

炭酸ガスレーザー凝固モード照射に対する組織反応

—照射条件が壊死範囲ならびに修復過程に及ぼす影響について—

玉村 清治 奥山(石坂)典子 櫻井 裕子 伊東 博司

Tissue Responses to CO₂ Laser in Coagulation Mode

— with Reference to the Effect of Irradiation Parameters on the Severity of Necrosis
and the Subsequent Tissue Recovery —

Kiyoharu TAMAMURA, Noriko OKUYAMA-ISHIZAKA, Yuuko SAKURAI and Hiroshi ITO

We conducted this study to examine the effect of laser irradiation parameters on the severity of necrosis and the subsequent tissue recovery.

Laser irradiation to the rat dorsal skin was achieved with the parameters of 600 μ sec. pulse duration and 6 msec. off time with different peak power (2.5–7.5 W) and irradiation time (10–40 sec.). On the 1st, 3rd, 5th, and 7th days after irradiation, the skin was dissected, fixed with paraformaldehyde, and embedded in paraffin. The sections were stained with H-E and Masson's trichrome for histological observation. Immunohistochemical detection of the stress protein Hsp 70 was performed to identify and measure the depth of necrosis.

On the 1st day after irradiation with peak power of 2.5 W, the surface dermis showed basophilic change with increased homogeneity of fiber structure, indicating collagen denaturation, whereas no visible histological changes were evident in the deeper dermis. In the 5.0 W groups, the area of collagen denaturation extended with occasional superficial evaporation. The demarcation of collagen denaturation by the infiltration of neutrophils occurred in the specimens of the 7.5 W groups.

When the peak power being equal, the longer the irradiation time, the deeper area underwent necrosis, but the difference between the irradiation times was not significant. On the other hand, with a constant energy density, the dermal necrosis deepened and the collagen denaturation widened as the peak power increased.

Re-epithelialization was complete on day 3 in the 2.5 W groups, while on day 7 in the 5.0 W groups. The replacement of the laser-made necrotic tissue by newly formed connective tissue was complete by day 7 in both groups, but no regeneration of hair follicles occurred in the 5.0 W groups.

The present study shows that higher peak power is more effective in increasing the depth of dermal necrosis than longer irradiation time, although the higher power results in more prominent tissue destruction and the resultant delay of tissue recovery.

Key words : CO₂ laser, rat skin, coagulation necrosis, Hsp70, wound healing

緒言

炭酸ガスレーザーの波長 $10.6\mu\text{m}$ は水に対し高い吸収係数を示す。このため含水量 $60\sim 70\%$ の生体組織に照射すると、レーザー光エネルギーの大部分が表面のごく浅い範囲で吸収され熱に変換、水分は瞬時に気化し、それとともに組織は蒸散、消失する。この特性により炭酸ガスレーザーは古くから口腔外科を含む外科的治療にメスの代用として用いられてきた¹⁻⁴⁾。一方、照射により重畳的に蓄積した熱が周囲正常組織に伝導して凝固壊死を引き起こし、このことが手術創の治癒を阻害するとして問題視された⁵⁾。照射により生じた熱が周囲組織へ完全に拡散してしまう時間、すなわち熱緩和時間以内に照射が終われば周囲への熱の影響は及ばないとされている^{6,7)}。そこで周囲組織への影響を極力抑え、かつ高い切開能力を維持するために、高出力短パルス幅でパルス発振を行い、それを繰り返す照射モードが用いられるようになった。一般にこのモードはスーパーパルス(SP)モードと称されている⁸⁻¹⁰⁾。

パルス発振では、1パルスあたりの出力(ピークパワー)は高いが平均エネルギー密度は低いことから、操作に時間的余裕が生まれ切開深度のコントロールが容易となった。この点は、粘膜直下に歯牙や骨が存在するという口腔領域の解剖学的特性から、より繊細な操作が要求される口腔病変の外科的治療にはきわめて都合がよい。またエネルギー量がコントロールしやすいため、従来型の切開、組織蒸散にとどまらず、以前はもっぱらNd:YAGレーザーや半導体レーザーでなされていた止血、病変の凝固、さらには疼痛緩和や低反応レベルレーザー治療(LLLT)への応用が試みられるなど、近年歯科臨床において炭酸ガスレーザーの適用範囲が広がっている¹¹⁻¹³⁾。本研究で用いた照射モードも表面白濁を目安に照射され、切開、蒸散よりも凝固壊死によって病変組織を除去しようとする点で、古典的炭酸ガスレーザーとは治療概念が異なっている¹⁴⁾。しかしながら、これら新しいレーザー療法の普及拡大にもかかわらず、治療効果をもたらす科学的根拠については十分に説明されていない。

そこで本研究は、組織凝固を主目的とした照射モードについて、照射に対する組織反応、特に照射条件と凝固壊死範囲の関係および照射後の修復過程を明らかにし、新しいレーザー療法に科学的根拠を与えることを目的に行われた。なお実験部位として、規格化された条件での検索が容易なことからラット背部皮膚を選んだ。

材料および方法

1. 実験動物

実験動物として生後7~9週齢(体重250~300g)の雄性Wistarラット25匹を用いた。飼育は室温 23°C 、湿度65%に調節された動物施設において、水道水とラット用固形飼料(MF, オリエンタル酵母社, 東京)を自由に摂取させて行った。実験に当たっては奥羽大学動物実験規程(平成20年4月1日施行)を遵守した。

