フラッシュランプダイレーザー照射による 単純性血管腫の光顕・電顕的变化

Light and Electron Microscopic Study of Port-Wine Stains after
Flashlamp Dye Laser Treatment

安田 幸雄*, 林 洋司**, 塚田 貞夫*

*金沢医科大学形成外科学教室

**浅ノ川総合病院形成外科

Yukio YASUDA, Hiroshi HAYASHI and Sadao TSUKADA

*Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Kanazawa Medical University

**Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Asanogawa General Hospital

キーワード：ダイレーザー，単純性血管腫，組織学的変化，Dye laser，Port-wine stain，
Histologic findings

Abstract

Selective photothermolysis of port-wine stains induced by Candela model SPTL-1P (577nm) and SPTL-1 (585nm) flashlamp pumped pulsed dye lasers were examined light and electron microscopically. Immediately after irradiation, red blood cells agglutination and heat necrosis were found at the dilated vessels in the dermis, and perivascular collagen fibrils necrosis was minimum. Twenty-four hours after irradiation, a lot of inflammatory cells were infiltrated around the necrotic vessels. One month after irradiation, the area in which dilated vessels had showed necrosis was replaced by granulation tissue. No recurrence or scar formation was observed in the dermis 6 months after irradiation. Comparing to SPTL-1P (577nm), SPTL-1 (585 nm) showed deeper penetration in the dermis while the selectivity of vessel necrosis was not different between them. In the cases with epidermal hyperpigmentation, epidermal necrosis and reepithelization was found after irradiation. The reepithelized epidermis showed the state of pigment blockade for several weeks, and returned to normal pigmentation within 6 months.

I はじめに

単純性血管腫に対する理想的な治療法はいうまでもなく真皮の拡張血管のみを選択的に破壊して血行を途絶させ、しかも他の皮膚組織には障害を与えないことにある。この治療が適切なパラメーターを持つレーザーの皮膚照射によって達成されるであろうことは以前から予言されていた¹⁾が、実用的なレーザー装置として実際に多くの単純性血管腫の患者の福音となったのは米国キャンデラ社製SPTL-1Pが登場して以来である²⁾。我々は1987年にこのSPTL-1P型フラッシュランプダイレーザー装置を試用する機会を得、単純性血管腫治療の臨床的、組織学的検索を重ねてきた^{3, 4)}。また、その後このSPTL-1P型を改良、量産を可能にしたSPTL-1型レーザー装置を1988年4月に導入し、前者との比較を行った結果、SPTL-1型のほうが単純性血管腫により優れた効果をもたらすことを実証した⁵⁾。ここではこれらのフラッシュランプダイレーザー装置を用いて単純性血管腫の皮膚照射を行い、光顕、電顕的検索を行った結果を報告し、臨床的効果との関連について若干の考察を加えたい。

II 材料と方法

単純性血管腫の患者40例からレーザー照射前後に計82検体を生検した。患者は男13例、女27例で、年齢は1歳から67歳まで、平均21歳であった。また部位は顔面16例、頸部1例、上肢12例、下肢8例、軀幹3例であった。レーザー照射前の検体数は40、照射直後、24時間後、1ヵ月後、6ヵ月後の検体数はそれぞれ8、16、12、6であった。

用いたレーザー装置はCandela社製SPTL-1P型フラッシュランプダイレーザー装置（波長577nm、パルス

幅500 μ s）と、Candela社製SPTL-1型フラッシュランプダイレーザー装置（波長585nm、パルス幅450 μ s）の両者もしくは後者のみである。照射エネルギーは7J/cm²を標準とした。

試料は生検後直ちに半切し、一部は10%ホルマリン固定後パラフィンに包埋し、薄切、ヘマトキシリン-エオジン染色（以下H-E染色と略す）およびエラスチカーワンギーソン染色を施し光顕的に観察した。他は2.5%グルタルアルデヒド固定後、洗浄、2%オスミウム酸で後固定し、アルコール系列で脱水、エポン812に包埋、超薄切片を作成、酢酸ウラニール・くえん酸鉛重染色を施し日立H-500型電子顕微鏡で観察した。

III 結果

SPTL-1P型とSPTL-1型との照射効果を比較すると、組織深達性においてSPTL-1型が優れていること以外には、両者の間に質的な差異は見られなかった。そこで照射後の経時的変化はSPTL-1型によるもののみにについて述べ、最後に両者の差異を示す。

1) 照射前

光顕像では種々の程度に拡張した血管が主として真皮乳頭層から乳頭下層にかけて多数認められた（図1）。この拡張血管は真皮中層以下では急激にその数が減少する傾向を示した。拡張血管が大部分真皮上層に存在するものを浅在型、真皮下層にまで分布しているものを深在型として分類すると、浅在型17検体、深在型23検体であった。電顕像では拡張血管は一層の内皮細胞と1~2層の周細胞から成り、真皮内微小血管と明らかな構造上の差異はみられなかった。しかし、成人例では拡張血管の基底膜は著しく多層化しているものもみられた（図2）。

