創傷治癒遅延ラットに対する低出力レーザーの効果

小谷裕美、葛西眞一、沢 雅之、水戸廸郎

旭川医科大学外科学第2講座

Effects of low power LASER stimulation on delayed wound healing in rats

Hiromi Kotani, Shinichi Kasai, Masayuki Sawa, Michio Mito

Second Department of Surgery, Asahikawa Medical College

Abstract

Low power LASER has been reported to stimulate wound healing of experimental animals or clinical patients. In this study, low power LASER was investigated of it's availability for delayed wound healing model. A round wound of 1 cm in diameter was made on the bilateral backs of rats with delayed wound healing caused by streptozotocin (60mg/kg iv) induced diabetes mellitus or doxorubicin treatment (2 or 8mg/kg iv), and low power Laser was irradiated on the right sided wounds everyday. The areas of wounds were measured by the computed analyzer and compared each other.

Low power LASER stimulated wound healing in rats with diabetes mellitus or doxorubicin induced delayed wound healing. In photomicrograph by Azan stain of wounds, collagen fibers in irradiated side were more distinctive than in other side.

緒言

低出力レーザーは、生体に温度上昇を伴わずにエネルギーを与え、光化学効果などの生体反応を引き起こす。この光の生体反応のひとつに創傷治癒の促進効果があり、近年さまざまな研究が行われているが、詳細な機序はいまだ解明

されていない。

臨床的にしばしば経験する糖尿病は、末梢血流の障害や、種々の代謝異常をもたらし、その創傷治癒は遅延する¹⁾。また、抗癌剤であるドキソルビシン (ADR) の投与は、線維芽細胞の増生や膠原線維の生合成を阻害する事で創傷治

癒を遅延させる事が知られている^{2) 4)}。

そこで今回我々は、糖尿病やADR投与により創傷治癒が遅延したラットを用い、これらの状態での低出力レーザーの創傷治癒促進効果について検討したので報告する。

方 法

体重約200gのウィスター系ラットを用い、以下の3群に分けた。

第1群は糖尿病ラットで、ストレプトゾトシン60mg/kgを静注し、3週後の血糖を測定、300mg/dl以上の高値を示したものに創を作成した(n=6)。第2群はADR投与群で、低用量投与群では2mg/kg、高用量投与群では8mg/kgのADRを静注し、その翌日に創を作成した(n=10)。第3群は、対照群とした(n=20)。

ラットの両側背部に直径1cmの、固有背筋層直上までの深さの円形創を作成し、右側の創に低出力レーザーを連日照射した。使用機材はヘリウムネオンレーザー治療器(MERA He-Ne COLD LASER PDT)で、波長は632.8nmであり、この装置にスキャナー(MERA OPT-100)を接続して、創縁部を含め創全体が照射されるように、20cmの距離から3分間レーザー照射を行った。照射エネルギーは1回約5.4J/cm²になった。対照群にはレーザー照射を行わなかった。

創の外周を透明なフィルムに透写し、画像解析装置(Kontron MOP AMO3)を用いて創の面積を計算、第1日目の創面積を100%として創の縮小を比較検討した。統計学的有意差は、Student's t-testにより検定した。

結 果

糖尿病群では、対照群に比べ照射側、非照射側ともに創傷治癒が遅延したが、照射側の創の治癒速度は非照射側より有意に速く、特に第7日以降では、対照群とほぼ同等の治癒を示した(図1)。また、細菌学的検討は行っていない

図1. 糖尿病群における低出力レーザー照射時の創治癒

図2. 糖尿病群. アサシ染色(×200)

非照射側, 第5日

照射側, 第5日

非照射側, 第7日

照射側, 第7日

が、創傷治癒過程の炎症期で、照射側の創は非照射側より感染が少ない様であった。

糖尿病群の創縁部のアザン染色標本では、第5日では、照射側、非照射側ともに膠原線維の出現はまだ少ないものの、照射側では、創底部の浮腫が少ない傾向にあった。第7日に、照射側の創縁部に、配列は不規則だが膠原線維の出現がより著明にみられた。

ADR低用量投与群では、非照射側の創傷治癒は遅延したが、照射側の創は、対照群の創とほぼ同等の治癒を示した。(図3)

ADR高用量投与群でも非照射側の創傷治癒は遅延した。照射側の創は、対照群よりは遅延していたが、非照射側に比べて有意に治癒が促進された。(図4)

ADR高用量投与群のアザン染色標本で、第5日目では、創縁及び創底部の膠原線維の出現

は照射側、非照射側両方にみられたが、照射側でより規則的な配列がみられ、紡錘状の線維芽細胞が柵状に配列する傾向がより強くみられた。第7日の創では、この傾向はさらに著明になり、非照射側では不規則にみられる膠原線維が、網の目状に配列して多くの新生血管を取り巻く像がみられた。(図5)

図4, ADR高用量投与時における低出力レーザー照射時の創治癒

図3, ADR低用量投与時における低出力レーザー照射時の創治癒

図5, ADR投与(8mg/kg), アザン染色(×200)

非照射側, 第5日

照射側, 第5日

考 察

糖尿病においては、創収縮の遅延、顆粒球の創への遊走の障害や膠原線維の生成障害、血液の粘稠性の増加と血流障害などにより、創傷治癒の遅延が起こると考えられている。

Goodson と Hunt は、高血糖のマウスで開放創の開鎖の遅延があり、このことに膠原線維の生成障害と線維芽細胞の減少がかかわっている事を示した³⁾。また、佐々木らは、培養ヒト線維芽細胞を用い、ADR投与がプロリン残基の水酸化を阻害し、チミジンの細胞内への取り込みを阻害することで、膠原線維の生成が抑制され、細胞増殖を阻害されている事を示した⁴⁾。今回我々は、糖尿病やADR投与下の創治癒遅延モデルにおいて、低出力レーザー照射が創治癒を促進することを示した。このことと、照射側の創縁で膠原線維の増生と規則的な配列がみられた事とを考え合わせ、障害を受けた線維芽細胞の増殖能や膠原線維の生成能を、低出力レーザー照射が回復させた可能性が示唆される。しかし、高用量ADR投与群の照射側の創傷治癒は、対照群の治癒に比べて遅延した。それゆえ低出力レーザー照射による創傷治癒促進効果の限界や、最も有効なレーザー光の種類、照射エネルギー照射方法の選択が考慮される。

参考文献

- 1) D.Morain, W. D., Wound Healing in diabetes mellitus, Clin. Plast. Surg., 17, 493-501, 1990.
- 2) Fergusson, M. K., The effect of antineoplastic agents on wound healing, Surg. Gynecol. Obstet., 154, 421-429, 1982.
- 3) Goodson, W. H. and Hunt, T. K., Wound collagen accumulation in obese hyperglycemic mice, Diabetes, 35, 677-681, 1986.
- 4) Sasaki, T., Doxorubicin-induced inhibition of prolyl hydroxylation during collagen biosynthesis in human skin fibroblast cultures, J. Clin. Invest., 80, 1735-1741, 1987.