原 著

ラット舌における Nd : YAG レーザー
照射創の治癒過程について
—走査電顕による結合組織の観察—

石 原 朗 磯 部 誠 山 田 鉄 郎
加 藤 雅 民 鈴 木 明 深 谷 昌 彦

愛知学院大学歯学部口腔外科学第1講座*

(主任：深谷昌彦教授)

(受理：平成5年2月1日)

The Healing Process of the Rats Tongue After
Nd : YAG Contact Laser Irradiation
— Observation of Connective Tissue by a Scanning Electron Microscope—

Akira ISHIHARA, Makoto ISOBE, Tetsuo YAMADA,
Masatami KATO, Akira SUZUKI and Masahiko FUKAYA
The First Department of Oral and Maxillofacial Surgery,
School of Dentistry, Aichi-Gakuin University
(Chief: Prof. Masahiko FUKAYA)

(Accepted for Publication February 1, 1993)

Abstract: The purpose of this study was to examine the healing process of the tongue wounds caused by the Nd : YAG contact laser.

SEM was used, focusing mainly on the dermal papillae, and the results were compared with the healing process of the wound by a dental bar.

In the case of the laser group, on the 4th day, the wound was filled with connective tissue. On the 7th day, regenerating dermal papillae were observed at the edge of the wound. On the 28th day, the wound healed, but the dermal papillae looked like mountains.

In the case of the control group, on the 7th day, regenerating dermal papillae were observed over the entire surface of the wound. Their papillae in the center of the wound were morphologically different from the original ones.

(J. Jpn. Soc. Laser Dent. 4 : 79~84, 1993. Reprint requests to Dr. Ishihara)

Key words=Nd : YAG laser : Healing process of connective tissue : Scanning electron microscopy

キーワード=Nd : YAG レーザー : 結合組織創傷治療 : 走査電顕

* 〒464 名古屋市千種区末盛通 2-11 TEL 052-751-7181 FAX 052-752-5990

* 2-11 Suemori-dori, Chikusa-ku, Nagoya 464, Japan. TEL 052-751-7181 FAX 052-752-5990

緒 言

近年、レーザー治療が口腔外科領域の各種疾患に応用されつつあり、そのなかでも Nd: YAG レーザーは高出力で、外科的切除、蒸散など、低出力で疼痛制御、治癒促進、局所の血行改善など多方面にわたり活用されている¹⁻³⁾。著者らはこれまで基礎⁴⁻¹⁰⁾、臨床^{1,2)}両面からさまざまな検討を続けてきた。Nd: YAG レーザー照射創の治癒過程についても、生化学的側面⁴⁾、病理組織学的側面⁴⁻¹⁰⁾から多くの報告をしてきた。走査電顕による治癒過程の観察についても、ラットの上皮組織と血管構築を対象とし、観察してきたが^{6,7)}、今回は細胞消化走査電顕法を用い結合組織を対象とし、観察を行ったところ、興味ある知見を得たので報告する。

実験方法

実験動物はウイスター系雄ラット 6 週齢、28匹を用い、レーザー照射（創）群、対照（創）群の 2 群を作製した。

レーザー照射群：レーザー装置は SLT JAPAN 社製 Nd: YAG CONTACT LASER CL-50、ハンドピースはモリタ製作所製外科用ハンドピース、接触型端子は SLT JAPAN 社製先端切開サージカルロッドを用い、照射出力はオフィア オプティクス社製レーザーパワーモニター 30AP を用いて 6W に設定し、照射時間を 1 秒とした。創はペントバルビタール腹腔内麻酔下に舌をピンセットで牽引し、舌背部が平坦となったところではほぼ垂直にサージカルロッドを接触させ、レーザーを照射し、レーザー照射創を作製した。接触圧はハンドピースの重さで、約 25 グラム重とした。

対照群：舌に対する侵襲をレーザー照射群と可及的に近似させるように、ペントバルビタール腹腔内麻酔下に舌をピンセットで牽引、生理食塩水注水下で舌背部に、直径約 1.2mm のラウンドバーによる挫滅創を作製した。

