原 著

ソフトレーザーのいわゆる光刺激効果について

—特に照射による障害についての組織形態学的検討—

塩 野 谷 暢 利

明海大学歯学部口腔外科学第2講座*

(主任：藤田訓也教授)

(受理：平成6年1月31日)

A Study on “Photostimulative Effect” of Soft Laser

—Histological Study of Rat Retina Damaged by Soft Laser Irradiation—

Nobutoshi SHIONOYA

2nd Department of Oral Surgery, Meikai University School of Dentistry*

(Chief: Prof. Kuniya FUJITA)

(Accepted for Publication: January 31, 1994)

Abstract: A laser as stimulated optical radiation was first described by Maiman in 1960, and since that time the application of the laser in dental and medical clinics has extended from diagnosis to treatment. On the other hand, a potential danger exists if an error is made during the irradiation procedure. However, the extent of retinal damage after exposure to a soft laser is still far from clear.

For demonstration of damage due to laser irradiation, ophthalmoscopic and light and electron microscopic studies were made on the hooded(pigmented) rat retina after the irradiation at therapeutic (peak power 20W) and experimental (peak power 80W) levels with a Ga-Al-As diode pulse laser (904nm) apparatus. And the features observed were compared with the retinal damage induced by argon laser photocoagulation (20mW for 0.02 sec and spot size of 50 μ m was used).

The following results were obtained.

1. In ophthalmoscopic observation, exposure of the retina to soft laser irradiation did not reveal any problems such as retinal damage and degeneration which were seen after photocoagulation.
2. Light and electron microscopical examination did not indicate any pathological changes in the retina throughout the observation period, except for distention of choroidal vessels by 24 hours after the exposure at the experimental level.

(J. Jpn. Soc. Laser Dent. 5 : 47-58, 1994 Reprint requests to Dr. Shionoya)

Key words=Soft laser : Laser hazards : Ocular damage

キーワード=ソフトレーザー : レーザー障害 : 眼障害

* 〒350-02 坂戸市けやき台 1-1 TEL 0492-85-5511 FAX 0492-87-6657

* 1-1 Keyakidai, Sakado 350-02, Japan. TEL 0492-85-5511 FAX 0492-87-6657

緒 言

1960年に Maiman¹⁾により発振されたレーザー (LASER: Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation) は、通常の光にはない優れた特性から早期に医療の分野に応用されてきた。それらの生体への作用は主として熱作用、圧力作用、光としての作用、電磁界作用にわけられる^{2,3)}。レーザーメス⁴⁾や凝固⁵⁾に用いられるような高出力レーザーは、熱としての作用が主に利用され、組織の加熱、凝固、炭化、蒸散がそれぞれの治療目的に応じて使用されている。しかし、本研究で扱うレーザーは、このような高エネルギーを利用したレーザーとは異なっている。顎顔面領域で広く利用されている低出力半導体レーザーすなわちソフトレーザーは、作用機序についてはまだ不明な点はあるが、光としての刺激作用⁶⁾を主体として、消炎鎮痛効果、創傷治癒促進効果、殺菌効果などの作用により、いろいろな疾患に幅広く臨床応用され、その有効性を認めた報告は多くみられる。当講座においても臨床的效果とともに、実験的に低出力半導体レーザーの治療効果、いわゆる光刺激効果⁶⁾について検討し、その有用性を報告してきた⁷⁻⁹⁾。

低出力半導体レーザーは組織に照射しても、温度の上昇が極めて少ないことから熱障害はなく、その他特に有害作用のない安全な治療法とされてきた。IEC (International Electrotechnical Commission) によるレーザーの安全基準¹⁰⁾、ならびに JIS (JIS C 6802-1991)¹¹⁾ から低出力半導体レーザーの障害性は低いとされている。当講座の一連の研究^{7-9,12)}からも、皮膚粘膜については障害のないことを確認している。しかし、最近照射治療による障害についての関心が高まり、第3回日本レーザー歯学会 (平成3年、福岡市) で照射治療に際しての一層の注意が喚起された。レーザー光の障害として、特に眼は外界に接し、その構造が集光系であることから皮膚よりも危険性が高く、永久的障害を生じやすい¹³⁾。口腔顎顔面領域が眼に近接していることから、レーザー光が誤って眼に照射される可能性はないとはいえない。また、組織破壊を目的として使用されている高出力レーザーの眼に及ぼす影響の報告は多くみられる^{5,14-16)}が、低出力半導体レーザーの眼障害に関する検討の詳細な報告はみられない。

そこで今回、低出力半導体レーザーのいわゆる光刺激効果、特に眼への照射の障害について、有色系ラットの眼底に低出力半導体レーザーを照射し、検眼鏡的、組織形態学的にその障害について観察した。さらに、眼科臨床で治療に実用化されているアルゴンレーザーによる最弱度の光凝固を行い、障害の対照として比較検討を行った。

Soft Laser : Type 1

Soft Laser : Type 2

Diode	Ga-Al-As	
Power of the peak	Type 1	Type 2
Power of the mean (Mode 7)	20W	80W
Wave length	904nm	48mW
Width of the pulse	200ns	
Pulse repetition frequency		
Mode 1	----- 47.5 Hz	
Mode 2	----- 95.0 Hz	
Mode 3	----- 190.0 Hz	
Mode 4	----- 380.0 Hz	
Mode 5	----- 760.0 Hz	
Mode 6	----- 1520.0 Hz	
Mode 7	----- 3040.0 Hz	
Supply	AC 100V 50mA

Fig. 1 Low-power, semi-conductor laser (soft laser).

