Micro-Laser Surgery の応用に関する実験的研究

藤田 靖・篠木邦彦・桃野秀樹・木村一則
亀井達哉・千葉 純・山田和祐・林 進武

Experimental studies on the application of Micro-Laser Surgery

Yasushi FUJITA · Kunihiko SHINOKI · Hideki MOMONO · Kazunori KIMURA
Tatsuya KAMEI · Jun CHIBA · Kazumasa YAMADA · Susumu HAYASHI

Abstract: Using a newly manufactured low-output CO₂ laser, the adhesion of the incised wounds (2 cm in length), created on the backs of rats, and the anastomosis of rat common carotid arteries (0.8~1.2 mm diameter) were attempted and compared with those performed by conventional suture techniques.

The results were as follows:

- 1) The antitension of the incised wounds were higher in the groups adhered by irradiation with lasers than in the groups sutured by conventional techniques.
- 2) We found hair growth on the laser irradiated area.
- 3) Between the two groups there was no difference on the way the wounds healed.
- 4) The success of anastomosis of rat common carotid arteries by laser irradiation was 91.8%, but the success of those by conventional suture techniques was 77.1%.
- 5) If the anastomosis of small arteries by laser techniques was performed with too high power lasers, blood-vessel dilatation or aneurysm would be observed at the anastomosis area.

Key words: Micro-Laser Surgery, Laser adhesion, microvascular anastomosis

緒 言

レーザー医学のめざましい発展によって、外科の分野でも、組織の切開や破壊、さらには凝固や止血に高出力のレーザーが広く用いられるようになったが、近年、さらに、低出力のレーザーを血管吻合¹⁻⁴⁾や難治性潰瘍の治療^{5,6)}に用いる試みもなされ、レーザーの応用範囲は一層広がった。

そこで、われわれは低出力の炭酸ガスレーザー装置を試作し、レーザーによる生体組織の接着を試み、従来の縫合法によるものと比較検討したところ、良好な成績を得たので報告する。

レ ー ザ ー 装 置

出力能 0~3 W, 最小スポットサイズ 0.1~0.2 mm の連続可変式低出力炭酸ガスレーザー発振器(レーザー発振波長 10.6 μ)を新しく試作して、これを持田製薬 K. K. 製のメディレーザー S, 442型に装着し、さらに、マイクロマニピュレーターをアダプターとして、ケイセイ対向型手術顕微鏡 MOS-100 型に取り付け、使用した(写真1)。

実 験 動 物

体重 200~300 g のウィスター系ラットを用いた。

なお、実験期間中はマウスラット・ハムスター飼育用飼料 F-2 (船橋農場)で飼育した。

実験ならびに観察方法

実験1: ネンブタール 25 mg/kg を腹腔内に注射して

東北大学歯学部第1口腔外科学教室
(主任: 林 進武教授)

First Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Faculty of Dentistry, Tohoku University
(Chief: Prof. Susumu Hayashi)

受付日: 昭和59年7月25日

写真 1 手術用顕微鏡とセットした低出力炭酸ガスレーザー装置

写真 2 レーザーによる接合後4週目のラット背部皮膚、毛の再生を認める

図 1 ラット背部皮膚の全層切開創およびその抗張力測定法
右側：レーザー照射，左側：縫合

無動化したラットの背部に、鋼刃メスを用いて、図1のごとく、長さ2 cmの皮膚全層切開創を左右にそれぞれ2か所作製し、右側の切開創を50, 100, 200および400 mWの各出力で、創に沿ってレーザーを照射し、接合した。左側の切開創は絹糸にて3針縫合し、対照とした(図1)。

創接合後、その直後、1日後、3日後、1週間後および2週間後に創の中点を通る直角線上で、創縁より1 cm

図 2 創抗張力の経日的変化

離れた左右2点にテンションケージを置き、左右に引っ張って創の抗張力を測定した(図1)。測定は各照射群とも7匹ずつ行い、そのうち、最高値と最低値を切り捨て、残った5匹の値の平均値を求め、比較した。

表 1 創の抗張力 ($M \pm SD(g)$)