2) 照射直後

図1 単純性血管腫の光顕像
深在型 H-E染色×100

図2 単純性血管腫の電顕像
54歳、男。顔面。拡張血管の基底膜は多層化を示す。 ×3500

図3 ダイレーザー照射直後の光顕像
拡張血管内赤血球凝集を示す。
H-E染色×100

図5 ダイレーザー照射後24時間目の光顕像
拡張血管の血栓化と血管周囲の炎症性細胞浸潤を示す。H-E染色×100

図4 ダイレーザー照射直後の電顕像
血管腔は凝集した赤血球(R)で満たされ、内皮細胞(E)、周細胞(P)および膠原細線維(C)は変性像を示す。×5000

光顕像では表皮は基底層細胞内空胞形成、核の濃縮・変形などの軽度変性像を認めた。この変化は表皮内にメラニン色素が多い程顕著であった。真皮内の拡張血管には凝集した赤血球が充満していた。この赤血球充満像は真皮上層を中心として真皮下層にまで及んでいたが、総ての拡張血管がこのような変化を示すわけではなく、正常赤血球を内腔に容れるもの、全く変化を示さないものもみられた(図3)。電顕像では表皮基底層で基底膜からの剥離、細胞間隙の開大、細胞小器官の破壊などが観察された。メラノゾームの変形ないし破壊像はみられなかった。また光顕レベルでみられた赤血球を充満した拡張血管は電顕的に特筆すべき変化を示した。即ち、血管

腔は凝集した赤血球で満たされ、個々の赤血球は種々の電子密度の変化を示した。また赤血球内に大小多数の空胞を認めた。内皮細胞および周細胞は細胞膜や細胞内小器官の微細構造を失って顆粒状ないし無構造を呈した。また血管周囲の膠原細線維は血管から3~15ミクロンの幅で膨化および横紋消失などの変性像を示した(図4)。神経、汗腺、脂腺などには形態的变化はみられなかった。

3) 照射後24時間目

光顕像では表皮の一部に水疱形成もしくは変性像を認めた。血管内の凝集した赤血球は血栓化し血管周囲に炎症性細胞浸潤と浮腫を伴っていた。また一部の血管周囲には出血がみられた(図5)。電顕像では赤血球の凝集した血管腔には好中球、血小板が種々の程度に変性した赤血球のあいだに介在してみられた。また血管周囲には多数の好中球、リンパ球、マクロファージなどの炎症性細胞がみられた(図6)。

4) 照射後1ヵ月目

光顕像では表皮は一部メラニン色素顆粒の減少を示した。真皮内では拡張血管は減少してみられた。また微細なエオジン好性線維、紡錘型細胞と微小血管からなる拡張血管と同大の肉芽組織が散在していた(図7)。電顕像では表皮内メラノサイトおよび樹枝状突起内に成熟メラノゾームを多数みとめるが角化細胞内にはメラノゾームはほとんどみられない、いわゆるpigment blockadeの像をみとめた(図8)。真皮では光顕像でみられた肉芽組織内の微小血管は肥厚した内皮細胞から成り、その

図6 ダイレーザー照射後24時間目の電顕像
変性した血管の内腔は変性赤血球，白血球，血小板などで満たされている。×2000

図7 ダイレーザー照射後1ヵ月目の光顕像
拡張血管は減少し，肉芽組織（矢印）が散在している。H-E染色×100

内皮細胞内のミトコンドリア，粗面小胞体は顕著に増加していた（図9）。

5) 照射後6ヵ月目

光顕像では拡張血管の数は少なく，特に再発を思わせる所見はみられなかった。表皮はほぼ正常なメラニン色素沈着を示した（図10）。電顕像では真皮内に肥満細胞をやや多く認めた以外には特別な所見はみられなかった。

6) SPTL-1P型（577nm）とSPTL-1型（585nm）との照射効果の比較（図11）

深在型単純性血管腫の比較照射では，24時間目の血管腔の血栓形成はSPTL-1P型では真皮上層に限られていたが，SPTL-1型では真皮下層にまで及んでいた。照射1ヵ月目には，SPTL-1P型では拡張血管は真皮上層では大部分消失していたが中・下層には残存していた。

図8 ダイレーザー照射後1ヵ月目の電顕像
表皮角化細胞（K）内にはメラノゾームは見られないが，メラノサイトの樹枝状突起（矢印）内には多数の成熟メラノゾームが認められる。×3000