2. レーザー照射

レーザー発振装置としてパナラスC05Σ(パナソニック四国, 松山)を、照射モードとしてSPモードを用いた。このモードはパルス幅 $600\mu\text{s}$ 、休止時間6msおよび2.5Wから7.5Wまで変動可能なピークパワーでパルス発振を行い、ハンドピースに装着したコンタクトチップを通して種々のスポットサイズで非焦点ビームを照射する。本研究では直径1.5mmのビームスポットを用いた。

ペントバルビタール麻酔後、剃毛した背部皮膚表面にチップの先端を垂直方向で軽く接触、固定し、ピークパワー2.5, 5.0, 7.5W、照射時間10, 20, 30, 40秒の組み合わせで規格化された照射を行った。なお、それぞれの照射条件におけるエネルギー量を表1に示す。照射は各ラットあたり6ないし8か所、約1.0cmの間隔で行った。

3. 標本作製

照射1, 3, 5, 7日後、ペントバルビタール麻酔下に皮膚を採取し、4%パラホルムアルデヒドを含むリン酸緩衝で固定、パラフィンに包埋し、厚さ $4\mu\text{m}$ の切片を作製した。照射による組織変化と修復過程を形態学的に検索するため、切片にヘマトキシリン・エオジン(H-E)染色、マッソン・トリクローム染色を施した。

4. 免疫組織化学的染色

表1 照射条件とエネルギー量

ピークパワー (W)	時間 (秒)	エネルギー量 (J/cm ²)
2.5W	20	577
2.5W	30	866
2.5W	40	1,154
5.0W	10	577
5.0W	20	1,154
7.5W	10	866

通常の組織学的検索方法でレーザー照射による壊死組織の範囲を同定することは困難であることから、熱を始めとする様々な環境ストレスから自らを守るとともに、アポトーシスから免れるために細胞内での発現が増強する熱ショックタンパク質 (Hsp) を免疫組織化学的に検出し、その発現を細胞の生死を分ける境界線の指標とした。本研究では熱ストレスに対し特に鋭敏に反応するとされる Hsp70ファミリーを用いた^{14,15)}。免疫染色は Labeled streptavidin biotin (LSAB) 法により行った。脱パラフィン、内因性ペルオキシダーゼ除去および非特異的タンパク質吸着防止を行ったのち、切片に一次抗体としてマウス抗ヒト Hsp72/73モノクローナル抗体 (1:100, CALBIOCHEM, Germany) を室温で60分反応させた。次いで、二次抗体としてビオチン標識ヤギ抗マウス IgG (1:100, CHEMICON, Canada), さらにペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン (ニチレイ, 東京) をそれぞれ室温で30分反応させたのち DAB 基質キット (ニチレイ, 東京) にて発色を行った。核染色はヘマトキシリンで行った。一次抗体に代えて非免疫正常マウス血清で反応を行った切片を陰性対照とし、陽性反応が全く見られないことを確認した。

5. 形態計測

照射条件が凝固壊死範囲におよぼす影響を明らかにするために、照射1日後の標本で Hsp70 の発現を標識として壊死部の深さを計測した。計測には、各試料の連続切片から100 μm 毎に抜き出した切片を用い、Axio Imager 正立顕微鏡 (Carl Zeiss Co., Ltd. Germany) に設置された専用ソフト AxioVision LE 4.6 を使用し、皮膚表面から壊死層最深部における Hsp70 陽性線維芽細胞ま

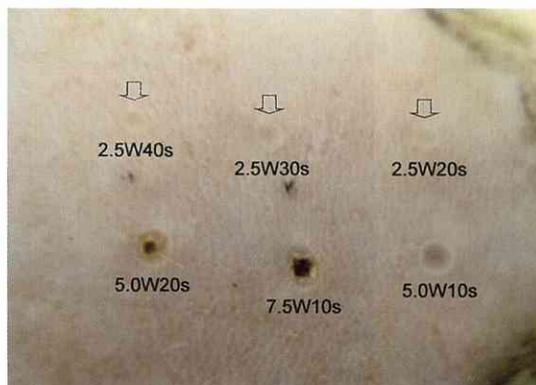


図1 ラット背部皮膚照射直後の肉眼像

での直線距離を計測した。得られた計測値の中で最大値を各試料の計測値とし、Kruskal Wallis H test および Mann Whitney U test によって統計学的処理を行った。

結 果

1. 肉眼所見

照射直後の肉眼所見を図1に示した。ピークパワー2.5W, 20秒照射で照射面が軽度白濁し、照射時間の延長とともに黄変する傾向を示したが実質欠損はみられなかった。ピークパワー5.0W, 10秒間照射で照射部は黄変し、5.0W, 20秒で全体が軽度隆起するとともに中央部が褐色を呈した。7.5W, 10秒照射では、照射部全体が褐色を呈し浮腫状に隆起した。

2. 組織学的所見

ピークパワー2.5W, 照射時間20秒, エネルギー密度577J/cm²の条件で照射し、1日後の組織像を図2に示した。照射部表面は凝固壊死に陥った表皮で覆われていた。照射部真皮の表層が H-E 染色で好塩基性を増し (図2A), また同部ではマッソン・トリクローム染色で青色に染まる, コラーゲンの線維構造が緻密化していた (図2B)。高倍率で観察するとコラーゲン線維は線維構造の不明瞭化, 均質化傾向を示して明らかな変性所見を示した (図2C)。これより深層では, 線維芽細胞の消失, 毛包上皮細胞の核濃縮, 軽度の炎症細胞浸潤が観察されたが, コラーゲン線維が織りなす線維構造には変化が認められなかった (図2D)。