	直 後	1 日 後	3 日 後	7 日 後	14 日 後
縫 合 群		84.2 $\pm$ 7.1	205 $\pm$ 11.1	420 $\pm$ 83.7	1,545 $\pm$ 111.1
50 mW 照 射 群	8.4 $\pm$ 1.5	108.4 $\pm$ 36.7	155.8 $\pm$ 11.1	670 $\pm$ 93.5	1,450 $\pm$ 380.7
100 mW 照 射 群	19.6 $\pm$ 3.8	144.8 $\pm$ 50.9	203.8 $\pm$ 26.9	700 $\pm$ 84.7	1,820 $\pm$ 349.5
200 mW 照 射 群	23.2 $\pm$ 5.4	158.4 $\pm$ 52.1	285 $\pm$ 48.3	765 $\pm$ 74.2	1,900 $\pm$ 252.4
400 mW 照 射 群	42.8 $\pm$ 6.7	175.4 $\pm$ 48.7	440 $\pm$ 80.2	725 $\pm$ 145.7	1,820 $\pm$ 195.5

さらに、創部の組織を1部採取し、10%ホルマリン液にて固定後、パラフィンに包埋し、厚さ6 μ の切片標本を作製、ヘマトキシリン-エオジン染色をほどこして、創の治癒過程を病理組織学的に検索し、対照と比較した。

実験2: ウィスター系ラットをネブタール 25 mg/kg 腹腔内注射にて無動化し、総頸動脈を十分に露出させた。血管用クランプを用いて2か所クリッピングし、その間の血流を遮断して鋭的に切断した。10-0 または 8-0 ナイロン糸で3点縫合した後、各縫合間を 30~100mW の出力でレーザー照射し、切断した総頸動脈を端々吻合した。1部は従来の手縫い法によって8ないし10針縫合して吻合し、対照とした。

術後、経口的に、胃透視用硫酸バリウム（バリケート S）による血管造影X線写真を撮影して吻合部の開存状態を観察した後、資料を採取し、実験1と同様、吻合部のヘマトキシリン-エオジン染色切片標本を作製して病理組織学的に検索した。

実 験 結 果

1. 皮膚接合部の肉眼的所見

対照群とレーザー照射群、およびレーザーの各出力間では、肉眼的には創の治癒過程に差は認められない。しかし、レーザー照射群の一部において、術後の瘢痕部に毛の再生を認める（写真2）。

2. 創の抗張力

レーザーによって創を接合した場合、接合直後における創の抗張力は、表1のごとく、50 mW の照射では平均 8.4 g であるが、出力を増すにつれて抗張力は増加し、おおよそ 400 mW で最高値に達する。その後は創縁が焼灼されてしまい接合は不可能となる。接合後は、7日目頃から急激に抗張力が増加する対照群にくらべ、レーザー照射群は、レーザーの出力にはほとんど関係なく、接合直後から平均して増加するため、7日目においては明らかに対照群より強い抗張力を示している。しかし、14日目頃になると対照群の抗張力も増加し、両者の間の差は少なくなる（図2）。

3. 皮膚接合部の組織学的所見

接合後1日目の創間隙は対照群とレーザー照射群の間

写真3 縫合1日後のラット背部皮膚の組織像（ $\times 20$ ）

写真4 レーザーによる接合1日後のラット背部皮膚の組織像（400 mW, $\times 20$ ）

写真 5 レーザーによる吻合後2週目のラット背部皮膚の組織像 (400 mW, $\times 20$)

写真 7 レーザーによる吻合2週後のラット総頸動脈 (左) の血管造影X線写真

写真 6 レーザーによる吻合直後のラット総頸動脈 (左) の血管造影X線写真

写真 8 レーザーによる吻合後吻合部に形成された動脈瘤

でとくに異なった所見を認めないが (写真3, 4), 創の表面に凝血を認める 対照群に対して (写真3), レーザー照射群はレーザーが照射された部位の組織は融解し, 無構造を呈している (写真4). しかし, 1週間後にはすでに両群とも上皮が再生され, 良好な治癒過程を示している. さらに, 2週間後になると, 新生上皮は薄くなり, 瘢痕が形成されるが, その瘢痕の形成は対照群にくらべレーザー照射群の方が少ない (写真5).

4. 総頸動脈吻合部の血管造影所見

対照群もレーザー照射群も, 一部で吻合部のわずかな狭窄が認められるが, 全体に良好な血流が保たれている

(写真6, 7). しかし, レーザーの出力が高すぎた場合には, 吻合部に拡張や動脈瘤の形成を認めることがある (写真8).