材料と方法

1. 実験動物

生後6週齢の健康雄性 Long-Evans 系ラット (東京実験動物) に、1週間 CE-2 型固形飼料 (東京実験動物) と水を自由に飲食させ、恒温、恒湿条件 (温度: $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度: $55 \pm 5\%$) で飼育し、環境適応させた後、生後7週齢 (160~170g) として実験に用いた。

2. 低出力半導体レーザー装置

本実験に使用したレーザー発振装置は、組織深部到達性がよいとされる904nmの中心波長を有する Ga-Al-As 半導体素子を使用したパルスレーザーで、ピーク出力20Wの装置とピーク出力を80Wに高めた実験用の装

Laser medium
Power
Wave length
Type of oscillation
Spot size
Exposure time(sec.)
Supply

Coherent argon laser
20 mW~2.0W
488.0 nm
514.5 nm
Continuous wave
50 μ m~2000 μ m
0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0
2.0, 5.0 and continuance
AC 208V 35A

Fig. 2 Argon laser photocoagulator.

置を使用した。

両装置ともパルス幅200ns, 1秒間のパルス発振回数は可変式で7段階を選択できるが, 実験には平均出力が最大となる3040Hz を使用した。その場合の平均出力は, ピーク出力20Wの装置では12mW, ピーク出力80Wの装置では48mW となる (Fig. 1)。

3. アルゴンレーザー光凝固装置

Argon Laser Photocoagulator 900型 (Coherent 社: 米国) を使用した。本装置は2単色光 (主波長: 488 nm, 514.5nm) のアルゴンレーザーで, 照射時間は0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5秒および持続照射が可能で, スポットサイズは50 μ m から2000 μ m まで連続可変である。レーザーパワーは角膜で20mW から2.0Wまで連続調節することが可能である (Fig. 2)。

4. 照射方法

ラットは, 照射前処置として, ペントバルビタール溶液の腹腔内注射 (50mg/kg) により全身麻酔し, ミドリリンP[®] (0.5%トロピカミド, 0.5%塩酸フェニレフリン) を1~2滴ずつ1~2回点眼し十分散瞳させ, レーザー照射前に眼底鏡にて, 透光体および眼底に異常のないことを確認してレーザー照射実験に供した。

レーザーの照射前後の眼底を比較するため, レーザー照射前に眼底写真を撮影した。

低出力半導体レーザーの照射は, 散瞳したラット眼にレーザーがすべて入光するように, プローブ先端の照射

Table 1 Low-energy, semi-conductor laser and Argon laser photocoagulator

	Low-energy, semi-conductor laser	Argon laser photocoagulator
Medium	Ga-Al-As	Argon
Type of oscillation	Pulse train (3040 Hz)	Continuous wave
Radiant power	type 1: 20W(peak), 12mW(mean)	20mW
	type 2: 80W(peak), 48mW(mean)	
Wave length	904nm	488nm and 514.5nm
Spot size	ϕ 3.0mm $\times$ 4.0mm (1cm)	ϕ 50 μ m
Exposure time	30min	0.02sec
Irradiance flux density	type 1 0.13W/cm ²	1020W/cm ²
	type 2 0.51W/cm ²	

孔から角膜表面までの距離を1 cm とし、ピーク出力20 Wおよび80 Wの両装置を用いて左眼に直接照射した。照射時間は、平均的に一般臨床で使用されている時間よりも長く、30分間とした。

アルゴンレーザーの照射は、ラット眼を照準光を利用して照射位置に固定し、本装置の最低条件である出力20 mW、照射時間0.02秒とした。スポットサイズは便宜的に直径50 μm という小さいサイズで眼外より照射した (Table 1)。

それぞれの未照射の右眼を対照として比較検討した。

実験中は、生理食塩液を随時点眼し、角膜乾燥防止に留意した。

5. 実験スケジュール

レーザー照射は上記の条件でそれぞれ照射し、照射後24時間、48時間、72時間、1週間後に眼底を観察し、眼底写真を撮影した。その後、眼球を摘出し、組織学的検討に供した。

6. 組織形態学的観察のための試料作製法

摘出した眼球は直ちに固定液 (2.5% グルタルアルデヒド, 2% パラホルムアルデヒド, 0.1M のリン酸緩衝液, 4°C) 中に浸漬した。5分後、固定液よりとりだし、視神経、角膜中央を通る水平面で8等分し、角膜を切除した後、同固定液で4°C 6時間浸漬固定した。さらに1% オスミウム酸溶液にて4°C 2時間後固定し、系列アルコールで脱水、プロピレンオキシドで置換後、アラルダイト[®]包埋した。包埋切片はスーパーミクローム AS500 (Anglia Scientific 社) にて1 μm の準超薄切片を作製し、0.5% マラカイトグリーン、0.5% トルイジンブルー、0.5% ペイジックフクシンによる三重染色を行い、光学顕微鏡的に後極部を中心に観察した。また、超薄切片を作製し、酢酸ウラン、クエン酸鉛による二重染色を行い、透過型電子顕微鏡 JEM100CX (日本電子社) にて観察した。

