再生上皮基底層, 矢印: 血管内皮細胞
 (c) 照射後3日, 矢頭: 線維芽細胞, 矢印: 血管内皮細胞 (d) 照射後7日 (e) メス処置後3日
 (f) メス処置後7日

スケールバー: a,b=100 μ m, c,d,e,f=50 μ m ★: 照射中心部, 実質欠損底面

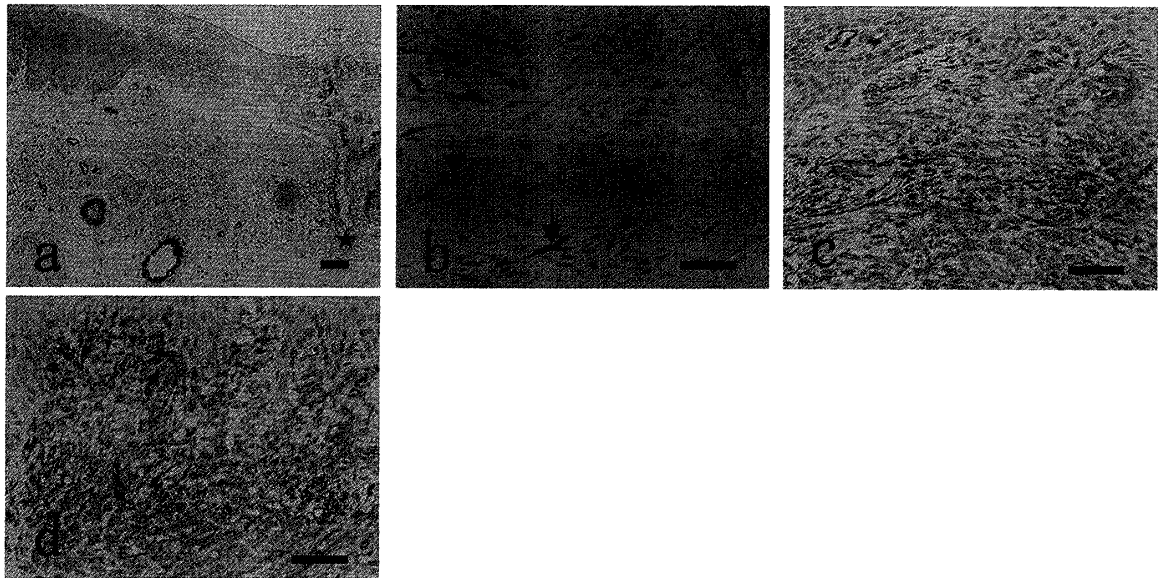


図6 α -SMA免疫染色。

(a) 照射後6時間 (b) 照射後3日, 矢印: 線維芽細胞 (c) 照射後7日 (d) メス処置後7日
 スケールバー: 50 μ m ★: 照射中心部, 実質欠損底面

(図3b)。照射後3日、レーザー創内残存線維の消失が明らかとなった(図3c)。照射後5日、レーザー創を置換した肉芽組織線維芽細胞の周囲に微細な線維の形成が観察され(図3d)、照射後7日には肉芽組織周辺部より線維の太さ、密度が増していた(図3e)。

メス切除群では、術後3日より切除創内への線維芽細胞の侵入にともなって微細な線維の形成が観察され時間とともに線維の太さや密度が増していた(図3f)。術後7日では、レーザー照射群とほぼ同様の所見を示した(図3g)。

2. 免疫組織化学的所見

すべての免疫染色について、陰性対照群は陽性反応が全く認められなかった。

1) Factor-VIIIの発現

正常口蓋粘膜では血管内皮細胞と血漿成分が陽性反応を示した。照射後6時間、レーザー創内では陽性反応は観察されなかった。照射後1日、伸展する再生上皮直下の基質が陽性反応を示すとともにレーザー創に隣接する血管周囲の基質に陽性反応が認められた(図4a, b)。照射後3日、レーザー創細胞外基質がびまん性の陽性反応を示した(図4c)。基質における同様の反応は、術後5日および7日でも観察された。陽性血管内皮細胞の分布パターンはHsp47とほぼ一致していた(図4d)。