図9 ダイレーザー照射後1ヵ月目の電顕像肉芽組織内の微小血管の内皮細胞は肥厚を示す。×6000

これに対しSPTL-1型では拡張血管は真皮全層にわたって顕著に減少していた。

IV 考 察

単純性血管腫に対するSPTL-1P型およびSPTL-1型フラッシュランプダイレーザー装置の照射による組織変化の所見は以下のように考えることができる。即ち，レーザー照射直後，真皮内の拡張血管内赤血球に吸収されたレーザーエネルギーは熱エネルギーに転換され⁶⁾赤血球は熱変性による形態的变化^{4)・7)}を示しながら血栓化し，その熱を拡張血管の血管壁にまで伝達する。約70℃以上に上昇した血管壁は熱凝固壊死に陥り¹⁾，内皮細胞，

図10 ダイレーザー照射後6ヵ月目の光顕像
拡張血管の再発はみられない。
H-E染色×100

図11 深在型単純性血管腫のダイレーザー照射後の光顕像

a : 577nm照射後24時間, 血栓形成はほぼ真皮上層に限られる。b: 585nm照射後24時間, 血栓は真皮中・下層にまで及ぶ。c: 577nm照射後1ヵ月, 拡張血管は真皮中・下層に多く残存。d: 585nm照射後1ヵ月, 拡張血管は真皮全層にわたって減少している。 H-E染色×100

周細胞、血管周囲膠原細線維はその微細構造を失う。照射後24時間目にはこの変性した血管内および周囲に多数の炎症性細胞が浸潤し、壊死組織の清掃が開始される。照射後1ヵ月目には壊死に陥った拡張血管とその周囲組織は完全に消失し、線維芽細胞、新生膠原線維、新生毛細血管、肥満細胞などから成る微小な肉芽組織に置き換えられている^{3, 8)}。照射後6ヵ月目にはこの微小な肉芽組織は瘢痕化し真皮膠原線維間に埋もれてほとんど同定できなくなり、ほぼ正常な皮膚像を呈する。単純性血管腫の血管は腫瘍的性格を有しない⁹⁾ため、再発はおこらない、というものである。

このように、単純性血管腫の治療にとって理想的ともいえる組織上の変化をもたらすフラッシュランプダイレーザーの特徴はその優れたパラメーター、とくに波長とパルス幅にあると考えられる。

SPTL-1P型の波長は577nmであるが、これは酸化ヘモグロビンの吸収係数の3つのピーク、418, 542, 577nmのうち組織深達性から577nmが選ばれた¹⁾。しかし単純性血管腫の治療にとって論理的に最も優れた波長である577nmも臨床的には問題がないわけではない。一つはレーザーが真皮血管に到着する前に表皮のメラニンにある程度吸収されることである。Tan et al.¹⁰⁾はタイプV以上の色素沈着を持つ皮膚では真皮の血管に変化を来さないと報告した。林ら¹¹⁾は色素沈着の強い例にはまずレーザー照射もしくは皮膚剝削術を行ってメラニンの多い表皮を除去、上皮化後のいわゆるpigment blockadeの時期に再照射を行って好成績を上げているが、これは本研究の結果とも一致しており、合理的な方法であると思われる。他の問題点は577nmのレーザーは組織深達性が約0.5mmと比較的浅い¹²⁾ため、深在型の単純性血管腫には効果が弱いことである。Tan et al.¹²⁾はブタの皮膚に7種類のレーザーを照射し、585nmが皮膚血管の選択的破壊性を損なうことなく約1.2mmの深達性が得られることを見出した。林ら⁵⁾はヒトの単純性血管腫でこの585nmが組織深達性に優れ、しかも577nmと同様、拡張血管の選択的破壊がおこることを実証した。SPTL-1型はこの585nmの波長を採用しており、現在一般に広く受け入れられている。

拡張血管の選択的破壊に関与するもう一つの重要なパラメーターはパルス幅であろう。Anderson et al.¹³⁾はthermal relaxation timeの概念をレーザー治療に導入し、単純性血管腫の拡張血管を選択的に破壊するパルス幅を算出した。これによれば直径20 μ mの血管は190 μ s、直径50 μ m血管は1.2msである。SPTL-1型のパルス幅は450 μ sに固定されており、電顕所見で拡張血管は熱凝

固壊死を起こしながら血管周囲の組織の損傷は最低限に止まっていることから、この450 μ sのパルス幅は妥当なものと思われる。Thermal relaxation timeよりはるかに短いパルス幅、1 μ sでは血管の破裂を引き起こして必ずしも治療に有効でないこと¹³⁾、またアルゴンレーザーのようなcontinuous waveでは非選択的な瘢痕を作ること¹⁴⁾が知られているからである。しかしながら、単純性血管腫にときにみられる直径の非常に大きい拡張血管に対しては450 μ sのパルス幅は十分な凝固壊死を引き起こすには短かすぎるかもしれない。