結 果

ソフトレーザーの照射は、一般に使用されるピーク出力20 Wを照射した群 (SL20群) と出力を80 Wに高めた照射群 (SL80群) の2群について比較観察を行った。明らかに障害を起こし得るアルゴンレーザー光凝固群を障害の対照とし、未照射側の眼を正常対照群として検討した。

ラット網膜は、組織学的に光の入光する内側から規則正しく層状に配列し、内境界膜、神経線維層、神経細胞層、内網状層、内果粒層、外網状層、外果粒層、外境界膜、杆状体層、色素上皮層の10層から成っている。視細胞の核は外果粒層に、杆状体層には視細胞の内節と外節が存在する。網膜の外側に脈絡膜がある。本実験で使用

したラットは有色系でアルビノとは異なり色素上皮層にはメラニン果粒が多く、脈絡膜は色素細胞に富んでいる。レーザーが眼に照射されて生じる反応は、主に光が色素上皮細胞に含まれるメラニンにそのエネルギーが吸収されることによって起こるため、外果粒層、外境界膜、杆状体層を含めた視細胞層、色素上皮層、脈絡膜を主に観察した。

1. 正常対照群の観察所見

検眼鏡的に、健常ラット眼底の色調は、網膜色素上皮層、脈絡膜、強膜の色調が関係し、これらが混合して淡紫色としてみられた。また、視神経乳頭から放射状に白色の線条が認められた。中央の白色の円板は、視神経乳頭で、中央はわずかに陥没していた。視神経乳頭から網膜中心動脈は分岐し、網膜表層を周辺に放射状に走行する所見を認めた。静脈は動脈に比してやや太く、色調は動脈が明るい鮮紅色を示し、静脈はそれに比して暗赤色を示していた。黄斑は、ヒトでは視神経乳頭の耳側に約1~1.5乳頭径の大きさで横楕円形、やや暗く認められるが、ラットでは認められなかった (Fig. 3a)。

網脈絡膜の三重染色による組織所見は、神経線維は淡青色に、細胞質は淡緑色から淡青色に、細胞核のクロマチンと核小体は青色から紫色に、赤血球は緑色に染色された。特に密な膠原線維からなる強膜は桃色から赤色に、外果粒層の視細胞核と杆状体層にある視細胞外節は濃青色または紫色に染色され各層の識別が容易であった。視細胞外節は、長さ約25 μm 、太さ約1 μm のような細長い円柱状で、それらは平行に配列していた。視細胞の核は外果粒層に存在し、三重染色では濃青色もしくは濃紫色に染色された。色素上皮層は、高さ約5 μm の立方形の色素上皮が単層に配列し、視細胞外節に接する上端には紡錘状のメラニン果粒が豊富に認められた。網膜の外層を被う脈絡膜は、結合組織からなり、内側から外側に向かって、基底板、脈絡毛細管板、血管板、脈絡上板の4層に区別でき、血管と色素細胞が豊富に認められた (Fig. 4a)。

電子顕微鏡的所見では、視細胞外節は長軸方向に垂直に並んだ多数の層板構造が認められ、外節の周囲は色素上皮の形質突起に囲まれ色素上皮と接していた。色素上皮の核は楕円形で基底部に近く存在し、基底部は基底陥入構造が発達していた。長い形質突起が視細胞外節の間にのびており、その突起内に色素果粒を認めるものもあった。細胞質内には滑面小胞体がみられ、糸粒体は細胞の底部に多く観察された。脈絡膜内層は、脈絡毛細管板を構成する毛細血管、層板状に配列している線維芽細胞、メラニンを含む色素細胞が認められた (Fig. 5a)。

2. ソフトレーザー照射群の観察所見

検眼鏡所見では、SL20群の全観察期間を通じて透光

Fig. 3 Ophthalmoscopic findings.

- a : normal rats.
- b : after 24h(soft laser : peak power 20W).
- c : after 24h(soft laser : peak power 80W).
- d : after 48h(soft laser : peak power 80W).
- e : after 24h(argon laser).
- f : after 48h(argon laser).

Fig. 4 Photomicroscopic findings.

Thichrome staining.

- a : normal rats.
- b : after 24h(soft laser : reak power 20W).
- c : after 48h(soft laser : peak power 20W).
- d : after 24h(soft laser : peak power 80W).
- e : after 48h(soft laser : peak power 80W).
- f : after 24h(argon laser).

Fig. 5 Electron microscopic findings.

a : normal rats.

b : after 24h(soft laser : peak power 20W).

c : after 24h(soft laser : peak power 80W).

d : after 24h(argon laser).