細胞外基質での陽性反応はメス切除群術後5日および7日の肉芽組織でも観察されたが、反応の強さ、範囲はレーザー創よりも弱かった(図4e)。

2) Hsp47の発現

正常口蓋粘膜では上皮基底層、固有層線維芽細胞および血管内皮細胞がHsp47を構成的に発現した。照射後6時間、レーザー創内では反応産物の残渣が観察されるもののHsp47発現細胞の存在は認められなかった(図5a)。照射後1日、再生上皮基底層およびレーザー創隣接組織の線維芽細胞と血管内皮細胞で発現の増強が観察されたが、創内での発現は認められなかった(図5b)。照射後3日および5日、レーザー創内に侵入し、これを置換する線維芽細胞と血管内皮細胞が強いHsp47発現を示した(図5c)。照射後7日、密に集積して肉芽組織を構成する線維芽細胞の大部分が強い

Hsp47発現を示した(図5d)。

メス切除群術後6時間および1日、切除層周囲組織でのHsp47発現状況は正常組織同様に変化がなかった。術後3日および5日、切除創内に侵入する線維芽細胞と血管内皮細胞が強いHsp47発現を示し(図5e)、術後7日、レーザー照射群同様。切除創を満たした線維芽細胞のほとんどが強いHsp47発現を示した(図5f)。

3) α -SMAの発現

正常口蓋粘膜では血管平滑筋のみが陽性反応を示した。照射後6時間(図6a)および1日、レーザー創内には α -SMA陽性血管は認められなかった。照射後3日、レーザー創内に侵入する線維芽細胞が陽性反応を示した(図6b)。術後5日および7日、肉芽組織を構成する線維芽細胞に局在が認められた。とくに7日では密に集積した線維芽細胞の大部分が強く反応したが、この発現状況は照射後7日のHsp47とほぼ一致していた(図6c)。

メス切除群では、術後3日まで α -SMAの局在に明らかな変化は認められなかった。術後5日および7日、切除層を置換した肉芽組織の線維芽細胞に強い局在が観察された(図6d)。

考 察

本研究で使用した炭酸ガスレーザーは、いわゆるスーパーパルスと称される照射モードに比べるとピークパワーが低く、パルス幅は広く設定されており、発振されたビームはハンドピースに装着したチップを介しdefocusの状態ではチップ口径の範囲を照射する。従って、切断能力より一定範囲の蒸散あるいは凝固に重点を置いた仕様となっている。本研究では、実質欠損を伴うより広範囲の組織凝固を生じさせた場合の治癒過程を検討するため、横手ら¹⁹⁾の用いた照射モード(Σ モード)に比べパルス数を多く設定して休止期間を短くし、組織破壊性を強めたモード(SPモード)を使用した。照射の結果、欠損部周囲の凝固壊死層は深部で狭く表層で側方に拡がる漏斗状の形態を示した。このことは表面から順次蒸散されていく炭酸ガスレーザーの特性と、照射時間(30秒)との関係で、表面に向かうに従い熱伝導範囲が拡大したことによると推測される。

本研究において、レーザー創凝固壊死組織の大部分は一定期間残存し、そこへ壊死組織基質を足場に侵入する新生線維芽細胞と毛細血管によって徐々に置き換えられていく過程が明らかになった。この過程はアザン・マロリー染色によるコラーゲン線維の消長によってより明確に示された。照射後1日までは、レーザー創の線維構築は周辺正常組織と違いがなかったが、照射後3日、新生線維芽細胞や毛細血管の分布が拡大するに従い染色性が失われ、その後時間の経過とともに再び線維芽細胞間に微細な陽性線維の形成が明らかとなった。照射後7日、対照としたメス切除創同様、レーザー創ほぼ全域が新生線維芽細胞と毛細血管で置換されていた。炭化組織が創傷部に存在した場合、置換が遅延する傾向が見られたが、この点を除き、本研究において、組織凝固そのものが治癒を阻害することを示す明らかな所見は得られなかった。

上皮の再生は照射後1日で明らかとなり、壊死固有層組織を足場にその表面を伸展し、3日にはレーザー創全面を被覆していた。メス切除群に比べ特段の遅延傾向は見られず、壊死組織の存在が上皮移動の障害要因になるとは考えにくい。