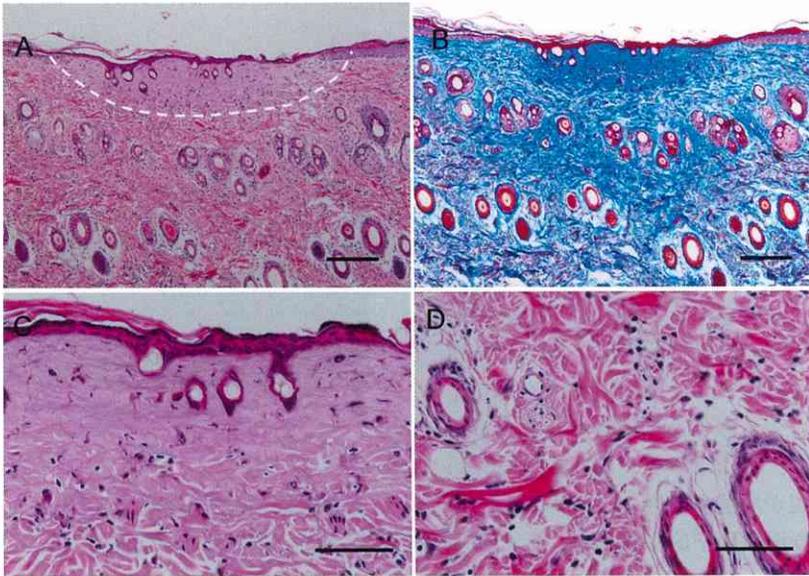


図2 ピークパワー2.5W, 照射時間20秒照射1日後

- A: 点線で境界された表層部が軽度の好塩基性を示すが、それ以外では変化を認めない。H-E染色, スケールバー; 200 μm 。
 B: “A”での好塩基性領域は、マッソン・トリクローム染色で密度を増しているが、深部では明らかな変化を認めない。スケールバー; 200 μm 。
 C: 表層部強拡大像。好塩基性領域での線維構造の喪失, 均質化等のコラーゲン変性所見が認められる。H-E染色, スケールバー; 100 μm 。
 D: 深部強拡大像。表面側で線維芽細胞の消失, 毛包上皮の萎縮が観察されるが、線維構造には変化が見られず、より深部は非照射部位と区別がつかない。軽度の炎症細胞浸潤がみられる。H-E染色, スケールバー; 100 μm 。

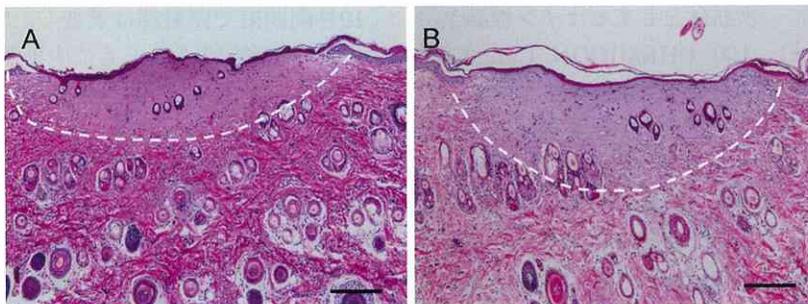


図3 ピークパワー2.5 W照射群1日後

- A: 30秒照射群, B: 40秒照射群。ともにコラーゲン変性領域(点線)が拡大しているが、表面には凝固壊死に陥った表皮が残存している。H-E染色, スケールバー; 200 μm 。

同じピークパワー(2.5W)で照射時間30秒, エネルギー密度866J/cm², および, 照射時間40秒, エネルギー密度1,154J/cm²で照射した後1日の組織像をそれぞれ図3A, 3Bに示した。照射時間が長くなるとともに表層変性コラーゲン線維の好塩基性均質化がより顕著になり, かつ, その範囲が

拡大したが, 表面には壊死表皮が残存し, 深部真皮での組織像は20秒照射群とほぼ同様であった。

ピークパワー5.0W, 照射時間10秒, エネルギー密度577J/cm²照射群1日後の組織像を図4Aに示した。この条件でのエネルギー密度は出力2.5W, 20秒照射群と同じである(表1)。表層変性コラー