体の混濁は認めず、眼底所見での眼底の色調に個体差が多少観察された以外、レーザー照射前後を比較して特に変化は認められなかった。網膜実質の線条模様、動静脈の太さと色調は未照射の対照群の所見と同様で、著しい変化は認められなかった (Fig. 3b)。SL80群についても、SL20群とはほぼ同様の所見が得られた (Figs. 3c, d)。

光学顕微鏡的所見において、SL20群では全観察期間を通じて、視細胞層の視細胞核の配列に乱れはなく、染色性も正常対照群と同様であった。視細胞外節は太さが一様で、規則正しく平行に配列するのを認めた。色素上皮の核は明瞭に認められ、色素果粒は視細胞外節側に多く存在していた (Figs. 4b, c)。

電子顕微鏡的所見で視細胞外節の層板構造に乱れは認められなかった。色素上皮細胞の核の形は楕円形のものがより多く観察され、細胞質内の小器官も正常群と同様の所見を示していた。その他の網膜内層、脈絡膜においても特に異常は認められなかった (Fig. 5b)。以降の観察期間の所見には差は認められず正常対照群と同様であった。

SL80 群では、特に照射後24時間の光学顕微鏡所見で、正常対照群に比して、脈絡膜毛細管板の血管腔に血球の貯留が多くみられる傾向があり、充血を示唆する所見が認められた。しかし、色素上皮層、視細胞層を含めた網膜全体は、光に述べた SL20 群と同様に正常対照群と大差はなく、形態学的に特記すべき所見は何ら認められなかった (Fig. 4d)。照射後48時間では、照射後24時間で認められた脈絡膜毛細管板の変化は消失した。その後の全観察期間においてもそれらの血管の変化は認められなかった (Fig. 4e)。照射後24時間の電子顕微鏡的所見で、脈絡膜毛細管板の毛細血管は、やや膨化し、その網膜側の壁には多数の小孔がみられた。またその壁の網膜側は、血管板側よりも菲薄であった。また、視細胞外節や色素上皮細胞内のメラニン果粒、細胞内小器官の構造には特に変化はみられなかった (Fig. 5c)。

3. アルゴンレーザー照射群の観察所見

検眼鏡所見において、照射後24時間の眼底所見で照射部に辺縁不鮮明、淡白色の凝固斑が認められた (Fig. 3e)。照射後48時間では浮腫が現れ、凝固斑が拡大していた (Fig. 3f)。照射後72時間、1週間では照射後48時間と比して顕著な差はなかった。

光学顕微鏡的所見で、主に視細胞層と脈絡膜に照射による変化が認められた。視細胞層に空胞形成を伴った破壊変性がみられ、視細胞外節の配列は著しく乱れていた。外果粒層の核の配列は一様ではなく、核の濃縮と大小不同がみられ、核の周囲に空胞が出現していた。色素上皮細胞においては、核は不明瞭となり空胞化が認められ、内部の色素顆粒は配列が乱れたり、凝固辺縁部では細胞

から脱出した色素果粒が網膜内側に飛散していたり、一部消失していた。また、照射野のほぼ全体が陥没していた。脈絡膜については、毛細血管板が拡張し、全体的に浮腫状に膨化していた (Fig. 4f)。

照射部辺縁の電子顕微鏡的所見では、視細胞外節の層板構造が乱れ、崩壊を示す所見がみられた。色素上皮細胞には、色素果粒の減少および円形小型化、糸粒体の小型化とクリスタの構造の乱れと空胞化が認められ、基底膜にはところどころ断裂も観察された。脈絡膜毛細血管は拡張し、網膜側にみられる内皮細胞体の小孔は消失していた (Fig. 5d)。アルゴンレーザー照射では、照射部に一致して強い崩壊性の所見を認めた。

本研究のソフトレーザー照射による眼の障害については、SL80 群の照射後24時間で脈絡膜毛細管板の毛細血管の拡張を示唆する所見を認めた以外、アルゴンレーザー照射群でみられた外果粒層の核の配列、大小の乱れ、濃縮、空胞形成、杆状体層 (視細胞内節および外節) の配列の乱れ、色素上皮層の色素果粒の減少と円形小型化、糸粒体の変化、基底膜の断裂などの障害を示す所見は SL20 群とともに全観察期間を通じて認められなかった。

考 察

1960年 Maiman¹⁾ がルビー結晶から初めてレーザー発振に成功し、その後、眼底病の治療にルビーレーザーが用いられたのは1961年⁵⁾と古く、アルゴンレーザーがこれにかわり急速に普及した。最近では YAG レーザー、CO₂ レーザーなど安定した能率の高い装置が利用され、医学の基礎的研究、診断、治療、検査面への応用に広げられている。しかし反面、それらのレーザーは、通常の光では起こり得ないような組織障害の危険性が生じてきている。実際に、本邦において YAG レーザー光を誤って眼に照射し、障害が発生した症例が1965年を初めてとして10例が確認されている¹⁷⁾。1971年 Mester¹⁸⁾ が低出力レーザーの熱作用以外の生体に及ぼす効果を報告して以来、本邦においても歯科、口腔外科の臨床に低出力レーザーが広く応用されるようになったが、現在まで低出力レーザーによる障害の報告はみられない。顎、口腔、顔面領域でのレーザーの照射治療は、眼が集光レンズ系であるため、レーザー光が容易に網膜に到達しやすいことから、眼への誤照射の潜在的な危険性がある。低出力半導体レーザーは組織内温度の上昇が極めて低いといわれ、温熱的障害はないとされている。レーザー安全基準からみて為害作用が少ないとされてきてはいるものの、その詳細な検討は少ない。したがって、日常臨床で多用されている Ga-Al-As 半導体パルスレーザー (中心波長 904nm)、周波数3040Hz の装置を用いて、ピーク出力を20Wおよび80Wと変えて為害作用の有無とその程度を、

