Nd:YAGレーザーの生体に対する波長特性 に関する研究

Studies of photobiological effects of
Nd:YAG laser radiation.

葛西真一^{*}, 水戸廸郎^{*}, 三沢 裕^{**}, 並木正義^{**},
敦賀俊紀^{***}

Shinichi Kasai, Michio Mito, Hiroshi Misawa,
Masayoshi Namiki and Toshinori Turuga

* 旭川医大第二外科, ** 同第三内科, *** ムトウ(株)

*Asahikawa Medical College, 2nd Dept. of Surg.,
3rd Dept. of Int. Med., *Mutō Comp.

Our clinical experience has shown that intractable gastric ulcers can be healed effectively by Nd:YAG laser phototherapy. One of the mechanisms is a destructive effect on the fibrous tissue of the ulcers by high power densities of laser radiation. The other is a specific effect on it of the wave length. However, these mechanisms are still unclear. The purpose of this study is to make clear a specificity of the wave length of Nd:YAG laser in biological effect.

Laser was radiated to the cultured canine hepatocytes in plastic culture dish at 50w of out put power, 5 second duration and 10cm of distance. Power densities were applied from 120 to 480 J/cm² in this condition. The specific effect of the wave length was evaluated by the measurement of the viability of hepatocytes, the ability of ³H-thymidine and ¹⁴C-leucine up-takes after 24 hours of radiation.

Temperature in the culture dish rose to approximately average of 44°C during radiation. Viability of hepatocytes was 94±1% before radiation and was 95±1% after radiation with 480J/cm². The ability of up-take of the radioisotopes showed no remarkable changes in comparison with non radiation group.

These results suggest that the specific effect of the wave length is not essential on a healing of intractable ulcers in condition of usual clinical application of Nd:YAG laser.

1. はじめに

われわれは、数年来高出力YAGレーザーにより消化管出血や消化管腫瘍などの治療を行い、良好な成績を得てきた^{1,2)}が、この場合の治療効果機序としては、熱エネルギーによる蛋白変性作用が主なものと考えられる³⁾。一方、レーザー照射後に生じた潰瘍が比較的速やかな治癒経過をとるという臨床経験から、難治性胃潰瘍に対するレーザー照射療法を試みたところ、同様に潰瘍が治癒することが確認された⁴⁾。この場合の潰瘍治癒の機序としては、過剰のfibrosisによつて硬くなつていた潰瘍辺縁を一端新鮮な潰瘍にして、新たな治癒機転を引き起こすことや、レーザー光線による生体活性化作用によることなどが考えられる。後者の作用を治療に応用する場合には、通常ルビー・He-Ne、アルゴンなどのレーザーが用いられている。そこでわれわれは、波長1.06 μ mのNd:YAGレーザーにも潰瘍の治癒機転を促進する生体活性化作用があるかどうかを検索しているが、今回は、弱い出力のYAGレーザー照射が、培養犬肝細胞に及ぼす影響を検討したので報告する。

2. 装置ならびに方法

使用した装置は、米国モレクトロン社のYAGレーザー model 8000 である。

犬肝細胞の採取法は、コラゲナーゼ消化法によつた⁵⁾。

直径35mmのフアルコン・プラスチック培養シャーレに、 0.5×10^5 個の肝細胞を入れ、CO₂ インキュベーターで24時間培養後、出力50w、距離10cmで、連続5秒間を3回、6回、12回照射した。即ち照射エネルギーはcm²あたり120J, 240J, 480Jである。

照射による影響は、以下の方法、即ち、①照射後、各シャーレあたり1 μ Ciの³H-チミジンを加え、24時間後にそのup-take率を測定、②照射24時間後に、各シャーレ当たり1 μ Ciの¹⁴C-ロイシンを加え30分間培養後、そのup-take率を測定、③前記測定時のトリパンブルーによる生存率の測定、で検討した。また、照射中のシャーレ内の培養液の温度変化を、交叉熱電対温度計で測定した。

3. 成績

採取肝細胞のトリパンブルーによるviabilityは平均 $91 \pm 5\%$ であり、培養6時間目ですでに数石状にシャーレ底に接着するのが観察された(写真-1)。

写真-1 培養6時間目の肝細胞

図-1は、連続5秒間を12回照射した場合のシャーレ中の温度変化の記録を示す。センサーの位置により多少のバラツキは見られるが、ピーク温度は38~53°Cの範囲であり、照射終了後は直ちに室温にもどっており、培養液自体の温度上昇は少く、低エネルギーの照射状態であることが確認された。

図-1 レーザー照射時の温度変化

写真-2は、レーザー照射直前と、12回、即ち480Jを照射した直後の鏡映像である。形態学的に、照射による影響は全く認められず、これは³H-チミジンや¹⁴C-ロイシン投与後でも同様であつた。

照射後³H-チミジンを添加した24時間後では、接着細胞のviabilityは、非照射群、15, 30, 60秒照射群のおの、 92 ± 3 , 87 ± 5 , $90 \pm$

写真-2 レーザー照射前後の培養肝細胞

図-3 レーザー照射時の³H-thymidine の up-take

図-4 レーザー照射時の Viability (¹⁴C-leucine)

