レーザー皮膚接合に関する実験的研究

—創傷治癒過程の組織形態学的観察—

西 園 浩 文

Morphological Study of the Wounds Approximated with Nd:YAG Laser Irradiation

Hirofumi Nishizono

(Kagoshima University)

An experimental study was carried out using the Nd:YAG laser by approximating surgically cut skin wounds in guinea pigs. The wound healing condition was observed by scanning electron microscopically using a tissue-maceration method with an NaOH solution characterizing tissue collagen as well as HE staining for the paraffin specimen. Tensile strength of the wound tissue was measured. The study was carried out under intraperitoneal anesthesia with Ketamine solution on the 7th, 21th and 42th postoperative day and the findings compared with those obtained in the control animals the incised wounds of which was closed by the silk suture methods.

The incised skin wounds following laser approximation showed less scarring and faster healing than the conventional silk suture technique. The advantages of this new laser technique were follows; 1) uniformity, 2) low scar formation, 3) strong approximation, and 4) rapid wound healing.

This laser technique will be beneficial as a new procedure of skin suture in clinical practice.

Key words: Nd:YAG laser, skin suture, wound healing

はじめに

1960年, Maiman がルビーを用いてレーザーの発振に成功して以来¹⁾, レーザーは様々な領域で応用されている. レーザー医学の分野でも1964年にはルビーレーザーを用いた光凝固装置が網膜剝離に対して用いられている. それ以後外科領域へのレーザーの応用は急速に発展を遂げており, なかでも Nd : YAGレーザー, CO₂レーザー, Ar レーザーは組織の切開, 凝固, 気化

蒸散作用などを目的として頻用されている. 我々の教室では, Nd : YAG レーザーにセラミック製のプローブを装着し組織に接着しながら切離することを可能にし, 様々な手術に応用しかなりの成果を挙げている^{2)~4)}. これらのいわゆる高出力レーザーの医学への応用と共に, 近年, 低出力レーザーの医学への応用が試みられ, laser biostimulation という新しい概念が確立されている⁵⁾. それはレーザーによる難治性潰

瘍の治療, 創傷治癒促進, 光化学療法などに応用されている^{5)~11)}. 既に我々は, 予備実験として低出力Nd:YAGレーザーの皮膚接合への応用を試み, 優れた治療手技であることを報告した¹²⁾. 今回, 著者はレーザー皮膚接合部の創傷治癒過程をより客観的かつ詳細に解明する目的で, 実験動物を用いて経時的に組織形態学的観察を試みた. また同時に創傷部組織の抗張力を測定し, 接合部の物理学的特徴についても検討した. その結果, 若干の興味ある知見が得られたので報告する.

予備実験

体重 250 g~350 g のモルモット 5 匹を用いた. モルモットはケタミンにて麻酔し筋弛緩剤の投与下に実験に供せられた. まず背部を剃毛消毒した後(図1-①), メスにて約 3 cm の同長の切開創を背部 8 カ所ずつ作製し(図1-②), 一侧の 4 カ所の創では直ちに創の両端を鑷子にて接合させた状態で(図1-③), その全長に 4

W の Nd:YAG レーザー (SLT model CL50) を非接触で連続照射し皮膚接合を行った(図1-④). 反対側は従来の絹糸による結節縫合を行った. 図1-⑤はレーザーにより完全に接着した創を示す. そして最後に念のため離開を防止する目的でサージカルテープで術創を固定した(図1-⑥).

図2 a. レーザー皮膚接合直後
b. 絹糸結節縫合直後

図1 低出力Nd:YAGレーザーを用いた皮膚接合の方法

図2-a, bは, それぞれレーザー皮膚接合直後, および従来の絹糸による結節縫合直後の創傷の肉眼的所見である. 図3-a, bは, 創傷作製後7日目の, 図4-a, bは, 創傷作製後21日目のレーザー皮膚接合および絹糸による結節縫合の肉眼的所見である. レーザー皮膚接合では, 従来の絹糸による結節縫合に比べ異物反応がなく, 痂皮の脱落は早く, 炎症の軽微な創傷治癒過程が得られている.

以上の予備実験から, レーザー皮膚接合法はかなり有効な手術手技と考え, 以下のような研究を行った.

研究方法

体重 250 g~350 g のモルモット 50 匹を用いた. 創傷作製は背部に一匹につき 1 カ所とした.