アルゴンレーザー光凝固装置による照射条件を20mW、照射時間を0.02秒、spot size 50 μ m とし、最弱、最短時間、最小の照射条件でラットの眼に照射し、経時的に主として視細胞層、色素上皮層、脈絡膜の組織形態学的変化を比較観察し検討した。

一般に、レーザーの生体に対する作用²³⁾は、光、熱、圧力波、電磁場などの総合的作用と考えられている。特に出力の高いQスイッチレーザーを除いて圧力波と電磁場の関与はほとんど無視され、主なものは可視光、紫外線、赤外線の強力な光線のエネルギーによる生体の熱凝固、燃焼、蒸散、昇華、炭化である。一方、歯科、口腔外科領域で使用される低出力レーザーは、エネルギーが弱く、光としての作用が利用されている⁷⁻⁹⁾。また、一般の物理法則にもとづいてレーザー光は反射、透過、吸収され、その作用は輻射される組織の光学的な性質にしがっている。それゆえレーザーによる障害の強度と種類は、同一組織では主にその照射エネルギー、波長、露光時間により左右される。

低出力によるレーザー治療のなかで、Ga-Al-As 半導体レーザーは、他の気体レーザーや固体レーザーと比較するといろいろの点で大きな特徴を有している。半導体レーザーは電流を流すことで高効率で発振し、発振波長の同調を簡単に行え、格段に小型軽量で、量産性に富むことなどユニークな点をもつことから実用性を高め、歯科医療領域で最も広く応用されているものの一つとなっている。

Ga-Al-As 半導体レーザーの発振波長は、連続発振では760~850nm で、これ以上の発振波長を得るには冷却するか、あるいはパルス発振をせざるを得ない。生体の吸収係数²⁰⁾はレーザーの発振波長に深く依存するため、粘膜のように血管の多い部位では、血液の吸収特性すなわち、水とヘモグロビンの吸収係数が低下する790~904nm の波長域のレーザー光が最も組織の深部に到達することが可能となる。本実験で使用した装置の904nm の発振波長は、生物刺激効果²¹⁾あるいは光刺激効果⁶⁾という点から、パルス発振させてその波長を得ている。

生体に影響を及ぼす効果は波長、出力、露光時間が最も大きな因子である。したがって、低出力レーザーの出力については比留間⁹⁾が carrageenan 肉芽囊に及ぼす効果をピーク出力20Wおよび80Wと出力を変えた装置を使用し、それぞれの出力が最大となる3040Hz で比較検討した。このようなパルス発振のレーザーと連続発振の装置を比較するには単位時間当りのエネルギー量すなわち平均ワット数で比較しなければならない。ピーク出力20Wおよび80Wの装置とも、パルス幅は200ns、周波数3040Hz では、それぞれの平均出力は12mW と48mW となる (Table 1)。このようにピーク出力すなわち

1パルス当りのワット数は大きい、平均ワット数では極端に出力は小さいことがわかる。本実験で、出力の差による影響の現れは、脈絡毛細管板の毛細管の拡張が示唆しているのではなかろうかと考えられる。

対照に用いた光凝固療法は、手術以外の方法では直接治療を行うことができない眼底病に適応し、瞳孔から光を入れ、そのエネルギーによる熱作用によって、網脈絡膜を直接凝固する治療法である。組織の凝固破壊作用やその後に生ずる瘢痕組織による癒着作用、さらに循環の改善などの効果を治療に応用している²²⁾。現在では、中間透光体の透過率と網膜における吸収率の積で表される網膜凝固能率が極めて高く、安定性と安全性が高いためアルゴンレーザーが一般に多用される理由である。このように光凝固は、多くの網膜疾患の治療に応用されている安全性の高い治療法であるが、局所においてはレーザーの高エネルギーを利用した熱凝固による一種の組織破壊といえる²³⁾。本研究では低出力半導体レーザーの障害を検討するため、アルゴンレーザー照射による形態学的変化を比較検討した。光凝固は同一条件で凝固しても手技上同一な凝固斑を得ることは困難で²⁴⁾、凝固条件や対象動物の種類によっては網膜の障害の程度および修復過程は異なる²⁵⁻²⁷⁾といわれている。したがって、便宜的に網膜外層のみに障害が限局するよう照射条件を設定した。その条件設定で、アルゴンレーザー照射後の24時間の眼底所見で凝固斑が認められ、さらに48時間後にその凝固斑の拡大がみられ、網膜浮腫の発生を認めた。組織形態学的には、照射による影響は外果粒層、色素上皮層、脈絡膜に破壊性の障害がおよんでいた。また、本実験ではラットを対象動物として検討したが、他の実験動物のなかで、特にヒトの眼に最も近似しているとされるアカゲザルや、日本人の眼に外観の良く似た家兎についてさらに検討する心要があると考ええる。