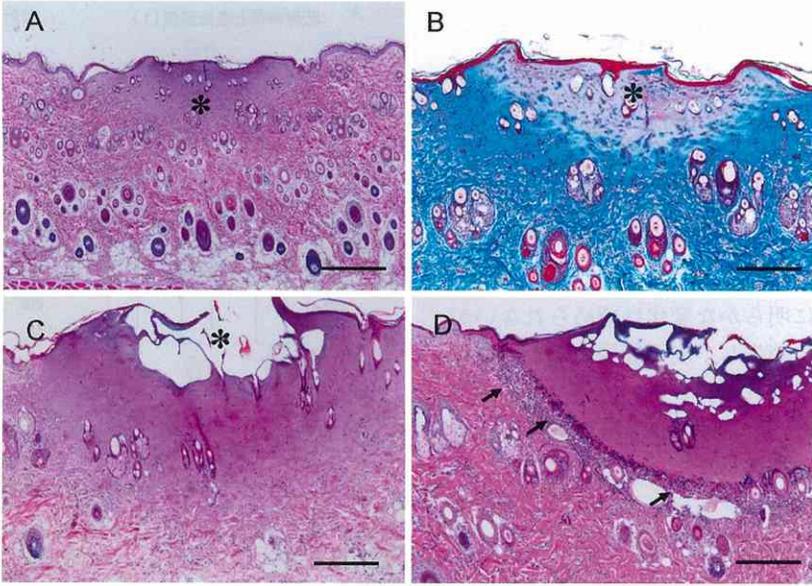


図4 ピークパワー5.0Wおよび7.5W照射群 1日後

- A：ピークパワー 5.0W，照射時間10秒。*：コラーゲン変性領域。H-E染色，スケールバー；200 μ m。
- B：“A”で観察されるコラーゲン変性領域は，マッソン・トリクローム染色では固有のコラーゲン染色性を失っている（*）。スケールバー；200 μ m。
- C：ピークパワー 5.0W，照射時間20秒。コラーゲン変性領域が拡大するとともに表面で気化，蒸散が生じている（*）。H-E染色，スケールバー；200 μ m。
- D：ピークパワー 7.5W，照射時間10秒。コラーゲン変性領域が密な好中球集積層（矢印）により分画されている。H-E染色，スケールバー；200 μ m。

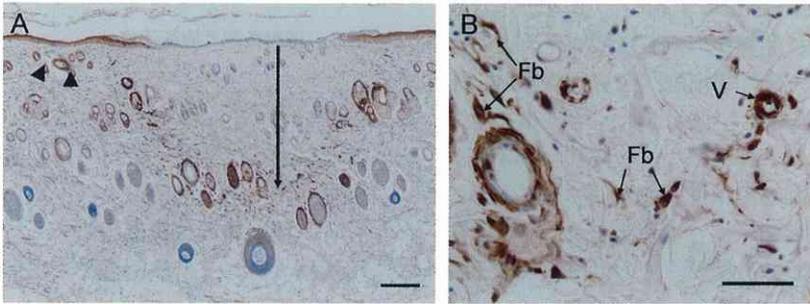


図5 Hsp70免疫組織化学

- A：ピークパワー 2.5W，照射時間20秒照射 1日後。照射部真皮では陽性細胞層が円弧を描いて観察される。非照射部では，表皮と表層部毛包（矢頭印）が陽性反応を示すが，それ以外の細胞は陰性。照射部表皮および真皮表層の毛包では陽性反応が消失している。垂直矢印は壊死範囲計測部位を示す。スケールバー；200 μ m。
- B：“A”深部強拡大像。線維芽細胞（Fb），毛細血管（V）が強い発現を示す。スケールバー；50 μ m。

ゲン線維領域がピークパワー 2.5W 群よりさらに拡大していたが，表面には凝固壊死表皮が残存していた。マッソン・トリクローム染色標本では，変性領域でコラーゲン線維特異的青色染色性が失

われていた（図4B）。ピークパワー 5.0W，照射時間20秒，エネルギー密度1, 154J/cm²照射群 1日後では，表層の変性コラーゲン領域がさらに拡大し，表面では時に組織水分の沸騰を示唆する所

表2 照射条件と壊死深度 (μm)

577 J/cm ²	2.5W 20秒	5.0W 10秒	—
	763.8±123.0	1,078.6±113.8	—
866 J/cm ²	2.5W 30秒	—	7.5W 10秒
	800.8±140.3	—	1,133.3±180.4
1,154 J/cm ²	2.5W 40秒	5.0W 20秒	—
	922.5±165.8	1,156.3±166.1	—

見が観察された (図4C)。深部真皮では、コラーゲン線維の走行に明らかな変化は認められないが、細胞成分が減少、消失し、皮下筋層では平滑筋細胞核の消失が観察された。

ピークパワー7.5W, 照射時間10秒, エネルギー密度866J/cm²照射群1日後では全例において, 好中球の密な浸潤によるコラーゲン変性領域の分画が行われていた (図4D)。深部真皮組織および皮下筋層での所見は5.0W, 20秒群と大差なかった。

3. Hsp70 免疫組織化学的染色および形態計測

レーザー照射による壊死の範囲を判定するために照射後1日の標本にHsp70免疫染色を施した。図5は2.5W, 20秒照射群の標本である。非照射領域では, 表皮ケラチノサイトおよび真皮表層の毛包上皮細胞それぞれにおける弱陽性反応以外, 陽性反応は全く認められなかった。照射部では真皮内にHsp70強陽性を示す細胞の集簇からなる帯状の領域が腕状曲線を形成して観察された (図5A)。陽性細胞は線維芽細胞, 血管内皮細胞, 毛包上皮細胞であった (図5A, 5B)。陽性帯よりも照射側では表皮および毛包上皮の陽性反応が消失していた。陽性反応領域は照射時間の延長およびピークパワーの増強に従って深部に及んだ。

各照射条件における壊死深度の計測値を表2および図6に示した。ピークパワー2.5Wでは, 照射時間20秒で平均763.8±123.0μm, 30秒で800.8±140.3μm, 40秒で922.5±165.8μmであった。5.0Wでは, 照射時間10秒で1,078.6±131.8μm, 20秒で1,156.3±166.1μmであった。ともに時間の増加とともに深度が増していたが, 互いの間に統計学的有意差はなかった (図6A)。一方, 同じエネルギー密度での比較, すなわちピークパワー2.5W, 照射時間20秒と5.0W, 10秒 (577J/cm²), 2.5W, 40秒と5.0W, 20秒 (1,154J/cm²), 2.5W, 30秒と7.5W, 10秒 (866J/cm²) では, い