図3 a. レーザー皮膚接合7日目
b. 絹糸結節縫合7日目

図4 a. レーザー皮膚接合21日目
b. 絹糸結節縫合21日目

予備実験と同様の手技でレーザー皮膚接合を行った. コントロール群は従来の絹糸による結節縫合を行った. 術後, 全ての動物は鹿児島大学医学部附属動物実験センター内の飼育室で同一条件下で飼育観察された. 抗生物質の投与は行わなかった. 2匹については, 無処置皮膚の対照として走査電顕的観察に供された. 実験動物は全てケタミンによる全身麻酔下に屠殺後創傷部組織を摘出した. 各3匹ずつ術後7日目, 21日目, 42日目に摘出し, 光顕的, 走査電顕的観察を行った. また創傷部組織の抗張力の測定は同様の麻酔下に各5匹について術後7日目, 21日目, 42日目に目的とする創傷部組織を鴨下精衝所製ばねばかりを改良した自家製抗張力測定器を用いてそれぞれ測定した. 組織形態学的観察としては, パラフィン切片を作製し, HE染色による病理組織学的変化の光顕的観察を行うとともに創傷治癒部の繊維構造の超微形態をNaOH消化法による走査電顕的観察で究明した. NaOH消化法は大谷らの方法に準じて行った¹³⁾¹⁴⁾. すなわち, 組織を2.5%グルタルアルデヒドにて1日間固定後, 室温にて10%NaOHに3日間放置した. その後蒸留水にて7日間洗浄し, 1%タンニン酸3時間, 1%オスミウム2時間にて導電染色を行い上昇アルコール系列にて脱水, ヒプチルアルコールで凍結乾燥を行い白金パラジウムにてコーティングを行った. 試料の観察は日立S-4000型走査電子顕微鏡にて行った.

研究成績

1) 肉眼的観察成績

予備実験でも観察されたようにレーザー皮膚接合法による創傷部は, 絹糸による結節縫合のそれに比べ痂皮の脱落が早く, 炎症, 瘢痕形成も軽微な良好な創傷治癒が得られた.

2) 光顕的観察成績

図5は絹糸結節縫合, 図6はレーザー皮膚接合のHE像である. aは術後7日目, bは21日目, cは42日目の所見である. 術後7日目の結節縫合による創ではまだ痂皮が残存している

のに対し、レーザー皮膚接合では痂皮の残存もなく良好な上皮化を認めた。また絹糸結節縫合では皮膚乳頭部の乱れも大きく瘢痕部もレーザー皮膚接合に比べて広い傾向にあった。術後21日目、42日目の所見でもレーザー皮膚接合による創傷部が炎症細胞の浸潤がやや軽微で、瘢

痕形成部が狭く良好な接着を示していた。しかし両者の創傷治癒過程自体には大きな違いは認められなかった。

3) 走査電顕的観察成績

無処置のモルモットの皮膚では皮線に沿って大小様々な円形の構造の毛包と規則正しく配列

図5 絹糸結節縫合の HE 像

- a. 絹糸結節縫合 7 日目
- b. 絹糸結節縫合 21 日目
- c. 絹糸結節縫合 42 日目

図6 レーザー皮膚接合の HE 像

- a. レーザー皮膚接合 7 日目
- b. レーザー皮膚接合 21 日目
- c. レーザー皮膚接合 42 日目

図7 無処置皮膚の弱拡大像

図10 絹糸結節縫合7日目
写真中央縦方向に膠原繊維の欠損を認める。

図8 無処置皮膚の強拡大像

図11 レーザー皮膚接合7日目

図9 切開直後の膠原繊維強拡大像

図12 レーザー皮膚接合7日目、切開創付近の拡大像

する膠原繊維が認められた(図7). 強拡大像ではこの膠原繊維の直径は約40 nmであり, 皮線に沿って少しうねるように存在していることが分かった(図8). 切開直後では切開線に沿って膠原繊維が鋭的に断列している様子が観察された(図9). 絹糸結節縫合7日目では切開線に沿って膠原繊維の欠損が認められた(図10). レーザー皮膚接合7日目では膠原繊維の修復が絹糸結節縫合より明らかに進んでおり, より密に接合していた(図11). 拡大すると膠原繊維欠損部分に創周囲および創深部から乳頭状に伸び

る膠原繊維束が観察された(図12). 更にこの乳頭状膠原繊維束を拡大すると膠原繊維が網目状に不規則に集まった構造であり, その先端部分は繊維が断裂しておらず連続した繊維から形成されていた(図13). 絹糸結節縫合21日目では, 膠原繊維配列に軽度の乱れがあるものの組織修復はほぼ終了しているが, 絹糸による創と直交する膠原繊維の乱れが認められた(図14). レーザー皮膚接合21日目では組織の修復はほぼ終了していた(図15). レーザー皮膚接合では絹糸を用いないのでそれによる膠原繊維の乱れもなく

図13 レーザー皮膚接合7日目, 切開創付近の乳頭状構造の強拡大像

図15 レーザー皮膚接合21日目

図14 絹糸結節縫合21日目
横方向に絹糸による膠原繊維配列の乱れを認める.