5. 吻合血管の開存率

ラット総頸動脈 (直径 0.8~1.2 mm) における血管吻合後の開存率は表2のごとくで, 従来の手縫い法によった場合には, 吻合直後開存しているものでも, 時間の経過とともに閉塞し, 4週目頃になると半分以上が閉塞する. これに対して, レーザーで吻合したものは4週間後でも80%が開存し, 平均すると, 対照群が77.1%の開存率であるのに対し, レーザー照射群の開存率は91.8%

表2 ラット総頸動脈における縫合群とレーザー照射群の開存率の比較

	症例数	開存例数	開存率(%)
1日後 { 縫合群	9	7	78
1日後 { レーザー照射群	9	9	100
3日後 { 縫合群	10	10	100
3日後 { レーザー照射群	10	10	100
1週後 { 縫合群	10	9	90
1週後 { レーザー照射群	10	8	80
2週後 { 縫合群	10	7	70
2週後 { レーザー照射群	10	10	100
4週後 { 縫合群	9	4	44
4週後 { レーザー照射群	10	8	80

である。

考 察

従来より、組織の接着には主に縫合法が用いられているが、一方では、糸で縫わずに傷を閉じる方法、すなわち、接着剤を用いる方法や電気凝固による方法なども試みられている。とくに、接着剤は、近年の高分子化学の発達により各種の合成接着剤が作られ、外科領域でも盛んに試用されるようになった。しかし、合成接着剤は、これを創面に塗って組織を接着させた場合、一時的には付いても、創面に接着剤が存在することによって組織的な結合が障害されるばかりでなく、種類によっては毒性を示すものもあり、創の治癒は遅延し、かえって瘢痕が目立つようになることが多い。また、この合成接着剤の欠点を補う生体組織接着剤として最近開発されたフィブリン接着剤は、久保ら⁷⁾のラット背部皮膚切開創を用いた実験によると、きわめてすぐれた組織親和性を有し、3ないし4日では吸収され、創の治癒過程も組織学的には縫合群と変わりなく、理想的な1次治癒が観察され、したがって、強い張力が作用しない部位であれば、十分に創閉鎖の目的は達せられるという。しかしながら、栗坂ら⁸⁾がこれを微小血管の吻合に用いたところ、良好な成績は得られたが、一部では、フィブリン糊が血管内腔に流入し、そこに帯状の血栓が形成され血管が閉塞したという。したがって、フィブリン接着剤を用いて外径が1mm前後の血管を吻合する場合にはstentを用いるべきであると述べている。

また、微小電気凝固による場合は、組織の接着そのものが難しい上に、壊死層が形成されやすく、たとえ組織を接着することができたとしても、やはり創の治癒は遅延し、瘢痕が目立つという欠点がある。

しかるに、今回、われわれの行った低出力炭酸ガスレーザーによる組織接着法は、ラットの背部皮膚全層切開

創を用いた実験では、創閉鎖直後より200g近い抗張力を示し、しかも、照射部の壊死層が僅かなために創の治癒は遅延しない。したがって、術後の瘢痕形成は少なく、傷はきれいに治癒するものと考えられる。また、術後の瘢痕部に毛が再生してくるという利点もある。この現象については、Mesterら⁵⁾もマウスで観察し、レーザーの光刺激効果によるものと説明している。しかし、まだ確認はされていない。今後の検討課題と考えられる。

レーザーによる血管吻合を最初に行ったのはJain¹⁾である。彼はNeodymium-YAGレーザーを用いてラットの総頸動脈の左右交叉吻合を行い、80%以上の開存率を得たと報告した。その後、わが国でも林ら²⁾や田口ら³⁾によって追試され、1982年の日本レーザー医学会において報告された。すなわち、林らは炭酸ガスレーザーを、田口らはアルゴンレーザーを用いて微小血管の吻合を試み、従来の手縫い法と比較して非常に簡単で、しかも短時間にできることを証明した。さらに、林ら²⁾はきわめて小さなスポットサイズと出力の正確な微量コントロールが可能な機能をもつ炭酸ガスレーザー装置を開発し、レーザーの出力や照射範囲を変えながらラットの総頸動脈および大腿動脈を吻合して、微小血管吻合のためのレーザーの照射条件を検索した。その結果、2.0~2.6 J/mm²の条件で血管吻合を行った49例中13例(26%)の吻合部に血管拡張や動脈瘤を認めたことから、微小血管の吻合には1.5~2.0 J/mm²のエネルギーのレーザー照射が適正であると述べている。