照射エネルギーから検討すると、レーザー光による眼障害は、単位面積当りの光の強度に依存することから、ソフトレーザーとアルゴンレーザーの照射出力を比較した。ピーク出力80Wの装置では平均出力48mW、アルゴンレーザーでは20mW である。そこでアルゴンレーザーはそのエネルギーをビーム状に集束しているため、単位面積当りのエネルギー密度で比較しようとするれば、 $1.02 \times 10^3 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$ となる。ソフトレーザーでは、検眼鏡的に網膜に凝固斑を生じなかったことから、網膜面におけるエネルギー密度の算定は困難で、眼球内に照射エネルギーのすべてが入光するように設定した。そのエネルギーは瞳孔を通過するビームの角膜前面での出力として表すと、ピーク出力20Wの装置は $1.3 \times 10^{-1} \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$ 、ピーク出力80Wの装置は $5.1 \times 10^{-1} \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$ となる。したがって、低出力半導体レーザーはアルゴンレーザーに比して、

はるかにエネルギーが小さいことがわかる (Table 1)。本実験で使用したソフトレーザーは、JIS¹⁰⁾ ではクラス I レーザー (本質的に安全なもの) に属するが、本実験の結果からも半導体レーザーでは、検眼鏡的に透光体に混濁を認めず、アルゴンレーザーのような凝固斑や、組織形態学的な異常所見を認めなかったことからその安全性のあることを確認し得た。

波長の違いによる眼組織の吸収特性²⁸⁾については、よく知られており、眼の透光体は可視光から近赤外線の波長の光をよく通過する。このことが、眼の障害を起こしやすい原因にもなっている。この点では、904nm の半導体レーザーもアルゴンレーザーと透過率に差はなく、透光体に吸収されずに眼底に達することができる。しかし、光の波長と眼底における吸収率の関係では、アルゴンレーザーは眼底における吸収率がよいから、その積で表される網膜凝固能率は非常によいが、一方、半導体レーザーでは眼底での吸収率が悪く凝固能率が低い。単に出力の差のみでなく、光のもつ波長特性の違いから904nm の半導体レーザーの障害度は低いものと思われた。半導体レーザー照射群の全観察期間において、本研究では検眼鏡的に網脈絡膜を中心に観察したが、さらに透光体について今後障害の有無を検討していきたい。

最近、可視光レーザーに極めて近い波長をもつ Ga-Al-As 半導体レーザーで経瞳孔網膜凝固に臨床応用^{29,30)}が試みられており一般臨床で利用される半導体レーザー全般の障害の危険性は完全には否定することはできず、装置の改良、波長、出力、発振様式、モード、光学系による集光などのパラメーターについて検討する必要性がある。

恩田と亀田³¹⁾は、レーザー操作環境における健康障害予防のため各種レーザーの障害閾値つまり、障害発生の最低エネルギー値を求めるための検討を、アカゲザルの眼球にアルゴンレーザー光を照射して検討を行っている。スポットサイズ20 μm 、0.02秒の条件では網膜障害閾値は30mW であったとしている。本実験の照射条件はそれらと類似しており、さらに得られた所見から、有色系ラットを対象としたアルゴンレーザーの照射条件は、使用した動物は異なるものの障害を起こし得る最小レベルであったと考える。

網膜の低照度、長時間照射による眼底の変化は、照射による温度上昇ではなく、視細胞を主体とした光化学反応による障害として知られている^{32,33)}。その作用は波長が短いほど大きい、眼の透光体で短波長側は吸収されるため、435~440nm 付近の青色が最も光化学反応を生じやすいとされている。太陽を直接30秒~1分みていうと、この反応によって網膜が障害されるという。日本における太陽光のエネルギーの平均値は $1.0 \times 10^3 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$

で、ピーク出力80W の半導体レーザーの30分間の照射におけるエネルギーが $0.9 \times 10^3 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$ となり、エネルギー量においてはほとんど差はみられない。光化学反応は、Noell³²⁾ によれば照射直後には眼底に異常はなく、12~24時間後に眼底所見および、視細胞、色素上皮に組織学的な変化を示すとされているが、本実験では何ら変化は認められず、波長904nm 低出力半導体レーザーの光化学反応は低いものと思われた。これは Sliney と Wolbarsht³⁴⁾ のいう光の波長と光化学反応の起こる比率から、435nm の波長の障害度を1.0とした場合、904nm の波長域では0.001と光化学反応が非常に起こりにくいことと一致する。しかし、Geeraets²⁸⁾ はサルで光化学反応の実験で、4週間後には消失した変化が、1年後の蛍光眼底写真で明確な変化をとらえており、やはり長期的な観察は必要であろう。

その他、赤外線による眼障害は熱の細胞内貯留によるといわれ、家兎に1200nm にピークをもつ500~2000nm の赤外線を照射した網膜部の温度変化は、照射前35.6°C が開始4分で40°C、9分後には43.2°C、その後25分まで1分間0.1°C の割合で緩やかに上昇し、30分後から45°C の平衡状態を保持したと畑³⁵⁾は報告している。また、網膜部温度は外気温や体温の影響を受けにくいとするものや眼球運動や開眼による局所解剖学的影響を受けやすいとする報告^{36,37)}がみられる。