図16 絹糸結節縫合42日目

創傷自体も絹糸結節縫合に比べて狭く良好な治癒機転が得られていた。絹糸結節縫合42日目でもまだ絹糸による膠原繊維配列の乱れが認められた(図16)。レーザー皮膚接合42日目では組織の修復はほぼ完了していた(図17)。レーザー皮

図17 レーザー皮膚接合42日目

図18 レーザー皮膚接合42日目、治癒部分の強拡大像

膚接合42日目の治癒部分の強拡大像では、修復された部分は直径約 20～40 nm の膠原繊維が不規則に網目状に配列しており無処置の部分とは明らかに異なった構造を呈していた(図18)。絹糸結節縫合42日目の治癒部分も同様な構造であり両者に大きな違いは認められなかった。

以上の光顕的、走査電顕的観察成績を総括し、レーザー皮膚接合と絹糸結節縫合の特徴を対比したのが表 1 である。

4) 抗張力試験

表 2 は抗張力試験の結果を示したものである。絹糸結節縫合 7 日目の抗張力は 35.36 g/mm² であり、これに対しレーザー皮膚接合法による

表 1 レーザー皮膚接合と絹糸結節縫合の比較

	痂皮脱落	組織間隙	再生繊維束
絹糸結節縫合	遅 い	広 い	粗大索状
レーザー接合	早 い	狭 い	微細乳頭状

図19 拡張力獲得の経時的変化

表 2 抗張力の比較

	7 日後	21 日後	42 日後
絹糸結節縫合	35.36 ± 2.2	127.10 ± 4.7	714.60 ± 25.1
レーザー接合	46.38 ± 2.9	142.42 ± 5.8	757.38 ± 20.6
mean ± S.D (g/mm ²) * p < 0.01 ** p < 0.002 *** p < 0.001 (n = 5)			

創傷部組織では 46.38 g/mm^2 であり、0.1%の危険率で有意に絹糸結節縫合後の創傷部組織より抗張力が強かった。創傷作製後21日目、42日目でもそれぞれ0.2%、1%の危険率で有意にレーザー皮膚接合の創傷部組織の抗張力が強固な接着を形成していた。両者の抗張力獲得の経時的变化を対数グラフに示したのが図19である。両者の抗張力獲得の経過自体には、ほとんど相違が認められなかった。

考 察

1. 創傷治癒に関する文献的考察

A) 創傷部の細胞生化学

創傷治癒過程の研究は古くて新しい問題である。1966年、Ordman らは豚皮膚切開創治癒過程を組織学的に詳細に検討し、治癒過程に対する絹糸、サージカルテープの影響、抗張力の獲得過程等について報告している^{15)~17)}。1970年代になると Madden らの報告のように生化学的手技を用いた膠原繊維の生産、沈着と抗張力との関連等の研究が進み¹⁸⁾、最近では様々なサイトカインの白血球、リンパ球、繊維芽細胞等への影響が検討され、創傷治癒への新しい知見が蓄積されつつある^{19)~21)}。ひとたび損傷を受けると何らかの刺激によって損傷部周辺の細胞は活発に細胞分裂を始める。この反応は主として細胞膜成分から成る分解産物がメディエーターとされ、次いで遊走細胞が浸潤する。そして肉芽形成、欠損部の修復へと発展して行く。細胞の増殖とその停止、および膠原繊維をはじめとする細胞間組織の合成と分解はきわめて複雑に制御されておりそのバランスが崩れるとケロイドや肥厚性瘢痕等になるといわれている²²⁾²³⁾。

創傷治癒過程は一般に出血、血管収縮、透過性亢進、好中球遊走などの滲出期、マクロファージ、繊維芽細胞の浸潤、コラーゲン、基質、毛細血管の新生などの細胞浸潤期、コラーゲン蓄積、創収縮、瘢痕形成などの治癒期の三期に分けて考えられる。そしてこれらの反応は互いに密接に関連しており、極めて多くの因子が時間

経過とともに複雑に関与している。最近の分子、細胞レベルでの研究によって創傷治癒過程は巨視的にみれば再生(regeneration)と修復(repair)の過程であり、細胞レベルでは次のような現象を含んでいることが知られている。①受傷部位の組織破壊(炎症反応細胞群の働き)、②受傷部位の細胞による認知(創傷情報の走化性)、③細胞運動、④細胞分裂、⑤細胞外基質物質の破壊と再構築、⑥創傷治癒活動の不活化である。これに影響する因子としては、最近とくにサイトカインをメディエーターとした細胞間相互関連、繊維芽細胞の結合組織成分生成、酵素分泌等が注目され、その全貌が少しずつ解明されている。

繊維芽細胞は膠原繊維、種々の結合組織細胞間物質を合成する。組織障害後16~32時間で組織に浸潤し、2、3日後からまずヒアルロン酸、次いでコンドロイチン硫酸等を分泌し、プロテオグリカンとして立体網工状となりコラーゲンの足場作りをする。5日後頃から繊維芽細胞の周囲にルテニウムレッド陽性の細く蛇行したコラーゲンがファイブロネクチンとともに出現し、徐々に太くなり周期的横紋も表れ典型的コラーゲンとなっていく²⁴⁾²⁵⁾。繊維芽細胞は血小板由来のPDGF(血小板由来増殖因子)、EGF(上皮成長因子)、インターロイキン1、トランスフォーミング成長因子 β 、ファイブロネクチン、マクロファージなどによって活性化、動員されることが知られている。特にインターロイキン1はヘルパー2細胞を介してインターロイキン2の合成を誘導し、B細胞機能の活性化、血管内皮細胞等の増殖を促進し、組織修復過程における免疫反応の中心となる物質である。またトランスフォーミング成長因子 β は細胞外マトリックスの合成を促進することが知られている^{19)~21)}。