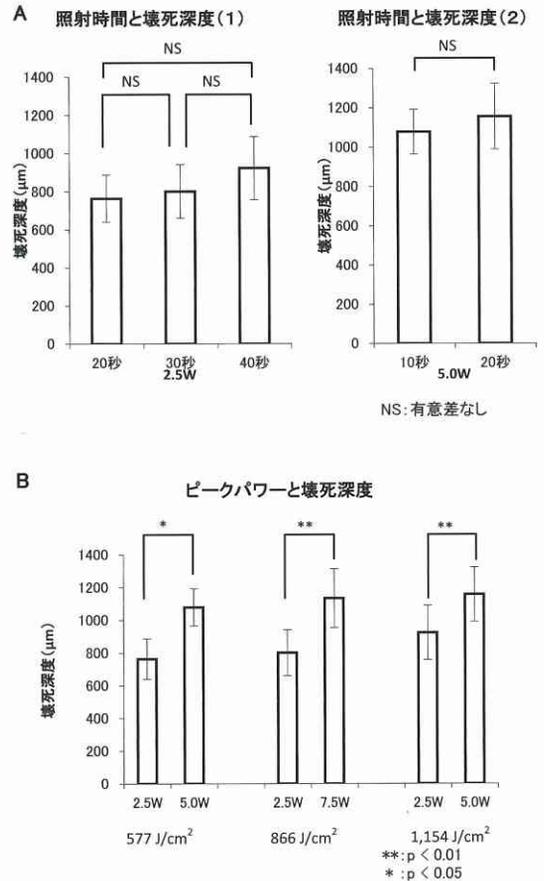


図6 照射条件と壊死深度

ずれにおいてもピークパワーが高くなると有意に深度が増した (図6B)。

4. 照射後の修復過程

炭酸ガスレーザー凝固モード照射後の修復過程について, ピークパワー2.5W, 照射時間40秒照射群と5.0W, 20秒照射群を対象に組織学的に検索した。エネルギー密度はともに1,154J/cm²である。

2.5W, 40秒照射群では, 照射3日後に再生表皮による被覆が完了していた (図7A)。再生表皮はコラーゲン変性領域の下部において伸展しており, 再生表皮の直上には変性コラーゲン遺残物が, 直下には滲出液がそれぞれ観察された。照射部真皮は既に線維芽細胞を伴った成熟コラーゲン線維で満たされており, 毛包の再生が, 上皮細胞の増

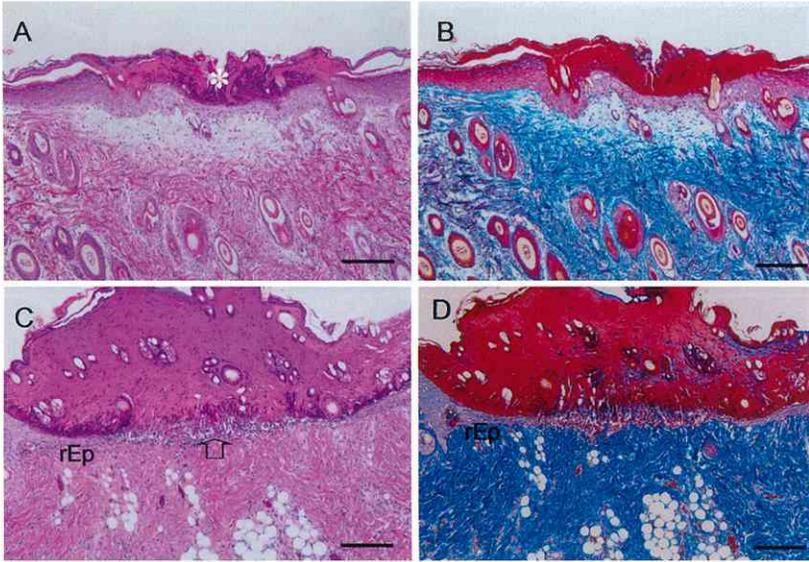


図7 照射3日後

- A, B: ピークパワー 2.5W, 照射時間40秒照射。再生表皮による創面の被覆が完了。表面に変性コラーゲンが残存 (*)。真皮では、壊死領域の大部分が結合組織で置換され、毛包の再生も進行している。A: H-E染色。B: マッソン・トリクローム染色。A, Bともスケールバー; 200 μm。
- C, D: ピークパワー 5.0W, 照射時間20秒照射。分画線 (矢印) が形成され、それに沿って表皮の伸展 (rEp) が観察されるが、全面被覆には至っていない。真皮では結合組織による置換が進行。毛包の再生はみられない。C: H-E染色。D: マッソン・トリクローム染色。C, Dともスケールバー; 200 μm。

殖を伴って観察された (図7B)。照射3日後の5.0W, 20秒照射群では、再生表皮が密な好中球浸潤層からなる分画線に沿って伸展していたが、表皮による被覆は完了していなかった (図7C)。照射部真皮は成熟コラーゲン線維束で満たされ、線維芽細胞の存在が確認されたが、毛包は認められなかった (図7D)。

