*in vivo*における低出力レーザー照射による血管反応の連続的観察

肥後礼子、杉本光代、松尾洋孝、守本祐司、荒井恒憲、菊地 眞
防衛医科大学校 医用電子工学講座

Low Power Laser Irradiation Induces Vasorelaxation or Vasocontraction of a Rat Femoral Artery *in vivo*

Reiko Higo, Mitsuyo Sugimoto, Hiroataka Matsuo, Yuji Morimoto
Tsunenori Arai, Makoto Kikuchi
Department of Medical Engineering, National Defense Medical College.

We previously observed that Argon ion laser (wavelength = 351 nm) induced vasorelaxation and Ti:Sapphire laser (800 nm) induced vasocontraction of a rat thoracic aorta *in vitro*. To investigate effects of laser irradiation on vessels *in vivo* we observed change in a diameter of a rat femoral artery during laser irradiation. Moreover, we investigated the mechanism for photovasorelaxation *in vivo* using four drugs as follows: L-NMMA (10^{-4} M), L-NAME (10^{-4} M), D-NAME (10^{-4} M) and NaNO_2 (10^{-5} M).

He-Cd laser (325 nm) produced vasorelaxation (150-200%) and Ho: YAG laser (2100 nm) produced vasocontraction (80-90%), and the vasorelaxation was enhanced with the drugs mentioned above.

These results of the present study were consistent with those of our previous *in vitro* studies. From the findings that the photovasorelaxation was enhanced with L-NAME, D-NAME and NaNO_2 , we consider that NO-like substance generated by laser irradiation plays an important role in laser-mediated vasorelaxation *in vivo* as well as *in vitro*.

1 はじめに

我々は今までに *in vitro* で、紫外域レーザー照射によるラット胸部大動脈の弛緩および近赤外域レーザー照射による収縮を観察し、その機序について検討してきた¹⁾²⁾。そこで今回は、レーザー照射による血管弛緩現象が血管れん縮に対する予防的措置となりうるか否か

を知るべく、*in vivo* ラットの大腿動脈にレーザーを照射して、*in vitro* と同様の反応が得られるかを観察した。さらにその機序につき薬理学的方法を用いて分析し、*in vitro* と比較検討した。

2 方法

体重 200 から 300 g の 12 週齢 Wister

図1 実験系

図Aに示すように、切開した皮膚を持ち上げて大腿動脈周囲に液体がたまるようにし、そこに薬物投与を行った。

系雄性ラットを用いた。50 mg/kgのペントバルビタールを腹腔内注射して麻酔をかけ、仰臥位に固定した。一側の大腿動脈にカテーテルを挿入して血圧を連続モニターした。反対側の大腿動脈を結合組織から注意深く剥離し露出した。図1Aのように露出した血管の周囲に液だまりを作り、約2 mlのKrebs液で満たし、そこに薬物投与した。リボン状ヒーターを用いてラットの直腸温を37度に保ち、呼吸数はレスピレーターを用いて120回/分で管理した。

液だまりにnorepinephrine (10^{-5} M) を投与して血管を収縮させた。図1Bのようにレーザーを石英ガラスファイバー（コア径 200 μ m）を用いて伝送し、露出した大腿動脈に外膜側より約60秒間非接触照射した。レーザー光源として、He-Cdレーザー（波長 325 nm、出力 2 mW）と、Ho:YAGレーザー（波長 2100 nm、パルスエネルギー 5 mJ、繰り返し周波数 2 Hz）を使用した。レーザー照射による血管の内径および外径の変化は、血管上方からカメラを用いて連

続的に観測しビデオに記録した。

つぎに薬理学的方法を用いて、レーザー照射による血管弛緩反応の機序を調べた。*in vitro* の実験において紫外域レーザー照射によるNO様物質の発生が弛緩に関与していることが示唆された。そこで今回の *in vivo* 実験においても同様の機序で弛緩が起こるかどうかを調べた。まずHe-Cdレーザーを血管に照射して反応を調べ、薬物を液だまりに投与した後、再度照射して反応の変化を調べた。薬物は、NO合成酵素阻害薬でニトロ基をもたないL-NMMA (10^{-4} M)、およびニトロ基をもつL-NAME (10^{-4} M)、L-NAMEの光学異性体でありNO合成酵素阻害活性はないがニトロ基をもつD-NAME (10^{-4} M)、亜硝酸イオンを持つ薬物NaNO₂ (10^{-5} M)の4種類を各々投与した。