ファイブロネクチンは繊維芽細胞や血管内皮細胞で生産される糖蛋白で細胞と細胞、細胞と基質の接着、分化、形態維持等に関与し、コラーゲン、ヘパリン、フィブリン、プロテオグリカン

に親和性を持つため創傷治癒過程でのその機能が注目されている。組織損傷後、繊維芽細胞はファイブロンネクチン出現直後より出現し、繊維の成熟とともに消失していくことから、ファイブロンネクチンは繊維性結合組織形成の primary matrix として働いている可能性が示唆されている²⁶⁾²⁷⁾。当教室の宮崎は接触型 Nd : YAG レーザー切開創において創傷作製後 3 日後から 7 日目にかけて創傷周囲のファイブロンネクチンの染色性が高まっていることを報告している²⁸⁾。

これらの組織に存在する細胞の出す因子、血液由来の因子が相まって細胞の増殖、コラーゲンをはじめとする細胞外マトリックスの代謝を調節し、また形成されたマトリックスが逆に細胞の増殖、分化を制御して組織の修復、再構成を行うのである。

細胞外マトリックスは、コラーゲン群、プロテオグリカン群、ラミニン、ファイブロンネクチンなどの非コラーゲン性糖蛋白群、エラスチン群の 4 群に分類される。これらは各組織ごとにその機能にふさわしい特異な構築を形成している。細胞外マトリックスは各成分の性質、量、環境に依存し、会合し組織構築を行っている^{29)~31)}。なかでも繊維芽細胞およびこれにより生産されるコラーゲンは創傷治癒過程で中心的役割を持っている。

B) 組織構築とコラーゲン

コラーゲンは、分子量約 10 万の繊維が 3 本の螺旋形成した構造を持ち、その疎な枠組みを糖蛋白、プロテオグリカンなどの繊維間物質が満たし、豊富な糖鎖により水分を包含し外からの圧力に対抗する働きを有しながら形態保持の骨格をなしている。大谷ら、牛木らは組織消化法を用いて筋肉、神経、舌などの膠原繊維の枠組み構造を走査電顕的に観察している¹³⁾¹⁴⁾³²⁾。この方法では従来観察のできなかった膠原繊維の三次元的構造を非常によく観察できる。今回著者はこの NaOH 消化法を用いて創傷治癒過程における膠原繊維修復過程を従来の絹糸結節縫合とレーザー皮膚接合とを比較し検討した。コ

ラーゲンには 1 ~ 3 型の間質型コラーゲンと他に 12 種以上の分子種が存在する。結合組織マトリックスを構成する三本鎖コラーゲンのヘリックス構造やプロテオグリカンは結合組織細胞が産生分泌する metalloproteinase がその分解に関与する。これらの metalloproteinase には間質型コラーゲンを分解するコラーゲナーゼ、プロテオグリカンと共に基底膜コラーゲンを分解するプロテオグリカナーゼ、変性したコラーゲンを分解するゲラチナーゼが含まれる。一旦コラーゲナーゼによって変性したコラーゲンは、トリプシン等の種々のプロテアーゼによって容易に分解される。このようにコラーゲナーゼがコラーゲン分解における鍵になる酵素と考えられている³³⁾³⁴⁾。コラーゲナーゼ活性に影響する因子としてはリンパ球、マクロファージ、PGE₂ などのケミカルメディエーターなどが知られており、組織修復の調節を行っている。Castro らはヒト繊維芽細胞に低出力 Nd : YAG レーザーを照射しレーザーは繊維芽細胞の DNA 合成能や cell viability に影響せず選択的にコラーゲナーゼ活性を低下させると報告している³⁵⁾。Saperia らはヒト繊維芽細胞に He-Ne レーザーを照射し、1 型、3 型プロコラーゲンの m-RNA を測定し、レーザー照射によりコラーゲン新生が增強されると報告している³⁶⁾。当教室の宮崎はコラーゲン代謝の指標として接触型 Nd : YAG レーザーで製作した創傷部の皮膚片の hydroxyproline の定量を行い、レーザーで製作した創傷面周囲のコラーゲン代謝が高まっている可能性を報告している²⁸⁾。今回の実験においては NaOH 消化法を用いた走査電顕的観察で、術後 7 日目においてレーザー皮膚接合にのみ比較的細いコラーゲン繊維の乳頭状構造を認めた。この所見はレーザーによるコラーゲン増殖促進効果を反映している可能性も否定できない。今後究明すべき興味ある課題の一つである。