図-2 レーザー照射時の Viability (³H-thymidine)

3, $90 \pm 3\%$ で有意の差は認められなかった (図-2)。

³H-チミジンの up-take 率を、非照射群を 100% とすると、15, 30, 60 秒照射群はおのの、 93 ± 13 , 104 ± 9 , $96 \pm 14\%$ であり、有意差は認められなかった (図-3)。

次に、¹⁴C-ロイシンの up-take 能の測定であるが、この場合の viability は、非照射群, 15, 30, 60 秒照射群おのの、 94 ± 1 , 96 ± 6 , $95 \pm 1\%$ で、有意の差は認められなかった (図-4)。

非照射群の ¹⁴C-ロイシン up-take 率を 100% とすると、15, 30, 60 秒照射群ではおのの 94 ± 8 , 95 ± 3 , $97 \pm 7\%$ と、やはり有意の差は認められなかった (図-5)。

図-5 レーザー照射時の¹⁴C-leucine の up-take

4. 考 察

今日、医用レーザーとして診断や治療に用いられているレーザーには、生体に対する熱作用を利用した強い連続波レーザーである CO₂, Nd:Y AG などと、光としての作用を利用した弱いレ-

レーザーであるHe-Ne, ルビー, Ar などがある。われわれは、Nd:YAGレーザーを用いて、消化管出血や腫瘍の治療を行っているが、この場合は前者の熱作用を利用していることになる。この治療中に、照射により生じた潰瘍が治癒しやすいという印象を持つたことから、難治性胃潰瘍治療への応用を試みた。その結果、7例全例に潰瘍の瘢痕治癒を認めた。この場合のメカニズムとしては、強いfibrosisの為に治癒過程に歪みの生じた古い硬い潰瘍にレーザー照射をしていつた新しい潰瘍にし、新たな治癒機転をおこさせることが考えられるが、Nd:YAGの生体に対する波長特性も否定できない。弱いレーザー光によるphotoenzymaticな生体反応は、He-Ne, Ar, ルビーなどでは調べられているが、Nd:YAGのそれはほとんど検討されていない。そこで今回は、この点を解明するために、日常臨床的に使用されている程度のNd:YAGの出力で、熱作用を除外した弱いエネルギー密度を用いることにより、Nd:YAGの波長による生体作用を検討した訳である。培養肝細胞を用いた理由は、肝細胞は培養系では通常核分裂をおこさないで、レーザー照射によりこれが刺激されれば、 ^3H -チミジンの取り込みにより容易に判定できること、また肝細胞は機能細胞として多数の酵素系を有しているので、レーザー光による活性化の有無を判定しやすいこと、さらに培養肝細胞は何らかの障害により比較的容易に接着面より遊離し破壊されることなどである。シャーレは透明なプラスチックで、培養面に直角に直上より照射し、その下には、反射や散乱光による影響を除くための空間を設けた。従つて、一層の培養肝細胞面をレーザー光が透過することとなり、温度上昇もピーク時で平均 4.4°C 程度であつた。エネルギー密度も、計算上60秒で 480 J/cm^2 で、細胞に対する熱作用はほぼ無視できるものと考えられる。

以上の実験モデルによる成績をみると、Nd:YAGレーザー照射による肝細胞への影響は、形態学的にもviabilityの点でも、また ^3H -チミジンや ^{14}C -ロイシンのuptake率の点でも、非照射群と全く同様であつた。即ち、培養肝細胞に対して、弱いレーザー光は毒性効果(photo-toxic effect)も、また光活性化効果(photo-

activation)も示さなかつたということができる。このことは、難治性胃潰瘍治療におけるNd:YAGレーザーの作用機序が、高エネルギーに基づく組織蛋白の変性という熱作用によるものであり、通常の内視鏡的使用条件のもとでは、波長特性はほとんど関与していないことを示すものと考えられる。従つて、この治療効果はNd:YAGレーザーに特異的なものというよりは、組織の熱損傷に対する生体反応という概念で捉えた方が良いと思われるが、今後さらにin-vivoの実験モデルにより検討を加えたい。

5. 結 語

低出力のNd:YAGレーザーを培養肝細胞に照射し、Nd:YAGの波長特性を形態学的ならびに ^3H -チミジンや ^{14}C -ロイシンのuptake能により検討したところ、非照射群と有意の変化は認められなかつた。このことから、難治性胃潰瘍に対するYAGレーザー照射時の治療効果発現の機序として、波長特性はほとんど関与していないことが示唆された。

文 献

1. 葛西真一, 他: 医用レーザーの臨床応用に関する基礎的研究. 第17回日本ME学会大会論文集: 163, 1978.
2. 水島和雄, 他: レーザーの内視鏡と臨床. 日医会誌 86:333, 1981.
3. Staehler, G., et al: Dosimetry for Neodymium YAG laser applications in urology. International Medical Laser Symposium, Detroit, 1979.
4. 原田一道, 他: 難治性胃潰瘍の治療におけるレーザーの応用. Gastroent. Endoscopy, 23:1752, 1981.
5. 葛西真一, 他: Hybrid Artificial Liverの研究. 人工臓器, 10:541, 1981.