3 結果

図2に示すようにHe-Cdレーザー照射によって血管内径は増加した（150–200%）。血管の弛緩は照射と同時に

図2 He-Cdレーザー照射による血管内径変化
左がレーザー照射前、右が照射後の血管である。照射条件は、波長325 nm、出力2 mW、照射時間は60秒である。照射部位の血管内径は照射前の約150%に増加した。

始まり20から40秒で最大に達し、照射後数分かけて元の径に戻る傾向があり、元の径の110から120%まで回復した。一方Ho:YAGレーザー照射によって血管外径は減少した(80-90%)。血管の収縮は照射と同時に始まり約10秒で最大に達し、照射後径はほとんど元に戻らなかった。

レーザー照射による血管弛緩反応の薬物投与による変化を表1に示した。L-NMMA、L-NAME、D-NAME、 NaNO_2 投与により血管弛緩反応はいずれも増強した。照射前の血管内径を100%とすると、薬物非投与群でも照射による弛緩がみられたが(150-200%)、L-NMMA投与群、L-NAME投与群、D-NAME投与群では弛緩が中等度に増強し(220-240%、190-230%、200-210%)、 NaNO_2 投与群では弛緩が大きく増強した(200-320%)。

4 考察

我々はすでに*in vitro*の実験でつぎの段落に述べるような知見を得、本大会

論文集に共同実験者の杉本らが、「低出力レーザー照射によるラット大動脈平滑筋の張力変化：*in vitro*における検討」と題して発表している。

*in vitro*で、ラット胸部大動脈にレーザーを照射したところ、照射波長の短いとき(紫外域から青色可視域)には弛緩が観察され、長くなるにつれて収縮が起こりやすい傾向が認められた。また、血管の受ける吸収熱量に依存して照射による収縮が起こった。以上より、収縮はレーザーの熱作用に起因すると考えられた³⁾。さらに弛緩の機序を薬理学的方法を用いて調べた結果、照射による弛緩は、グアニレートシクラーゼ阻害薬であるメチレンブルー投与によって抑制された。一方、内皮の除去またはNO合成酵素阻害薬であるL-NMMA投与では弛緩は変化せず、L-NAME、D-NAME、 NaNO_2 投与により弛緩の増強が認められた。これらの結果より、弛緩は、照射により発生したNO様物質による間接的なグアニレートシクラーゼの活性化、あるいはレーザー照射による直接的なグアニ

表1 He-Cdレーザー照射前の血管内径を100%としたときの各薬物投与群での照射後の内径の大きさ

投与した薬物	照射後の内径 (%)
Drug (-)	150-200
L-NMMA	220-240
L-NAME	190-230
D-NAME	200-210
NaNO ₂	200-320

レートシクラーゼの活性化によると思われる。

今回 *in vivo* の実験においても、赤外域の光照射により血管収縮が認められたが、これは *in vitro* と同様にレーザーの熱作用が関与していると推定される。また紫外域の光照射により弛緩が観察された。この現象にも *in vitro* の場合と同様に、レーザー照射によるNO様物質の発生が関与していることが示唆された。L-NAME、D-NAME、NaNO₂投与により弛緩の増強が認められたが、これは薬物のニトロ基または亜硝酸イオンに光が作用して生じたNO様物質によるものと考えられた⁴⁾。

L-NMMA投与群では、*in vitro* においては弛緩に変化を認めなかったが、*in vivo* では弛緩が増強した。ニトロ基のないL-NMMAでは光照射によるNO発生が考えにくい。*in vivo* での光照射による弛緩反応には血管と血液との相互作用が関係しているとの報告もあり⁵⁾、L-NMMAは血液や神経系など血管以外の組織を介して弛緩を増強させている可能性が考えられた。

参考文献

- 1) 田畑晋司、他. 低出力レーザー照射による大動脈平滑筋張力に対する影響について：照射波長と照射強度に対する検討. 第14回日本レーザー医学会大会論文集 1993: 553-556
- 2) 松尾洋孝、他. 可視域レーザー照射による血管平滑筋の収縮に対するカルシウムの影響に関する検討. 第14回日本レーザー医学会大会論文集 1993: 557-560
- 3) Steg PG, et al. Effect of argon laser irradiation on rabbit aortic smooth muscle; evidence for endothelium independent contraction and relaxation. *Cardiovasc Res* 1988; 22: 747-753
- 4) Treinin A, et al. Absorption spectra and reaction kinetics of NO₂, N₂O₃, and N₂O₄ in Aqueous Solution. *J Am Chem Soc* 1970; 92: 5821-5828.
- 5) Schwengel RH, et al. Characterization of pulsed-dye laser-mediated vasodilatation in a rabbit femoral artery model of vasoconstriction. *Laser Surg Med* 1993; 13: 284-295