照射7日後の2.5W, 40秒照射群では、表面がやや陥凹し、表皮直下に幼弱な結合組織の層が観察されたが、再生表皮および深部再生真皮ともに周囲とほぼ同じ組織像を示していた (図8A, 8B)。5.0W, 20秒照射群では、再生上皮による被覆が完了し、コラーゲン変性領域は脱落、消失していたが、表面が陥凹し、表皮が不規則に肥厚していた。その直下には2.5W, 40秒照射群より広い領域の幼弱な結合組織が観察された (図8C, 8D)。深部の再生真皮は成熟コラーゲン線維束より構成され、周囲との間に明らかな違いはみられなかつ

たが、毛包の再生は認められなかった。

再生真皮組織内での炎症反応は、分画線を除いて、両群ともに軽微であった。

考 察

現在国内では数社から歯科用炭酸ガスレーザーが市販され、日常の歯科臨床で使用されている。いずれの機種もパルス発振モードを備え、切開、蒸散に加え止血、凝固を使用目的に含めているが、それぞれが独自の照射条件、照射方法を設定しており統一されていない。従って本研究で得られたデータ、とりわけ数値は使用機種および使用モード特異的であり、数値自体に普遍性はない。加えてラット皮膚とヒト口腔粘膜との違いを考慮すると直ちに臨床での共通指標になるものではない。しかしながら組織凝固を目的に照射した場合の基本的組織反応には、機種間あるいは対象組織間での大きな違いはないと考える。

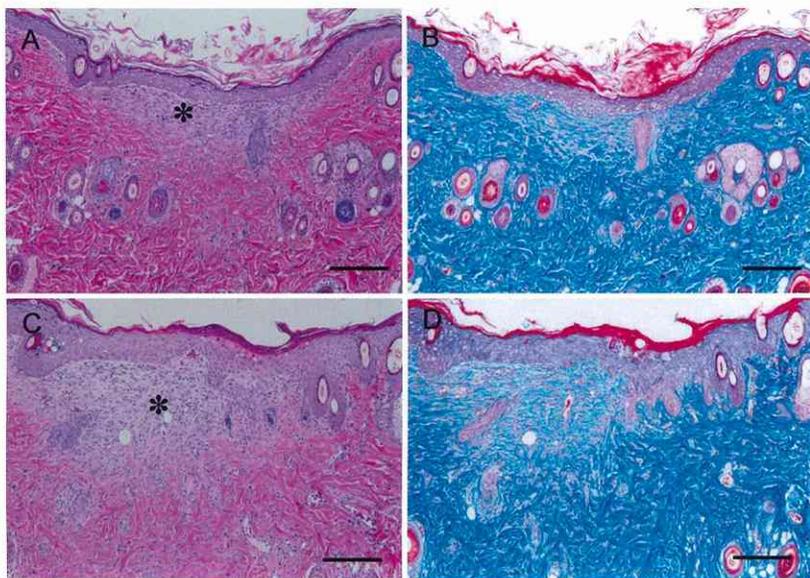


図8 照射7日後

- A, B: ピークパワー 2.5W, 照射時間40秒照射。表面陥凹を示すが、表皮はほぼ正常の形態を回復。真皮では、一部幼弱な結合組織(*)を残すも大部分が周囲と同様の組織像を示す。A: H-E染色。B: マッソン・トリクローム染色。A, Bともスケールバー; 200 μ m。
- C, D: ピークパワー 5.0W, 照射時間20秒照射。表皮の被覆が完了するも不規則な肥厚を示す。真皮では結合組織による置換が完了しているが、表皮直下に、2.5W照射群より広い範囲の幼弱な結合組織(*)を残す。毛包の形成はみられない。C: H-E染色。D: マッソン・トリクローム染色。C, Dともスケールバー; 200 μ m。

ラット背部皮膚に、パルス幅600 μ sec, パルス間隔6 msecの発振モードにより、ピークパワーおよび照射時間を変えて炭酸ガスレーザー照射を行なったところ、約800 μ mから1,200 μ mの深度で凝固壊死層が形成された。口腔粘膜表在性病変の多くは深さ500 μ mの範囲内にある。したがってこの深度は、それらの治療には充分であると考えられる。炭酸ガスレーザーによる組織加工効果は光熱作用によってもたらされるが、組織に照射された光エネルギーのほとんどは表面付近で水に吸収され深達しない。従って深部で観察された組織壊死は表面で生じた熱の伝導によるものと見なされる。一方、表面での組織蒸散は極めて限定的であった。このことから、本研究で用いた照射モードおよびエネルギー密度は、組織を気化、蒸散させるには至らないが、深部組織への伝導による光熱作用を及ぼすことについては効果的であるといえる。照射周囲への熱伝導を左右する要因

にレーザー波長および組織特異的熱緩和時間、パルス幅、パルス数、パルス間隔があるが²⁾、これらの要因と実際の組織変化との相関について、レーザー工学に基づいた理論説明はほとんどなされていない。今後の研究が待たれる。

より深部まで壊死させるためには、照射時間を延長してエネルギー密度を高めるよりも、同じ密度でピークパワーを高める方がより効果的であった。一方、コラーゲン線維の変性(denaturation)はピークパワーが高くなるほど顕著になり、7.5Wではほとんどの場合において1日以内に変性層の分画、排除機転が活性化し、早期に実質欠損を生じた。これに対し、低ピークパワーで時間をかけた場合にはコラーゲンの変性は抑えられ、より速やかな再生結合組織による置換、修復が行われた。本照射モードの臨床使用に際しては、これらの特性を考慮して対象となる病変の種類、範囲に合わせたピークパワーと照射時間の組み合わせを確立