本実験では日常臨床で使用している装置に加え、実験用に出力を4倍に高めた装置を使用し、日常臨床ではあり得ない過酷な条件を有色系ラットに負荷した。検眼鏡的、形態学的には、光凝固群にみられたような破壊的な障害は全く認められなかった。これは、光凝固装置では、単位時間あたりの照射量が大きく、網膜での温度上昇が急激に起こるためと考えられる。一方半導体レーザーでは、温熱的な障害が極めて少ないことに加え、畑³⁵⁾が述べているように網脈絡膜の血液循環による熱の移送も関与していること、また、Geeraets²⁸⁾ が述べているように眼底組織の光の吸収率は、可視光で最も多く、波長が長くなると少なくなり、凝固能率が低下することなどによるものと考えられる。

以上のことから Ga-Al-As 低出力半導体レーザーは極めて障害が少なく、安全性が高いといえる。しかし、レーザー光の特性および組織に及ぼす影響については、まだ不明な点も多く、単に波長、出力、照射時間などの条件のほかに照射される個体の特異性など様々な要因がからみ、一概にその照射の障害がないとすることはなお未知の問題がある。臨床応用にあたり、万全をきずするため安全性を第一に考慮すれば、レーザー光の直視または眼球方向への照射は避け、眼球に近い部位へ照射する際には、患者に閉眼させるかあるいはレーザー保護眼鏡を

着用させるなどの注意は必要であろう。

結 論

1960年以来、レーザーの医学、歯学への応用は診断および治療の分野において極めて多岐にわたっている。適応を誤ると悲惨な災害をもたらすレーザーの危険性については認識されているが、低出力半導体レーザーの障害、特に光障害について詳細な検討はなされていない。そこで有色系ラットの眼球に出力を変えて照射し、主として視細胞層、色素上皮層、脈絡膜について検眼鏡的、組織形態学的に検討し以下の結論を得た。

1. 低出力半導体レーザー照射による検眼鏡の所見は、ピーク出力20W群、80W群ともに全観察期間を通じてアルゴンレーザーによる光凝固群でみられた凝固斑の形成や凝固斑周辺への経時的拡大などの異常所見は全く認めなかった。

2. いわゆる三重染色による光学顕微鏡の所見ならびに電子顕微鏡の所見を光凝固群と比較し、ピーク出力80W群の低出力半導体レーザー照射後24時間に、脈絡膜血管板の拡張の所見以外、特に病理組織形態学的に異常を示すものは全く認められなかった。光凝固群にみられた視細胞外節および色素上皮細胞の著明な破壊など全観察期間を通じて認められなかった。

光に鋭敏である眼について Ga-Al-As 低出力半導体レーザーは、障害がないものと考えた。しかし、臨床への応用に際しては、安全を優先して眼の防護に注意を払うことが好ましい。

稿を終えるにあたり、終始ご懇切なるご指導とご校閲を賜りました明海大学歯学部口腔外科学第2講座藤田訓也教授に深甚なる謝意を表します。またご懇切なるご校閲を賜りました口腔病理学講座内海順夫教授、歯科材料学講座橋本弘一教授に深く感謝の意を表します。また、本研究を遂行するうえで貴重な御教示御助言を賜りました本学総合臨床医学第2講座眼科学田代忠正教授に深謝いたします。なお種々の面にわたりご協力頂きました口腔外科学第2講座教室員各位に厚く御礼申し上げます。