逐日の観察はレーザー照射群、対照群とも創作製直後、1, 4, 7, 14, 21, 28 日目 に 2 匹ずつ屠殺して試料採取し、治癒過程を観察した。

試料作製法は、ペントバルビタール腹腔内麻酔下に、開胸し、経心的に 2.5% グルタルアルデヒドにより灌流固定を行い、舌を摘出し、生理食塩水にて洗浄後、1 N 水酸化ナトリウム溶液に 7 日間浸潤した。再度洗浄し、1% オスミウム酸溶液で再固定し、上昇アルコール系列による脱水、臨界点乾燥（日立工機社製臨界点乾燥機 HCP-2）、金蒸着（エイコーエンジニアリング社製イオンコーター IB-3 型）の後、電界放射型走査電子顕微鏡（日本電子社製 JSM 6400 FX）で観察した。

写真 1 創作製直後レーザー照射群（弱拡大）

写真 2 創作製直後レーザー照射群（強拡大）

写真 3 創作製直後対照群（弱拡大）

実験結果

1. 創作製直後所見

1) レーザー照射群

実質欠損は対照群と比べ、明瞭な円形をなし、照射時のサージカルロッド先端の形態がそのまま印記された創が形成されていた。創辺縁部は結合組織線維の変性像と思われる所見がみられた（写真 1, 2）。

写真 4 創作製直後対照群 (強拡大)

写真 6 4日目レーザー照射群 (強拡大)

写真 5 4日目レーザー照射群 (弱拡大)

写真 7 4日目対照群 (弱拡大)

2) 対照群

変形した類楕円形の実質欠損がみられ、内腔には挫滅された結合組織線維の一部が残遺していた。創辺縁部では結合組織線維の断裂像が認められ、不規則な辺縁形態をなしていた (写真 3, 4)。

2. 1日目所見

1) レーザー照射群

創はほとんど修復されず、実質欠損部は中空のままでやや収縮傾向にあった。創辺縁部はやはり結合組織線維の変性像が維持され、大きな変化は認められなかった。

2) 対照群

実質欠損部はやや収縮していたが、創の修復はまだ明らかにされず、創辺縁部での変化もほとんど認められなかった。

3. 4日目所見

1) レーザー照射群

実質欠損部には結合組織線維がみられるが、対照群に比べその量はまだまだ少なく、大きく陥凹状を呈していた。創周辺部の真皮乳頭は創辺縁部に近づくにつれて小さくなり、創底部では線維成分の不規則な走行が密に認められ、網目状を呈していた (写真 5, 6)。

写真 8 4日目対照群 (強拡大)

2) 対照群

さらに創の縮小がみられ、実質欠損部の大部分を結合組織線維が満たし、陥凹状を示すようになっていた。創辺縁部の真皮乳頭は中心方向へ傾斜し、創底部は比較的平坦であった (写真 7, 8)。

4. 7日目所見

1) レーザー照射群

創底部の陥凹が全体に大きく盛り上がり、むしろ隆起

写真 9 7日目レーザー照射群（弱拡大）

写真 12 7日目対照群（強拡大）

写真 10 7日目レーザー照射群（強拡大）

写真 13 28日目レーザー照射群（弱拡大）

写真 11 7日目対照群（弱拡大）

写真 14 28日目レーザー照射群（強拡大）

していた。創辺縁部全周にわたり扁平な真皮乳頭が多数密集して認められた。これらは真皮乳頭の再生所見と考えられた。創中央部では比較的凹凸不整となり、真皮乳頭の再生を思わせる細かい隆起がみられた（写真 9, 10）。

2) 対照群

創底部の陥凹が全体的に盛り上がって平坦となっていた。創辺縁部に扁平な真皮乳頭が多数認められ、創中央部には広く扁平な真皮乳頭が存在し、それらはお互いに連なり帯状を呈していた（写真11, 12）。