われわれの試作した低出力炭酸ガスレーザー装置は出力の微量コントロールがまだ正確にできないため、照射条件を決定することはできなかったが、手術用顕微鏡下で血管壁表面が僅かに収縮する30~100 mWの出力で照射すると最も満足すべき結果が得られた。その開存率も、縫合群は日時の経過とともに血管内腔に露出した縫合糸を中心に糸をとり囲むように肉芽が形成され⁹⁾、閉塞し、4週後には44%に開通が確認されたにすぎないのに対して、レーザー照射群は80%に血流が確認された。これは、縫合群は血管内腔に露出する糸が多く、それだけ肉芽が形成されやすいためであると考えられる。したがって、血管を吻合する場合には、縫合はできるだけ少なくすべきであり、今後、無縫合による血管吻合術の開発が期待される。

レーザーの組織接着機構についてはまだ明らかでないが、林ら²⁾は、微小血管を吻合し、それを病理組織学的に検討した結果、レーザーの熱作用によりコラーゲンがゲルからゾル化し、再度ゲル状になるためであると考えた。しかし、レーザーのコラーゲン新生作用や圧力作用、光としての基質に対する作用、電磁界作用なども否定できないと述べている。また、田口⁴⁾は、レーザーにより創傷の何らかの治癒過程が短絡されるためではない

かと考えている。いずれにせよ、今後、解明されねばならない問題であり、われわれも現在検索中である。

結 論

低出力の炭酸ガスレーザー装置（出力：0～3W，最小スポットサイズ：0.1～0.2 mm）を試作して，レーザーによるラットの背部皮膚全層切開創の接合と総頸動脈の吻合を試み，縫合群と比較したところ，次の結論を得た。

1) ラット背部皮膚の全層切開創を接合した際の抗張力は，接合後2週までは，縫合群より強い抗張力を示した。

2) 術後，瘢痕部に毛が再生することがある。

3) 創の治癒過程は，組織学的には縫合群と差がない。

4) ラットの総頸動脈（外径 0.8～1.2 mm）を3針支持縫合し，各縫合間をレーザーで吻合した場合，手術時間は大幅に短縮され，しかも，開存率は平均91.8%で，77.1%の縫合群より良い結果を得た。

5) しかし，レーザーの出力が高すぎると，吻合部に血管の拡張や動脈瘤の形成を認めることがある。

本論文の要旨は，第28回日本口腔外科学会総会（昭和58年9月，東京），第4回日本レーザー医学会（昭和58年11月，仙台）および第27回日本形成外科学会総会（昭和59年4月，横浜）において発表した。

引 用 文 献

- 1) Jain, K.K.. Sutureless microvascular anastomosis using a Neodymium-YAG laser. *J Microsurg* 1: 436-439 1980.
- 2) 林 成之，坪川孝志，他：Micro-Laser Surgery による微小血管吻合術。日本レーザー医学会誌 3(1)：587-592 1982.
- 3) 田口喜雄，大原 到，他：レーザー光による微小血管吻合術の開発。日本レーザー医学会誌 3(1)：593-597 1982.
- 4) 田口喜雄：レーザーによる血管吻合。日本レーザー医学会誌 3(4)：17-22 1983.
- 5) Mester, E., Spiry, T., et al.: Effect of laser rays on wound healing. *Am J Surg* 122: 532-535 1971.
- 6) 益子信郎，田口喜雄，他：創傷に対するレーザー光の治癒効果に関する研究（第一報）。日本レーザー医学会誌 3(1)：553-558 1982.
- 7) 久保四郎，山本悦秀，他：フィブリン接着剤（Tisseel）の口腔外科領域への応用に関する基礎的ならびに臨床的検討。第1報：フィブリン接着剤のラット背部皮膚切創に対する創傷治癒効果。日口外誌 28: 1577-1584 1982.
- 8) 栗坂昌宏，長田尚夫：フィブリン糊による微小血管吻合。医学のあゆみ 129: 395-396 1984.
- 9) 藤田 靖，篠木邦彦，他：Micro-Laser による微小血管吻合について。形成外科（投稿中）。