一回のレーザー照射で総ての血管が凝固壊死に陥るわけではないことは本研究の結果の項で述べた。レーザーエネルギーが吸収、散乱によって減衰し、すべての拡張血管を一度に破壊出来ないことは容易に想像される。従って臨床使用にあたっては繰り返し照射することによってその成績を向上させることが可能である¹⁵⁾ことを強調したい。

V まとめ

キャンデラ社製SPTL-1P型およびSPTL-1型フラッシュランプダイレーザーを用いて単純性血管腫を治療し、経時的に生検を行って光顕・電顕的に検索したところ以下の結果を得た。

1. 照射直後、拡張血管内赤血球の凝集と血管壁の凝固壊死を認めた。血管周囲組織の損傷は最低限に保たれた。
2. 照射後24時間目には壊死血管内の血栓化、血管周囲の炎症性細胞浸潤を認めた。
3. 照射後1ヵ月目には壊死血管部は肉芽組織におきかわっていた。
4. 照射後6ヵ月目には拡張血管は減少した。瘢痕の発生、血管腫の再発はみられなかった。
5. SPTL-1型はSPTL-1P型に比してより深い組織深達性が得られたが、拡張血管の選択的破壊性に差はなかった。
6. 色素沈着の強い例ではレーザー照射によって表皮の壊死が起こった。上皮化後数週間はpigment blockadeの状態を示した。6ヵ月後にはもとの色素沈着状態に戻った。

参考文献

- 1) R.R. Anderson and J.A. Parrish: Microvasculature can be selectively damaged using dye lasers, *Lasers Surg Med*, 1: 263-276, 1981.
- 2) O.T. Tan, J.M. Carney, R. Margolis, Y. Seki

- et al.:Histologic responses of port-wine stains treated by argon, carbon dioxide and tunable dye lasers, *Arch Dermatol*, 122 : 1016-1022, 1986.
- 3) 林 洋司, 安田幸雄, 置塩良政, 塚田貞夫:Tunable dye laserによる単純性血管腫の治療, *日本レーザー医学会誌*, 8 : 261-262, 1987.
- 4) 林 洋司, 安田幸雄, 塚田貞夫:Tunable dye laserによる単純性血管腫の治療(第1報), *日形会誌*, 8 : 38-48, 1988.
- 5) 林 洋司, 安田幸雄, 塚田貞夫:Flash-lamp dye laserによる単純性血管腫の治療効果-SPTL-J P型(577nm)とSPTL-1型(585nm)の比較-, *日本レーザー医学会誌*, 9 : 459-462, 1988.
- 6) R.R. Anderson and J.A.Parrish:The optics of human skin, *J Invest Dermatol*, 77 : 13-19, 1981.
- 7) O.T. Tan, J.G. Morelli, D.Whitaker, J.Boll et al.:Ultrastructural changes in red blood cells following pulsed irradiation in vitro, *J Invest Dermatol*, 92 : 100-104, 1989.
- 8) O.T. Tan, D.Whitaker, J.M. Garden and G. Murphy: Pulsed dye laser (577nm)Treatment of portwine stains: Ultrastructural evidence of neovascularization and mast cell degranulation in healed lesions, *J Invest Dermatol*, 90 : 395-398, 1988.
- 9) Y. Mitsuhashi, B.F. Odermatt, B.V. Schneider and U.W. Schnyder:Immunohistological evaluation of endothelial markers and basement membrane components in port-wine stains, *Dermatologica*, 176 : 243-250, 1988.
- 10) O.T. Tan, R. Kerschmann and J.A. Parrish: The effect of epidermal pigmentation on selective vascular effects of pulsed laser, *Lasers Surg Med*, 4 : 365-374, 1984.
- 11) 林 洋司, 安田幸雄, 塚田貞夫:Flashlamp dye laserによる単純性血管腫の治療(第1報), *日形会誌*, 10 : 総 296-297, 1990.
- 12) O.T. Tan, S. Murray and A.K. Kurban:Action spectrum of vascular specific injury using pulsed irradiation, *J Invest Dermatol*, 92 : 868-871, 1989.
- 13) 若松信吾, 安 成烈, 平山 峻:色素レーザー装置による照射後の鶏冠および単純性血管腫の組織変化, *西日本皮膚科*, 47 : 657-664, 1985.
- 14) J. Greenwald, S. Rosen, R.R. Anderson, T. Harrist et al.:Comparative histological studies of the tunable dye (at 577nm) laser and argon laser, *J Invest Dermatol*, 77 : 305-310, 1981.
- 15) 林 洋司, 安田幸雄, 塚田貞夫:Flashlamp dye laserによる小児の単純性血管腫の治療, *日本レーザー医学会誌*, 10 : 435-438, 1989.