5. 14日目所見

1) レーザー照射群

創辺縁部において真皮乳頭の再生が多数みられたが、中央部は平坦であった。

2) 対照群

写真 15 28日目対照群 (弱拡大)

写真 16 28日目対照群 (強拡大)

大きな変化は認められなかった。

6. 21日目所見

1) レーザー照射群

再生真皮乳頭は創中央部付近にまでみられた。しかし帯状を呈するものが多く、創中央部では円錐状の真皮乳頭は認められなかった。

2) 対照群

大きな変化は認められなかった。

7. 28日目所見

1) レーザー照射群

創全体に真皮乳頭の形成がみられたが、創中央部は帯状で、長く山脈様に走る再生真皮乳頭の最も大きなものは横舌筋の走行と平行であった (写真13, 14)。

2) 対照群

創全体に真皮乳頭の形成がみられたが、創中央部は帯状をなし、個々の真皮乳頭の区別は認められなかった (写真15, 16)。

考 察

Nd:YAG レーザー照射創の治癒過程に関する基礎的研究は数多くみられるが、走査電顕によりその立体微

細構造を詳細に観察した報告は少ない^{6,7)}。通常の走査電顕の観察は生体の表面構造、すなわち上皮組織の観察にとどまることが多いが、細胞成分のみ選択的に除去する細胞消化走査電顕法では残った結合組織の線維成分の立体観察が可能となる。今回著者らは同法によりラット舌における Nd:YAG レーザー接触照射創の治癒過程について、結合組織線維のみの形態を観察し、上皮組織や血管構築とは別の角度から治癒過程を検討することを試みた。

レーザー照射群では、4日目で実質欠損部は結合組織線維により一部満たされたが、対照群ほど充満していなかった。7日目で創辺縁部では真皮乳頭の再生所見がみられ、14, 21日目で再生真皮乳頭の増加が認められた。28日目で創全体に真皮乳頭の再生が認められ治癒とみなした。しかし創中央部の真皮乳頭は帯状をなしていた。一方、歯科用バーによる対照群では4日目で、実質欠損部が結合組織線維により満たされ、7日目では創全域に真皮乳頭の再生所見がみられた。その後も形態異常はあったものの、28日までほぼ同じ所見であったことから、対照群では7日目で治癒したものと思われた。これらのことから、レーザー照射群は対照群と創の大きさに差があり、一概にはいえないが、治癒遅延の傾向が認められた。これらは以前からいわれているようにレーザー照射創周囲の炭化、変性壊死層の存在^{4,5,7)}により治癒が遅延しているものと考えられた。しかし真皮乳頭の再生所見から考えると、レーザー照射群では28日目に真皮乳頭の回復がみられ、創中央部の真皮乳頭は帯状をなすが、これらは対照群においても全く同様の所見が得られている。これらのことから、Nd:YAG レーザー照射創の結合組織における治癒過程は、挫滅創における治癒過程に比べ、治癒日数に遅れがあるものの、形態回復あるいは瘢痕形成量に関しては大きな相違はなかったものと考えられた。

また真皮乳頭の形態変化に関しては、先の著者らの報告⁷⁾での上皮組織における糸状乳頭、血管構築における毛細血管ループの観察とほぼ同様の経過であり、照射後7日目に創辺縁に再生所見が観察された。また28日目に創全体に再生所見がみられたが、創中央部では本来の乳頭の形態と異なる所見が得られた。したがって、Nd:YAG レーザー照射後の糸状乳頭の形態異常は毛細血管ループの形成異常だけでなく、真皮乳頭の形態異常も関与していることが示唆された。

結 論

ラット舌における Nd:YAG レーザー照射創と対照群、歯科用ラウンドバーによる創の治癒過程について、細胞消化走査電顕法を用い、結合組織の変化を観察した。

レーザー照射群では、実質欠損は対照群と比べ、明瞭

な円形をなし、創辺縁部は結合組織の変性像がみられた。4日目では、実質欠損部には結合組織がみられるが、その量はまだ少なく、陥凹状を呈していた。7日目では、創全体が盛り上がり、創辺縁部全周にわたり扁平な再生真皮乳頭が多数密集して認められた。14日目、21日目と次第に再生真皮乳頭が増え、28日目では、創全体に真皮乳頭の形成がみられ、創中央部は帯状で、長く山脈様に走る再生真皮乳頭がみられた。