2. レーザー組織接合

レーザーの組織接着効果の応用は血管吻合、神経縫合においてよく検討されている。岡田ら

はCO₂ レーザーをA-C bypass, A-V シャント等に応用し、引っ張り試験で縫合糸と大きな差がなく、組織学的検索でも治癒過程がよりスムーズであると述べている⁷⁾¹⁰⁾。新島らは微小血管吻合をNd : YAG レーザーとポリビニルアルコールスプリットを用い縫合無しで行い、病理学的所見からレーザー照射部位に熱効果による微小限界部蛋白の一過性融解による血管壁内の筋層、コラーゲンの接着が認められたと報告している⁸⁾⁹⁾。黒川³⁷⁾、Jain ら³⁸⁾、McCarthy ら³⁹⁾、Ashworth ら⁴⁰⁾、Quigley ら⁴¹⁾、Pribil ら⁴²⁾もレーザーを用いた血管吻合の有用性を報告している。その利点としては手術時間の短縮、炎症の少ない治癒過程が得られること、抗張力も縫合糸とほぼ同程度であること、内腔面がスムーズであることなどである。問題点としては吻合部における動脈瘤および狭窄部の形成、至適条件の検討などである。

レーザーを用いた神経縫合の検討はラットの坐骨神経においてよく検討されている。大瀬戸らはラットの坐骨神経を切断後、全く接着力の無いフィブリンフィルムを橋渡しとして神経外膜とフィブリンフィルムに70 mW のCO₂ レーザーを照射し、神経接合を行い組織学的にも抗張力的にも従来の方法より有意に有効な成績が得られたと報告している⁴³⁾⁴⁴⁾。Beggs らは術後の神経繊維のアクションポテンシャル、組織学的検索を行いCO₂ レーザーを用いたほうが瘢痕が少なくアクションポテンシャル伝達も良好であったとしている⁴⁵⁾。Benke らも同様な報告をしている⁴⁶⁾。能勢はCO₂ レーザー0.2 W, 2秒照射の条件で神経上膜は損傷するものの周膜には損傷が無く神経縫合が可能なことを報告している⁴⁷⁾。

レーザーの組織接合のメカニズムは、その熱効果によるとされている。微小血管吻合にNd : YAG レーザーを用いたJain らはレーザーの熱効果による血管壁のコラーゲンの融合と収縮に注目している³⁸⁾。新島らはNd : YAG レーザーを微小血管吻合に用い、その病理学的所見から

レーザー照射部位に熱効果による微小限界部蛋白の一過性融解による血管壁内の筋層、コラーゲンの接着が認められたと報告している⁸⁾⁹⁾。つまりレーザー熱によりコラーゲン繊維が融解してゾル化し、再びゲル化することや、蛋白成分に富んだ組織液が糊状となりいわば生体糊として作用するのではないかとしている。今回の実験中にもレーザー照射部位が一過性に融解し再びゲル化する様子が観察された。これに対し王らはHe-Ne レーザーのラットの総頸動脈への影響を検討し熱作用以外の作用に注目している⁴⁸⁾。その作用とはレーザーの持つ単色性、単位相性に起因すると想像されるが、その詳細はまだ明らかにされていない。

レーザー光を生体に照射した時に与える影響は、①熱作用、②光による衝撃作用、③光による化学作用および、④電磁界作用などがあり、高出力レーザーの連続照射とパルス照射の場合にはその①②④の作用による組織破壊が主体となるが、低出力レーザー光の場合には光としての化学作用が主体となることが知られている。組織にはレーザー光の波長、エネルギー密度、光透過性、露出時間等に応じて蒸散層、壊死層、熱凝固層の3層が生じる。蛋白質は50～60度で融解し、冷却すると再び凝固する性質を持っており、レーザーの熱作用による組織の蛋白質の融解、凝固が組織接合のメカニズムの一つであると思われる。

レーザーの創傷治癒促進効果はMester らが難治性皮膚潰瘍の治療にレーザーを用いて以来、レーザーの持つbiostimulation 効果として注目されており様々な検討がなされている⁵⁾。biostimulation 効果とは低エネルギー光照射による非破壊的作用の一つであり、生体系に何らかの刺激を与え、その機能を活性化させるという働きである。これについてはその作用機序、光の波長特性、偏光による違い、最適強度、パルス照射に対する反応等解明されねばならないことが多い。Ar レーザー、He-Ne レーザー、CO₂ レーザー、発光ダイオード光等を一定面積の創に照

射し、その創の縮小率やコラーゲンの合成能の測定、組織学的検討がなされている。田口らは光の偏光特性により創傷治癒促進効果が異なることを報告している⁶⁾。池内ら⁴⁹⁾、古内⁵⁰⁾はレーザーによるコラーゲン合成能の活性化に注目しており、Mester らはレーザー照射による上皮化の促進効果に注目している⁵¹⁾。気管粘膜において上皮損傷後1時間で周辺の円柱細胞の遊走が始まり徐々に周辺細胞の増殖が起こることが知られている⁵¹⁾。小原らは開放創より移植を行った方がコラーゲン合成が盛んになることを報告している⁵²⁾。上皮細胞と真皮、あるいは肉芽とは密接な関係を持っており、上皮下の炎症の持続は再生上皮の分化を遅延させる。レーザーの創傷に対する影響は、創周辺の上皮細胞遊走や肉芽におけるコラーゲンの合成、炎症自体に対する影響などが全体として治癒促進を促している可能性があり更に詳細な検討が必要である。