本論文の一部は第4回日本レーザー歯学会（1992年11月、仙台市）、第38回日本口腔外科学会総会（1993年10月、新潟市）において発表した。

文 献

- Maiman, T. H.: Stimulated optical radiation in ruby. *Nature*, **187**: 493-494, 1960.
- 渥美和彦: レーザー光の生体への作用機序, 森岡俊夫編, レーザー歯学, 東京, 1986, 医歯薬出版, 43-44.
- 桜井清久, 菊地 真: レーザー光の生体への作用機序, 渥美和彦編, レーザー医学 基礎と臨床, 東京, 1980, 中山書店, 27-40.
- Patel, C. K. N.: High-power carbon dioxide lasers. *Sci. Am.*, **219**: 23-33, 1968.
- Zaret, M. M., Breinin, G. M., Schmidt, H., Ripps, H. and Siegel, I. M.: Ocular lesions produced by an optical maser (Laser). *Science*, **134**: 1525-1526, 1961.
- Kovács, L., Varga, L., Pályi, I., Tisza, S., Gundy, S., Unger, E. and Lapis, P.: Experimental investigation of photostimulation effect of low energy He-Ne laser radiation, Atsumi, K. and Nimsakui, N., Eds., *Laser-Tokyo '81*, Tokyo, 1981, The Japan Society for Laser Medicine, 22-14~22-16.
- 矢作理枝: 低出力レーザーのいわゆる光刺激作用についての検討—Carrageenan 肉芽腫におよぼす影響—. *明海歯学誌*, **16**: 732-747, 1987.
- 藤田訓也: 低出力半導体レーザーのいわゆる光刺激作用について. *日本レーザー歯学研究会誌*, **3**: 101-102, 1992.
- 比留間信行: 低出力レーザーのいわゆる光刺激作用についての研究—Carrageenan 肉芽腫におよぼす効果の形態学的検討—. *明海歯学誌*, **22**: 21-38, 1993.
- IEC 825 Amendment No. 1: International Standard Radiation safety of laser products, equipment classification, requirements, and user's guide, Geneva, 1990, IEC Central Office, 21-31.
- JIS C 6802: 日本工業規格レーザー製品の放射安全基準, 東京, 1991, 日本規格協会, 3-11.
- 木下文夫, 矢作理枝, 比留間信行, 斎藤一彦, 若林一夫, 藤田訓也, 橋本弘一: 口腔外科領域疾患に対する低出力半導体レーザーの臨床効果—二重盲検法による検討—. *域歯大紀要*, **15**: 735-742, 1986.
- 菱本久美郎: レーザー障害と安全対策. *医学のあゆみ*, **81**: 377-384, 1972.
- 天野清範, 野寄喜美春: レーザー光の障害とその対策. *労働衛生*, **24**: 16-19, 1983.
- 小澤哲磨: レーザーの安全な取り扱い—事故例の検討—. *日本の眼科*, **59**: 673-678, 1988.
- 天野清範, 野寄喜美春: レーザー光の眼に及ぼす影響. *眼科*, **34**: 1093-1097, 1992.
- 小沢哲磨, 矢野真知子: レーザー事故事例紹介. *労働衛生*, **24**: 24-27, 1986.
- Mester, E., Spiry, T., Szende, B. and Tota, J. G.: Effect of laser rays on wound healing. *Am. J. Surg.*, **122**: 532-535, 1971.
- 渥美和彦: レーザー光の生体への影響, 森岡俊夫編, レーザー歯学, 東京, 1986, 医歯薬出版, 39-52.
- 浜田善弘: ふく射加熱される液体層の伝熱に関する研究. 昭和58年度東京工業大学修士論文集, 1983, 55-59.
- Mester, E., Tóth, N. and Mester, A.: The biostimulative effect of laserbeam, Atsumi, K. and Nimsakui, N., Eds., *Laser-Tokyo '81*, Tokyo, 1981, The Japan Society for Laser Medicine, 22-4~22-7.
- Noyori, K. S., Campbell, C. J., Rittler, C. and Koester, C. J.: The characteristics of experimental laser coagulations of the retina. *Arch. Ophthalmol.*, **72**: 254-263, 1964.
- 天野清範, 野寄喜美春: レーザー利用眼科機器. *医科学*, **52**: 383-386, 1982.
- 石川祐二郎: クセノン光凝固が施されたサル網膜の修復機序に関する組織学的研究 1. 初期修復過程にみられる細胞反応の電子顕微鏡的研究. *日眼会誌*, **78**: 606-622, 1974.
- Wallow, I. H. L., Tso, M. O. M. and Fine, B. S.: Retinal repair after experimental xenon arc photocoagulation 1. A comparison between rhesus monkey and rabbit. *Am. J. Ophthalmol.*, **75**: 32-52, 1973.
- Wallow, I. H. L., Lund, O.-E. and Gabel, V. P.: A

- Comparison of retinal argon laser lesions in man and in cynomolgus monkey. Albrecht V. Graefes Arch. Klin. exp. Ophthalm., **189** : 159-164, 1974.
- 27) 吉田秀彦 : 損傷された網膜視細胞の変性及び再生に関する組織学的研究. 日眼会誌, **79** : 26-37, 1975.
 - 28) Geeraets, W. J. and Berry, E. R. : Ocular spectral characteristics as related to hazards from lasers and other light sources. Am. J. Ophthalmol., **66** : 15-20, 1968.
 - 29) 野寄 忍, 斉藤民也, 小倉 修, 大木隆太郎, 野寄喜美春 : 半導体レーザー 経瞳孔網膜光凝固の臨床成績. 臨眼, **46** : 771-777, 1992.
 - 30) 野寄 忍, 飯島正法, 大木隆太郎, 野寄喜美春, 米谷 新 : 半導体レーザー 経瞳孔網膜脈絡膜光凝固の効果. 日眼会誌, **95** : 758-766, 1991.
 - 31) 恩田幸昌, 亀田敬子 : レーザーの生体に及ぼす影響と安全基準に関する研究 (第3報) アルゴンレーザーの眼障害閾値. 防衛庁技術研究本部技報, 技一**752** : 1-13, 1979.
 - 32) Noell, W. K., Walker, V. S., Kang, B. S. and Berman, S. : Retinal damage by light in rats. Invest. Ophthalmol., **5** : 450-473, 1966.
 - 33) Ham, W. T. Jr., Ruffolo, J. J. Jr., Mueller, H. A. and Guerry, D. III : The nature of retinal radiation damage : Dependence on wavelength, power level and exposure time. Vision Res., **20** : 1105-1111, 1980.
 - 34) Sliney, D. and Wolbarsht, M. : Safety with lasers and other optical sources, New York, 1980, Plenum Press, 336-341.
 - 35) 畑 文忠 : 赤外線の家兎網膜におよぼす影響について (II) 赤外線照射による網膜部の温度変化. 日眼会誌, **84** : 96-100, 1980.
 - 36) 武藤直也 : 家兎ならびに人類における生理的眼内温度および種々なる操作のこれに及ぼす影響についての実験的報告 (第2報告). 日眼会誌, **35** : 778-791, 1931.
 - 37) 中尾圭一 : 家兎眼の温度変化に関する研究第3報局所解剖的影響について. 日眼紀, **8** : 311-315, 1957.