対照群は、創作製直後では変形した類円形の実質欠損がみられ、4日目では、実質欠損部を結合組織が満たした。7日目では、創底部の陥凹が全体的に盛り上がって平坦となっていた。創辺縁部に扁平な真皮乳頭が多数認められ、創中央部には広く扁平な真皮乳頭が存在し、それらはお互いに連なり帯状を呈していた。これらの所見は28日目まではほとんど変化しなかった。すなわち、レーザー照射群では治癒の遅れを認めたが、再生した真皮乳頭はいずれの群にも形態異常のものがみられた。

本論文の要旨は第3回日本レーザー歯学研究会（平成3年11月、福岡）において発表した。

文 献

- 1) 吉田憲司, 高井克憲, 加藤麦夫, 古田 哲, 榎本道彦, 木下靖朗, 神谷祐二, 各務和宏, 稲本 浩, 深谷昌彦: 口腔外科領域における Nd: YAG レーザーの臨床応用. 日口外誌, 33: 315-324, 1987.
- 2) 吉田憲司, 各務和宏, 石原 朗, 金子道生, 加藤麦夫, 伊藤暖果, 中山和久, 深谷昌彦: 広範囲出力可変式 Nd-YAG レーザー装置, (SLT コンタクトレーザー DCL50) の口腔外科領域への応用. 日口外誌, 33: 2447-2458, 1987.
- 3) 加藤麦夫, 各務和宏, 吉田憲司, 伊藤暖果, 石原 朗, 金子道生, 齊藤佳雄, 川上尊弘, 深谷昌彦: 低出力 He-Ne レーザーによる星状神経節照射について. 日口外誌, 33: 2347-2357, 1987.
- 4) 榎本道彦, 高井克憲, 木下靖朗, 吉田憲司, 加藤麦夫, 金度完, 大島利洋, 山下敏康, 川村 康, 各務和宏, 稲本 浩, 深谷昌彦: Nd-YAG レーザーの及ぼす口腔軟組織への影響 (1). 一類粘膜創の病理組織学的, 生化学的検索一. 日口外誌, 33: 868-875, 1987.
- 5) 木下靖朗, 高井克憲, 榎本道彦, 吉田憲司, 加藤麦夫, 金度完, 大島利洋, 山下敏康, 川村 康, 各務和宏, 稲本 浩, 深谷昌彦: Nd-YAG レーザーの及ぼす口腔軟組織への影響 (2). 一舌粘膜創の病理組織学的, 走査電顕的検索一. 日口外誌, 33: 8876-8882, 1987.
- 6) 加藤麦夫: Nd-YAG レーザー照射の及ぼす皮膚微小循環の定量的変化について. 愛院大誌歯, 26: 515-536, 1988.
- 7) 石原 朗: Nd: YAG Contact Laser 接触照射によるラット舌の創傷治癒に関する基礎的研究. 一走査電顕的観察を中心に. 愛院大誌歯, 28: 895-912, 1990.
- 8) 石原 朗, 各務和宏, 吉田憲司, 伊藤暖果, 金子道生, 深谷昌彦: Nd: YAG レーザーの組織進達度一接触照射におけるラット舌微細血管網への影響一. 日本レーザー医学会誌, 10: 541-544, 1989.
- 9) 今井隆生: Nd: YAG Contact laser 照射における色素選択性と創傷治癒に関する研究. 愛院大誌歯, 29: 445-468, 1991.
- 10) 金子道生: ラット背部皮膚における Nd: YAG Contact Laser 照射創の創傷治癒過程に関する研究. 愛院大誌歯, 28: 857-875, 1990.