照射後1日レーザー創表層に一過性の密な好中球浸潤が認められたが、この所見には個体によるばらつきがあり、メス照射群でもしばしば観察された。したがってこれはレーザー照射によってもたらされる特有の所見ではなく、開放創であるが故に生じる照射後の偶発的細菌感染による可能性が強い。一方、血管内皮細胞に加え血漿にも反応するFactor-VIIIの局在がレーザー創壊死組織基質や周囲組織の血管周囲性に観察され、創傷部が新生線維芽細胞によってほぼ全面的に置換された照射後5、7日でも細胞外基質のかなりの部分が陽性反応を示した。加えて、治癒過程を通じて単核細胞浸潤がレーザー創内および周囲組織に認められたことから、炎症反応が持続していることは明らかである。炎症反応が治癒にどのように影響するかについては不明な点も多いが、滲出液には様々な細胞活性化因子が含まれることを考えると促進的に働く可能性が高いと思われる。

Hsp47は分子量47,000の糖タンパク質で、種々のストレスにより合成が促進されるストレス蛋白

質の一種である²¹⁻²³。また、非ストレス下でもコラーゲン特異的分子シャペロンとしてコラーゲンの合成、分泌に必須の役割を果たしていることからしばしば線維芽細胞などコラーゲン産生細胞の分化マーカーとしても用いられている^{20,23-26}。本研究ではHsp47の発現をレーザー照射に対するストレス反応と修復過程における線維芽細胞動態の両面から検討した。照射後1日、レーザー創周辺部の線維芽細胞および毛細血管でHsp47発現の増強が観察され、これら発現細胞は時間の経過とともにレーザー創内で増加し、照射後7日には創内に密に集積した線維芽細胞の大部分の線維芽細胞が強いHsp47発現を示した。このようなHsp47発現パターンはメス切除の場合と基本的に違わなかった。従ってHsp47の発現からもレーザー創壊死組織の器質化が順調に行われていることが明らかである。

横手ら¹⁹は、レーザー照射後6時間に壊死組織に面する上皮細胞や結合組織細胞にストレス蛋白Hsp70の*de novo*発現を観察し、この発現をレーザーに対する組織の防御反応と見なしている。Hsp47については、照射後6時間では構成的発現を超える発現は認められず、照射後1日にレーザー創周囲に発現増強が認められた。両者の違いが刺激に対する反応時間によるものか、あるいはレーザーに対する感受性によるものか現段階では不明である。Hsp47の発現は細胞分化の開始によっても増強する。分化開始がレーザー照射による熱ショックによって誘導されその結果として発現が増強した可能性も考えられる。ちなみにメス切除群術後1日の切除創周囲組織でHsp47の発現亢進は観察されなかった。

コラーゲン特異的分子シャペロンであるHsp47の上皮ケラチノサイトでの発現は興味深い。櫻井らは²⁷ラット全身の上皮組織におけるHsp47の発現を検索し、それが表皮や口腔粘膜上皮などいわゆる外皮の重層扁平上皮基底細胞に特異的に発現するところから、外来刺激に対応して改廃を繰り返す基底膜、すなわちその主成分であるタイプIVコラーゲン産生に関わっていると推測している。再生上皮での発現はこの推測を裏付けるものと考えられる。

レーザー創の治癒様式は第二次治癒に当たり、この場合は筋線維芽細胞の出現を特徴する。筋線維芽細胞は本来のコラーゲン合成、分泌に加え細胞内に収縮線維であるアクチンおよびミオシンを豊富に有し、創傷部の収縮に重要な役割を演じる²⁸⁻³⁰⁾。レーザー創、メス切除創ともに5日および7日の肉芽組織内の多くの線維芽細胞が陽性反応を示し、両者の間に明らかな違いは認められなかった。一方Zeinoun³¹⁾らは、ラット舌に炭酸ガスレーザーを照射し、その後の治癒過程における筋線維芽細胞の出現を検討し、対照としたメスによる切創に比べ、レーザー創での筋線維芽細胞の出現が有意に少なく創傷部の収縮が軽度であったと報告している。我々の結果とは異なるが、この違いは彼らが組織切断を目的とし、連続波焦点ビームを用いたことと関係するのかもしれない。