していく必要があると考える。

レーザー照射による壊死層は、表層の線維構造の変性均質化が明らかな部分すなわちコラーゲン変性領域と、通常の組織染色では変化が明かでない深部の層とに分けられた。西坂¹⁶⁾はレーザーによる生体組織への光熱作用を温度と組織変化の関係を基に相Iから相Vの5段階に分けている。それによると、本研究で観察されたコラーゲン変性領域では温度が60℃以上に達し、深層は42℃から60℃の範囲であったことになる。コラーゲン変性領域はピークパワーの強さに比例して厚さを増し、時間とともに好中球浸潤とその部への再生上皮の進展により深層と分画され最終的には剥脱した。かつてはこの領域の存在がレーザー創の治癒過程を遅らせる元凶とされてきた^{5,8)}。しかしながら本実験モデルでは、分画線に沿って速やかな再上皮化が行われ、深層からの活発な細胞増生がみられたことから、この領域の存在が修復を阻害しているとは考えられない。この領域は、ほとんどの例で、上皮の再被覆が完了するまでは残存し照射部、すなわちレーザー創表面を覆っており、むしろ感染防止を含めたレーザー創の保護に一定の役割を演じている可能性がある。このことは分画線形成を除き、修復中のレーザー創で炎症細胞浸潤が少なかったことからもうかがえる。

形態変化が明らかなコラーゲン変性領域に比べ、深層では変化が明らかでなかった。表層に近い部分で細胞の変性や消失が観察されたものの線維構築に変化は見られず、より深部では細胞の存在が確認されたところから、健常部との境界が不明瞭であった。そこで本研究では熱ショックタンパク質 Hsp70の発現を壊死範囲識別の指標にした。熱ショックタンパク質またはストレス蛋白質は、熱を初めとする様々な環境ストレスに遭遇した細胞で合成され、それによって死に瀕した細胞を救出する¹⁵⁾。また近年、細胞死の一形態であるアポトーシス阻害を阻害する因子として、ストレスタンパクの役割も注目されている¹⁷⁾。従ってその発現はレーザー照射に対する細胞生存の限界域を表し、それより照射側の細胞は、たとえ組織学的に健常な細胞形態を保っていたとしても、実際はすでに死に陥りつつあるといえる。このことは

Yamasaki ら¹⁴⁾の電子顕微鏡観察で証明されている。

以上のような壊死組織は、照射3日後には大部分が組織構築を維持したまま、組織学的排除機転を伴うことなく、新たな結合組織によって置換されていた。同じ照射モードによりラット歯肉にレーザー照射を行いその後の治癒過程を検索した Yamasaki ら¹⁴⁾も同様の所見を観察し、残された線維組織が、進入する細胞成分の足場としての役割を果たしていると推測している。さらに Yamasaki ら¹⁴⁾は、壊死層に接する領域で細胞増殖活性が亢進していることを示し、レーザー照射による壊死層が治癒を妨げるのではなくむしろ促進していることを示唆している。この過程には、レーザー光の光熱作用の1つとしての光生物学的活性化反応¹⁸⁾が重要な役割を演じている可能性がある。

本研究で使用した凝固モードは、臨床的には、表面が白濁する程度に留めた照射で効果を上げている。このメカニズムを本研究結果から類推すると、照射による病変組織の壊死とその後の排除機転、肉芽組織による置換、すなわち組織リモデリングにより病変の除去と治癒が図られると考えられる。この点は、真皮の凝固壊死とその後のリモデリングにより皮膚の皺取りを図る最新のレーザー療法 fractional photothermolysis¹⁹⁾の治療概念と共通している。従来、病変組織の凝固による治療には、深達性のある Nd:YAG レーザー²⁰⁾や半導体レーザー²¹⁾が用いられてきた。これらのレーザーでは、光エネルギーは表面で吸収されることなく組織中に浸透、散乱して組織凝固、蒸散をもたすが、このことは一方で、組織加工深度のコントロールを難しくし、ことに口腔領域においては近接する骨や歯に偶発的損傷を及ぼす危険がある。これに対し炭酸ガスレーザー凝固モードは照射条件の選択により加工深度のコントロールが容易に行いうる点で口腔粘膜病変の治療にはより有効であると考えられる。

ま と め

本研究では、ラット背部皮膚を実験部位とし、炭酸ガスレーザー凝固モード照射に対する組織反

応、特に凝固壊死範囲に及ぼすピークパワーと照射時間の関係、および照射後の修復過程を検討した。

照射1日後、ピークパワー2.5W照射では、表面を壊死表皮が覆い、真皮表層で線維組織の好塩基性化と均質化傾向が見られたが、深部に向かうに従い健常組織との違いが不明瞭になった。ピークパワー5.0Wでは真皮表層でコラーゲンの変性均質化が進行し、7.5Wではコラーゲン変性領域が分画され早期に脱落した。Hsp70発現を指標として測定した壊死深度は約800 μ mから1,200 μ mで、照射時間の長さに応じて深くなったが、同じピークパワーの間では統計学的有意差はみられなかった。一方同じエネルギー密度で比較したところピークパワーが高いほど有意に深度が増した。