一般に創傷治癒に関係する要因としては次のようなものがあげられる。局所的要因としては、創傷の大きさとその部位、血流、感染、酸素分圧、動き等であり、全身的要因としては、年齢、循環状態、代謝機能、感染、栄養状態、ホルモンなどである⁵³⁾。レーザー照射の各要因に与える影響は、その温熱による血流の増大、酸素分圧の増大、創面周辺の細菌の減少等が考えられる。レーザー照射のこのような効果も瘢痕の少ない創面の形成に寄与したものと考えられる。

創傷部における抗張力の獲得について Madden ら¹⁸⁾、Levenson ら⁵⁴⁾がコラーゲン増殖との関連を詳細に検討している。Levenson らは抗張力は術後80日まで上昇しその後はプラトーであり1年後で正常の80%まで回復することを報告している。Madden らは H³ ハイドロキシ

プロリンを指標に術後3週まではコラーゲンの蓄積と抗張力とはよく相関するがその後はコラーゲンの蓄積はプラトーであり、コラーゲンの沈着は術後1週まで急速に上昇し3週ほどプラトーであり、その後徐々に下降することを報告している。受傷直後の抗張力は fibrin net の力、直後の上皮の結合力によって保たれるにすぎずぎわめて微々たる力しかない。そして繊維芽細胞の遊走、増殖にともないコラーゲンを生成しその量と相関して抗張力の強度が増すのである。その後コラーゲン量の増加は止まっても繊維化へと進むにつれて抗張力はまだ増大、回復していく。術後4週頃から吻合部での血管の交通吻合がみられ組織連続性が得られた状態となっている。その後も瘢痕の吸収、再編成が行われ本来の形態に近づくのである⁵⁵⁾。レーザーを用いた血管吻合、神経縫合の抗張力試験ではレーザー吻合では従来の方法と同様かそれ以上の抗張力を得られたとの報告が多い³⁷⁾⁴⁰⁾⁴⁴⁾⁴⁶⁾⁴⁷⁾。今回の実験では皮膚接合早期に従来の方法より抗張力がより強い傾向にあった。レーザーの組織接合のメカニズム、繊維芽細胞のコラーゲン合成効果からうなずける結果であると思われる。

今回著者は、低出力 Nd : YAG レーザーを創面に照射することにより従来の絹糸結節縫合を必要としない新しい皮膚接合法を開発し、その基礎的検討を行った。その結果、低出力 Nd : YAG レーザー照射による無縫合皮膚接合は従来の縫合吻合法に比べ表3の様な利点を持っていることが明らかになった。すなわち、1) 手技は容易で、術者の巧拙に余り影響されない。2) 縫合針や縫合糸による外傷がなく、また異物の介在がないため組織反応が軽度で瘢痕が少ない。3) 積極的に組織を接着させるため早期から十分な接合強度を持つ。4) レーザーの持つ biostimulation 効果や細菌増殖抑制効果等のために美容上優れかつより早い創傷治癒が得られる点である。事実これらの成果に基づいて、すでに頭頸部外科領域の皮膚接合に応用し良好な成績が得られている¹²⁾。このように本法は前

表3 レーザー皮膚接合の利点

1. 迅速性、画一性
2. 軽微な瘢痕形成
3. 強固な接合
4. 早い創傷治癒

述した通り従来の方法に比べいくつかの点において優れた新しい皮膚接合法ではあるが、今後解決すべき問題も山積している。縫合糸に関する検討や埋没縫合等手技に関する問題、レーザーの種類や、至適出力、照射時間や速度などについての詳細な検討、更には皮膚接合の生物学的機序の解明などである。今後に残された興味ある課題であることは論を待たない。

おわりに

低出力 Nd : YAG レーザーを用いた皮膚接合部の創傷治癒過程を光顕的および NaOH による組織消化法を用いた走査電顕的に観察を行った。また創傷部組織の抗張力の測定も併せて行った。組織形態学的にはレーザー皮膚接合における創傷治癒は従来の絹糸を用いる方法と比較してより早く良好な治癒過程を示した。抗張力試験成績では特に治癒過程の早期において絹糸による縫合に比して、より強固に接合することが分かった。本手法は美容的配慮の必要とされる頭頸部外科において有用な手術手技として臨床応用可能と思われる。

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲を賜りました恩師大山 勝教授に深甚なる謝意を表します。また本研究に際し、絶えず御指導と御助言を戴きました当教室員の諸先生方に心から御礼申し上げます。

なお、本論文の要旨は、第90回日本耳鼻咽喉科学会総会、第10回日本レーザー医学会大会、8th Congress of the International Society for Laser Surgery and Medicine (Taipei)、第92回日本耳鼻咽喉科学会総会で口演した。

本論文の一部は文部省科学研究費奨励研究(A)(課題番号 02771151)の援助を受けた。

参考文献

- 1) Maiman TH : Stimulated optical radiation in ruby. *Nature* **187** : 493~494, 1960.
- 2) Ohyama M, Katsuda K, Nobori T, et al : Treatment of head and neck tumors by contact Nd: YAG laser surgery. *Auris Nasus Larynx* (Tokyo) Suppl 12 : 138~142, 1985.
- 3) 大山 勝, 昇 卓夫, 上野員義, 他 : 頭頸部腫

瘍に対する接触型 Nd : YAG Laser 手術. 耳鼻臨床 補 3 : 1~9, 1986.