結 論

ラット口蓋粘膜に炭酸ガスレーザーパルス波照射により生じた凝固壊死組織の治癒過程を病理組織化学的ならびに免疫組織化学的に検討し、以下の結果を得た。

1. 照射後1日、レーザー創では凝固壊死組織が残存し、その表面に再生上皮の伸展が認められた。照射後3日、再生上皮による創面被覆が完了するとともに、肉芽組織による創傷部置換が進行し、照射後7日、肉芽組織による創傷部の置換がほぼ完了した。メス切除創との間でこの置換に基本的違いはなかった。

2. 照射後1日、レーザー創周囲組織においてHsp47発現が増強し、その後時間とともに発現細胞の創内での分布が拡大し、照射後7日には創傷部に集結した線維芽細胞の大部分が強い発現を示した。

3. レーザー創治癒過程を通してFactor-VIIIの発現が基質に認められ、炎症反応の持続がうかがわれた。

4. 照射後3日、レーザー創を置換する肉芽組織内に α -SMA陽性線維芽細胞が出現し、照射後5, 7日、創傷部を満たす線維芽細胞の多くが発現を示した。

以上の結果から、レーザー照射による凝固壊死

が必ずしも治癒を遅延するものでないことが示唆された。

謝 辞

稿を終えるに臨み、終始御懇篤な御指導と御校閲を賜りました本学顎口腔外科学講座、大野敬教授に謹んで感謝の意を表しますとともに、種々御援助いただきました口腔病態解析制御学講座ならびに顎口腔外科学講座の教室員の皆様方に深く感謝致します。

本論文の要旨は、第44回奥羽大学歯学会（平成19年11月10日 郡山市）において発表した。

文 献

- 1) Hall, R. R. : The healing of tissues incised by a carbon-dioxide laser. *Br J Surg* **58** ; 222-225 1971.
- 2) Fisher, S. E. and Frame, J. W. : The effects of the carbon dioxide surgical laser on oral tissues. *Br J Oral Maxillofac Surg* **22** ; 414-425 1984.
- 3) Kamat, B. R., Carney, J. M., Arndt, K. A., Stern, R. S. *et al.* : Cutaneous tissue repair following CO₂ laser irradiation. *J Invest Dermatol* **87** ; 268-271 1986.
- 4) Luomanen, M. : A comparative study of healing of laser and scalpel incision wounds in rat oral mucosa. *Scand J Dent Res* **95** ; 65-73 1987.
- 5) Pick, R. M. and Pecaro, B. C. : Use of the CO₂ laser in soft tissue dental surgery. *Lasers Surg Med* **7** ; 207-213 1987.
- 6) Hobbs, E. R., Bailin, P. L., Wheeland, R. G. and Ratz, J. L. : Superpulsed lasers : Minimizing thermal damage with short duration, high irradiance pulse. *J Dermatol Surg Oncol* **13** ; 955-964 1987.
- 7) Walsh, J. T. Jr., Flotte, T. J., Anderson, R. R. and Deutsch, T. F. : Pulsed CO₂ laser tissue ablation : effect of tissue type and pulse duration on thermal damage. *Lasers Surg Med* **8** ; 108-118 1988.
- 8) Fitzpatrick, R. E., Ruiz-Esparza, J. and Goldman, M.P. : The depth of thermal necrosis using the CO₂ laser : a comparison of the superpulsed mode and conventional mode. *J Dermatol Surg Oncol* **17** ; 340-344 1991.
- 9) Green, H. A., Burd, E., Nishioka, N. S., Bruggemann, U. *et al.* : Middermal wound healing. A comparison between dermatomal excision and pulsed carbon dioxide laser ablation.