ピークパワー2.5W照射群では、照射後3日に新生表皮による再被覆が完了し、真皮の大部分が再生毛包を伴った新生結合組織で置換されていた。5.0W照射群では、3日後真皮での結合組織再生は進行していたが、表皮による被覆完了は照射後7日においてであり、照射7日後でも毛包の再生は認められなかった。

以上の結果から、壊死深度を増すためには、照射時間を延長するよりピークパワーを高める方がより効果的であること、および、ピークパワーを高めるとコラーゲン変性を促進して結果的に修復を遅らせることが明らかになった。したがって臨床使用に際しては、病変の種類、拡がり、治療目的および治癒速度を考慮して、適切なピークパワーと照射時間を選択する必要がある。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御専門の立場からの御指導を賜りました本学口腔外科学講座山崎信也教授ならびに歯科保存学講座木村裕一教授に深謝いたします。

本論文の要旨は第48回奥羽大学歯学会（平成20年11月8日 郡山）において発表した。

文 献

1) Hall, P. R. : The heating of tissues incised by carbon dioxide laser. *Br. J. Surg.* **58** ; 222-225 1971.

- 2) Fisher, S. E., Frame, J. W. : The effect of the carbon dioxide surgical laser on oral tissues. *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.* **22** ; 414-425 1984.
- 3) Thomson, P. J., Wylie J. : Interventional laser surgery : an effective surgical and diagnostic tool in oral precancer management. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* **31** ; 145-153 2002.
- 4) Ishii, J., Fujita, K., Komori, T. : Laser surgery as a treatment for oral leukoplakia. *Oral Oncol.* **39** ; 759-769 2003.
- 5) Luomanen, M., Meurman, J. H., Lehto, V.-P. : Extracellular matrix in healing CO₂ laser incision wound. *J. Oral Pathol.* **16** ; 322-331 1987.
- 6) Anderson, R. R., Parrish, J. A. : The optics of human skin. *J. Invest. Dermatol.* **77** ; 13-19 1981.
- 7) 菊池 眞 : 1. レーザー医学の基礎。レーザー治療 : 最近の進歩 (波利井清紀 監修, 谷野隆三郎 編著) 第2版 ; 3-17 克誠堂出版 東京 2004.
- 8) Hobbs, E. R., Bailin, P. L., Wheeland, R. G., Ratz, J. L. : Superpulsed lasers : Minimizing thermal damage with short duration, high irradiance pulses. *J. Dermatol. Surg. Oncol.* **13** ; 955-964 1987.
- 9) Walsh, J. T., Flotte, T. J., Anderson, R.R., 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.
- 10) Fitzpatrick, R. E., Ruiz-Esparza, J., 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.
- 11) 大浦教一 : 4 歯周外科処置の補助への応用。歯科用炭酸ガスレーザーの臨床-技術編- (松本光吉編著) 第2版 ; 55-58 口腔保健協会 東京 2006.
- 12) 広江雄幸 : 4 術後疼痛の緩和および術後の開口障害の予防への応用。歯科用炭酸ガスレーザーの臨床-技術編- (松本光吉編著) 第2版 ; 66-68 口腔保健協会 東京 2006.
- 13) 田島直人 : ラット脛骨組織の骨形成能に対する炭酸ガスレーザー照射の影響について。日レ歯誌 **16** ; 23-30 2005.
- 14) Yamasaki, A., Tamamura, K., Sakurai, Y., Okuyama, N., Yusa, J., Ito, H. : Remodeling of the rat gingiva induced by CO₂ laser coagulation mode. *Lasers Surg. Med.* **40** ; 695-703 2008.
- 15) Welch, W. J. : Mammalian stress response : cell physiology, structure/function of stress proteins, and implication for medicine and disease. *Physiol. Rev.* **72** ; 1063-1081 1992.

- 16) 西坂 剛：レーザー医療への応用—基礎的知識—。人工臓器 **16**；1763-1770 1987.
- 17) Gabai, V. L., Sherman, M. Y. : Invited review : interplay between molecular chaperones and signaling pathways in survival of heat shock. *J. Appl. Physiol.* **92** ; 1743-1748 2002.
- 18) 大城俊夫：痛みに対する低反応レベルレーザー療法と応用に関する再考。日レ医学誌 **9** ; 33 1988.
- 19) Hantash, B. M., Bedi, V. P., Kapadia, B., Rahman, Z., Jiang, K., Tanner, H., Chan, K. F., Zachary, C. B.: *In vivo* histological evaluation of a novel ablative fractional resurfacing device. *Lasers Surg. Med.* **39** ; 96-107 2007.
- 20) Bradley, P. F. : A review of the use of the neodymium YAG laser in oral and maxillofacial surgery. *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.* **35** ; 26-35 1997.
- 21) 菊池 真：9 半導体レーザー。レーザー治療：最近の進歩(波利井清紀 監修, 谷野隆三郎 編著) 第2版；64-70 克誠堂出版 東京 2004.

著者への連絡先：玉村清治，(〒963-8611) 郡山市富田町字三角堂31-1 奥羽大学歯学部口腔病態解析制御学講座口腔病理学分野

Reprint requests : Kiyoharu TAMAMURA, Division of Oral Pathology, Department of Oral Medical Sciences, Ohi University School of Dentistry 31-1 Misumido, Tomita Koriyama, 963-8611 Japan