- 4) Ohyama M, Nobori T, Moriyama I, et al : Laserthermia on head and neck malignancies ; experimental and clinical studies. *Acta Otolaryngol* (Stockh) Suppl 458 : 7~12, 1988.
- 5) Mester E, Spiry T, Szende B, et al : Effect of laser rays on wound healing. *Am J Surg* **122** : 532~535, 1971.
- 6) 田口善雄, 黒川良望, 大原 到, 他 : 低出力光照射の創傷治癒促進効果. *日本臨床* **45** : 4 ; 69 ~75, 1987.
- 7) Okada M, Shimizu K and Ikuta H : An alternative method of vascular anastomosis by laser ; experimental and clinical study. *Lasers Surg Med* **7** : 240~248, 1987.
- 8) 新島 京, 米川泰弘, 米田 肇, 他 : Nd-YAG レーザーを用いた無縫合微小血管吻合の試み—Polyvinyl alcohol (PVA) splint と組み合わせて—。レーザー医学会誌 **6** : 59~63, 1986.
- 9) 新島 京, 米川泰弘 : Nd-YAG レーザーを用いた無縫合微小血管吻合法. *外科 Mook* **51** : 30~38, 1988.
- 10) 岡田昌義, 清水一太, 生田 博, 他 : CO₂ レーザーを用いる新しい血管吻合法. *日外会誌* **88** : 390~400, 1987.
- 11) 早田義博 : 光化学療法. 図説臨床癌シリーズ5 癌とレーザー(末舛恵一編). 166~173頁, メジカルビュー社, 東京, 1986.
- 12) 西園浩文, 森山一郎, 小川和昭, 他 : 低出力 Nd-YAG レーザーによる皮膚接合. *日耳鼻* **94** : 300~306, 1991.
- 13) Ohtani O, Ushiki T and Taguchi T : Collagen fibrillar networks as skeletal frameworks ; a demonstration by cell-maceration scanning electron microscope method. *Arch Histol Cytol* **51** : 3 ; 249~261, 1988.
- 14) Ohtani O : Three-dimentional organization of the connective tissue fibers of the human pancreas ; a scanning electron microscopic study of NaOH treated-tissues. *Arch Histol Jap* **50** : 5 ; 557~566, 1987.
- 15) Ordman LJ and Gillman T : Studies in the healing of cutaneous wounds ; 1. The healing of

- incisions through the skin of pigs. Arch Surg 93 : 857~882, 1966.
- 16) Ordman LJ and Gillman T : Studies in the healing of cutaneous wounds ; 2. The healing of epidermal, appendageal, and dermal injuries inflicted by suture needles and by the suture material in the skin of pigs. Arch Surg 93 : 883~910, 1966.
- 17) Ordman LJ and Gillman T : Studies in the healing of cutaneous wounds ; 3. A critical comparisons in the pig of the healing of surgical incisions closed with sutures or adhesive tape based on tensile strength and clinical and histological criteria. Arch Surg 93 : 911~928, 1966.
- 18) Madden JW and Peacock EE : Studies on the biology of collagen during wound healing. Ann Surg 174 : 511~520, 1971.
- 19) 名倉 宏 : 組織修復における免疫反応の役割. 医学のあゆみ 150 : 11 ; 699~701, 1989.
- 20) 宇宿源太郎 : 組織修復における繊維化および脂肪組織の関与. 医学のあゆみ 150 : 11 ; 702~705, 1989.
- 21) 畑隆一郎 : 創傷治癒とコラーゲン合成制御. 細胞 22 : 5 ; 7~10, 1990.
- 22) 森口隆彦, 山本正樹, 奈良 卓 : 創傷治癒研究の現状と展望. 日形会誌 2 : 825~837, 1982.
- 23) 石引久弥 : 組織修復と炎症反応. 最新医学 37 : 219~222, 1982.
- 24) 鈴木犀幹, 渡辺洋望, 大高裕一 : 傷害部における fibroblast の由来と機能. 最新医学 37 : 228~234, 1982.
- 25) 林 四郎, 市川英幸 : 組織修復促進および阻害因子. 最新医学 37 : 278~284, 1982.
- 26) Grinnell F : Fibronectin and wound healing. J Cell Biol 26 : 107~116, 1984.
- 27) 長田浩行, 植木宏明, 森口隆彦, 他 : 肉芽組織, 肥厚性瘢痕, および成熟瘢痕におけるフィブロネクチンの局在. 日形会誌 4 : 151~158, 1984.
- 28) 宮崎康博 : 頭頸部外科における接触型 Nd : YAG レーザーメスの応用. 耳鼻臨床 補26 : 15~21, 1988.
- 29) 林 利彦 : 細胞外マトリックスの成分とその機能. 細胞 21 : 1 ; 3~7, 1989.
- 30) 矢田俊量, 木全弘治 : ECM の再構築. 細胞 22 : 5 ; 11~16, 1990.
- 31) 牧野綾子, 古里勝利 : 組織再構築. 細胞 22 : 5 ; 22~25, 1990.
- 32) 牛木辰男, 井手千束 : 走査電顕でみたコラーゲン線維とその配列. 細胞 21 : 1 ; 8~12, 1989.
- 33) Wooley DE : Mammalian collagenase. Extracellular matrix biochemistry (ed by Karl AP). pp 119~157, Elsevier, New York, 1984.
- 34) Sellers A and Murphy G : Collagenolytic enzymes and their naturally occurring inhibitors. International review of connective tissue research 9. pp 151~190, Academic Press, London, 1981.
- 35) Castro DJ, Abergel RP and Meeker CBS : Effect of the Nd:YAG laser on DNA synthesis and collagen production in human skin fibroblast culture. Ann Plast Surg 11 : 214~222, 1983.
- 36) Saperia D, Glassberg E, Lyons RF, et al : Demonstration of elevated type 1 and type 3 procollagen mRNA levels in cutaneous wounds treated with helium-neon laser. Biochem Biophys Res Commun 138 : 3 ; 1123~1128, 1986.
- 37) 黒川良望 : レーザーを用いた細小動脈吻合の吻合部耐圧力, 抗張力試験. レーザー医学会誌 10 : 27~30, 1989.
- 38) Jain KK and Gorisch W : Repair of small vessels with the Neodymium-YAG laser ; a preliminary report. Surgery 85 : 6 ; 684~688, 1979.
- 39) McCarthy WJ, Hartz RS, Yas JST, et al : Vascular anastomosis with laser energy. J Vasc Surg 3 : 1 ; 32~41, 1986.
- 40) Ashworth EM, Dalsing MC and Olson JF : Large-artery welding with a milliwatt carbon dioxide laser. Arch Surg 122 : 673~677, 1987.
- 41) Quigley MR, Bailes JE and Kwaan HC : Comparison of myointimal hyperplasia in laser-assisted and suture anastomosed arteries. J Vasc Surg 4 : 3 ; 217~219, 1986.
- 42) Pribil S and Powers SK : Carotid artery end-to-end anastomosis in the rat using the argon