- Arch Dermatol **128** ; 639-645 1992.
- 10) Sanders, D. L. and Reinisch, L. : Wound healing and collagen thermal damage in 7.5-microsec pulsed CO₂ laser skin incisions. *Lasers Surg Med* **26** ; 22-32 2000.
 - 11) Frentzen, M., Gotz, W., Ivanenko, M., Afilal, S. *et al.* : Osteotomy with 80-microsec CO₂ laser pulses-histological results. *Lasers Med Sci* **18** ; 119-124 2003.
 - 12) Wang, X., Ishizaki, N. T. and Matumoto, K. : Healing process of skin after CO₂ laser ablation at low irradiance : a comparison of continuous-wave and pulsed mode. *Photomed Laser Surg* **23** ; 20-26 2005.
 - 13) 善入寛仁, 吉川一志, 砂田和久, 大前正範ほか : レーザー照射が象牙質透過性に与える影響について. *日歯保存誌* **48** ; 427-433 2005.
 - 14) Ishii, J., Fujita, K. and Komori, T. : Laser surgery as a treatment for oral leukoplakia. *Oral Oncol* **39** ; 759-769 2003.
 - 15) 渡辺晋一 : レーザー治療の原理と応用 ; *日レ医誌* **19** ; 249-257 1998.
 - 16) Loh, H. S. : A clinical investigation of the management of oral lichen planus with CO₂ laser surgery. *J clin Laser Med Surg* **10** ; 445-449 1992.
 - 17) 早瀬康博 : CO₂レーザーの口腔軟組織疾患への臨床応用. *日レ歯誌* **14** ; 60-65 2003.
 - 18) 小池 靖, 富永明彦 : 象牙質知覚過敏の処置へのレーザー応用. *歯科医療* **15** ; 37-46 2001.
 - 19) 横手優介, 伊東博司, 山崎 章 : 炭酸ガスレーザーパルス波照射に対するラット口腔粘膜の組織反応. *口科誌* **56** ; 341-349 2007.
 - 20) Suzuki, T., Kimura, M., Asano, M., Fujigaki, Y., *et al.* : Role of atrophic tubules in development of interstitial fibrosis in microembolism-induced renal failure in rat. *Am J Pathol.* **158** ; 75-85 2001.
 - 21) Nagata, K., and Yamada. K. M. : Phosphorylation and transformation sensitivity of a major collagen-binding protein of fibroblasts. *J Biol Chem.* **261** ; 7531-7536 1986.
 - 22) Nagata, K. : Expression and function of heat shock protein 47 : a collagen-specific molecular chaperone in the endoplasmic reticulum. *Matrix Biol* **16** ; 379-386 1998.
 - 23) Nagata, K. : Hsp47 : a collagen-specific molecular chaperone. *Trends Biochem SCT* **21** ; 23-26 1996.
 - 24) Naitoh, M., Hosokawa, N., Kubota, H., Tanaka, T. *et al.* : Upregulation of HSP47 and collagen type III in the dermal fibrotic disease, keloid. *Biochem Biophys Res Commun* **280** ; 1316-1322 2001.
 - 25) Wang, Z. L., Inokuchi, T., Ikeda, H., Baba T. T. *et al.* : Collagen-binding heat shock protein HSP47 expression during healing of fetal skin wounds. *Int J Oral Maxillofac Surg* **31** ; 179-184 2002.
 - 26) Ohba, S., Wang, Z. L., Baba, T. T., Nemoto, T. K. *et al.* : Antisense oligonucleotide against 47-kDa heat shock protein (Hsp47) inhibits wound-induced enhancement of collagen production. *Arch Oral Biol* **48** ; 627-633 2003.
 - 27) 櫻井裕子, 奥山典子, 玉村清治, 小澤 亮ほか : 炭酸ガスレーザーパルス波照射に対するラット口腔粘膜の組織反応. *口科誌* **56** ; 341-349 2007.
 - 28) 大井章史 : 創傷治癒における線維芽細胞の超微細構造的変化. *金沢大十全医学会誌* **91** ; 923-938 1982.
 - 29) Rudolph, R., Guber, S. and Woodward, M. : Inhibition of myofibroblasts by skin graft. *Plast Reconstr Surg* **63** ; 473-480 1979.
 - 30) Gabbiani, G., Ryan, G. B. and Majno, G. : Presence of modified fibroblasts in granulation tissue and their possible role in wound contraction. *Experientia* **27** ; 549-550 1971.
 - 31) Zeinoun, T., Nammour, S., Dourov, N., Aftimos, G. *et al.* : Myofibroblasts in healing laser excision wounds. *Lasers Surg Med* **28** ; 74-79 2001.

著者への連絡先 ; 園田正人 (〒963-8611) 郡山市富田町字三角堂31-1 奥羽大学歯学部口腔外科学講座
 Reprint requests : Masahito SONODA, Department of Oral Surgery, Ohu University School of Dentistry 31-1 Misumido, Tomita, Koriyama, 963-8611, Japan