- laser. J Neurosurg 63 : 771~775, 1985.
- 43) 大瀬戸政司, 越智光夫, 水関隆也, 他 : 炭酸ガスレーザーを用いた神経接合の実験的研究. 日手会誌 3 : 102~105, 1986.
- 44) 大瀬戸政司 : 炭酸ガスレーザーを用いた神経接合の実験的研究. 日整会誌 62 : 653~663, 1988.
- 45) Beggs JL, Fischer DW and Shetter AG : Comparative study of rat sciatic nerve micro-epineurial anastomosis made with carbon dioxide laser and suture techniques. Neurosurgery 18 : 266~269, 1986.
- 46) Benke TA, Clark JW and Wisoff PJ : Comparative study of suture and laser-assisted anastomosis in rat sciatic nerve. Laser Surg Med 9 : 602~615, 1989.
- 47) 能勢 昭 : レーザー光線による神経接合と移植の実験的研究. 近畿医誌 13 : 1 ; 145~158, 1988.
- 48) 王 天明, 口脇博治, 木野本武久, 他 : 低出力 He-Ne レーザー光照射後の総頸動脈における組織学的検討. 日本レーザー医学会誌 7 : 2 ; 13~22, 1986.
- 49) 池内 忍, 逢坂文博, 朝波惣一郎, 他 : 皮膚欠損創治癒に対する He-Ne レーザーの効果. 日本レーザー医学会誌 8 : 3 ; 251~252, 1987.
- 50) 古内泰生 : 低出力炭酸ガスレーザーの創傷治癒に与える影響に関する実験. 日口外誌 33 : 1 ; 53~65, 1987.
- 51) 泰 順一 : 上皮化と Epithelial-Mesenchymal Interactions. 最新医学 37 : 2 ; 247~251, 1982.
- 52) 小原一則, 安田幸雄, 森口隆彦, 他 : 家兎皮膚 2/3 層欠損部に及ぼす凍結乾燥豚真皮 (KT-80), その他 2, 3 の創傷被覆材の影響. 熱傷 7 : 2 ; 17~27, 1981.
- 53) 岡田 正 : 組織修復(創傷治癒)と栄養. 最新医学 37 : 2 ; 258~264, 1982.
- 54) Levenson SM, Geever EF and Growley LV : The healing of rat skin wounds. Ann Surg 161 : 293~308, 1965.
- 55) 丸山圭一 : 消化管吻合における創傷治癒. 最新医学 37 : 2 ; 285~292, 1982.

(原稿受付 : 平成 3 年 7 月 18 日
原稿採択 : 平成 3 年 8 月 9 日 急載
別刷請求先 : 西園浩文
〒890 鹿児島市桜ヶ丘 8-35-1
鹿児島大学医学部耳鼻咽喉科学教室)