低出力レーザー光照射後のラット総頸動脈の組織学的検討

Histological Evaluation of Rat Carotid Artery Wall to Low-Power Laser Irradiation

王天明, 口脇博治, 木野本武久, 橋詰良夫, 景山直樹, 宮崎保光*

Tianming Wang, Hiroji Kuchiwaki, Takehisa Kinomoto,
Yoshio Hashizume, Naoki Kageyama, Yasumitsu Miyazaki.*

名古屋大学脳神経外科第一病理, *豊橋技術科学大学情報工学系

Nagoya University * Toyohashi University of Technology.

In order to evaluate the safety of the noninvasive laser-doppler-velocimeter that authors are trying to develop, this study was designed to investigate the histological change of the arterial tissue following irradiation of laser in vivo.

Common carotid arteries of 74 rats (weight 200g) were irradiated unilaterally with a He-Ne laser (NEC GLG 5700 model, wave length 633 nm, power output 27 mW, focus diameter 200 μ m) for 5, 15, 30, 60, 120 minutes, respectively, and the histological examination of the artery walls was carried out in 48 hours (acute stage), 1 week (subacute stage) and 4 weeks (chronic stage) after irradiation.

According to irradiation power, the rats were divided into two groups: the full power (27 mW) group and the half power group. Each evaluation consisted of two or three rats. The contralateral common carotid arteries were taken as the control.

Degenerative changes, especially in the middle layer of the artery wall, were found in all the full power group rats and in some of the half power group rats irradiated more than 60 minutes.

It seemed that these pathohistological changes became more remarkable with the longer irradiation time.

1. はじめに

低出力レーザーの医学的応用はすでにいくつかの分野で成果をあげつつある。即ち低出力レーザー誘発光化学効果^{3, 9)}による悪性腫瘍に対する治療や、鍼の代りに低出力レーザーの生体に対する刺激効果を利用する疼痛の治療とか、低出力レーザーの血管吻合への応用などである。著者らは低出力レーザー光線を用いてレーザードップラー法により生体に対し無侵襲で血流計測を目的とした

計測器の開発を試みている。この際問題となるのは、低出力レーザー光照射が生体の血管に対してどの範囲で(出力と照射時間、即ち血管にどれほどのエネルギーを与えるか)適用すれば無害であるかを検討することであり、このため以下の実験モデルを用い検討した。

2. 材料及び方法

Wistar rat (♂ 200g weight) 計74頭を用い、

図1. 実験装置

F : 透過率可変 filter

M : Mirror

L : Lens

θ : レーザー光照射角度

充分なネブタール腹腔内麻酔にて、図1のような方法で、しっかり固定し、局所を清潔に保ちながら、手術顕微鏡下で両側総頸動脈を充分露出した。一方の総頸動脈壁にレーザー beam をレンズ (L) で、直径約 200 μ m まで絞り、60-70度の角度で照射した。標本作成時照射部位の同定が容易になるように標的部位の筋肉に無菌系で標識をつけた。照射中の観察は実体顕微鏡によって行ない、以下に述べる急性期の変化はこの観察結果をも含めた。

レーザー光 (NEC 製 GLG5700 型 He-Ne レーザー、波長 633 nm、出力 27 mW) は透過率可変 filter (F) を用い 27 mW の full power 群とそれの half power 群に分けた。照射時間は 5, 15, 30, 60, 120 分とし、各 stage は 48 時間以内を急性期とし、亜急性期は一週目、慢性期は 4 週目として動脈壁の組織変化を検討した。各群の各 stage の各照射時間帯で検討した動物は 2-3 匹である。それぞれの動物における対照血管としては、同一 rat で同じ条件下の非照射側総頸動脈を用いた。血管摘出標本を formalin で固定した後、Hematoxylin-eosin (HE) 染色と、一部で Elastica van Gieson (EVG) 染色にて連続横断切片の標本を検討すると同時に電顕標本も作成したが、今回はまず光顕レベルの検討結果を報告する。

3. 結果

今回の実験で、急性期から慢性期を通じて各群全例の非照射側血管壁はすべて異常変化が認められなかった。又照射中血管の表面の焼灼及びこれに基く変形・出血・血管破損などの所見もなかった。照射された rat の死亡例はなかったが、約 10% に局所の感染が見られた。しかし血管そのものに対する圧迫、血栓形成や炎症などの及んだものはなかった。亜急性期、慢性期 rat 共血管周囲に癒着が認められたが、検討の対象として不適切な例は認められなかった。

照射側の血管標本を検討するとそのいくつかに病的組織像が見出された。

まず照射光の power における病変像の分布を見ると、full power 群の照射時間 5 分を越えた各 stage の照射側標本には病変が認められた。そして half power 群では照射時間 60 分を越えた各例にも病変像が見られた。

その組織変化の程度と照射時間との関係を検討すると、照射時間の長い程著明になる傾向が認められた。

組織学的変化を有する病像が各 stage においてそれぞれの特徴を持つように見える。即ち、急性期では血管の中膜及び内膜の著明な浮腫状が主な表現となる。図2はその組織学的変化を示す典型例である。この例は half power 群 120 分照射例の照射側血管の急性期変化を示す標本である。矢印で示す照射部位に中膜の平滑筋細胞の核が消失し、細胞が浮腫状となっている。これに接する内膜も厚くなり浮腫状を呈した。弾性線維染色標本では血管壁の浮腫のため、弾性線維の太さは変わらないがその密度は粗になり、正常血管弾性線維の波形構造を失い、伸展された状態を呈している。

亜急性期となると各群に共通した典型変化として血管壁中膜の浮腫がまだ残っているが内側の弾性線維がやや太くなり、その間の平滑筋細胞が消失した。

更に慢性期に移るとその組織変化の特徴としては血管壁の浮腫が消失し、弾性線維は目立つよ

図2. Half power 群 120分照射急性期血管組織像

A : Hematoxylin-eosin 染色×100

矢印で示す部位には血管中膜の平滑筋細胞の核が消失し、細胞が浮腫状となっている。

B : Elastica van Gieson 染色×100

血管壁の浮腫のため、弾性線維の密度は粗になり、正常の波形構造を失い、伸展された状態を呈している。

うになりその間の平滑筋組織が完全に吸収され、血管壁がやゝ薄くなった。

各群を通じてどの時期における照射部位にも細胞増殖などの変化は認められなかった。これらの組織病変は従来の病理学的炎症治癒過程にあてはめて考慮すべきかどうかが多少疑問であるが刺激効果と言うより、むしろ退行変性の過程にあるものとの認識が成り立つと考えられる。

4. 考 察

He-Ne レーザー光は発振光の質が良く、取扱いても簡単で、最もポピュラーなレーザー光として医学領域に応用されている。特にその光は生体組織への浸透性が良く^{5,8)}、低出力で比較的深い部分に影響を与えることが出来て、レーザー鍼(Laser acupuncture 2~5mW)^{8,10)}や創傷治癒促進(5mW)⁸⁾にも用いている。また眼科における視力と眼屈折率の測定、眼底血流速度の測定にも使用されている^{7,8)}。

これらの場合には出力はいずれも小さくて(<5 mW) 連続照射時間も比較的短い。このためそのほ

とんどが生体に対して無害と考えられ組織損傷などの demerits については検討されていない。特にレーザー光照射による生体への影響が詳細には不明な現時点で急性変化に限らず慢性変化を検討することはこれからのレーザー応用機器の基礎となる重要な問題を含んでいると思われる。

今回著者が用いたHe-Ne レーザー出力は full power は 27 mW であり上述の用途のレーザー出力に比べ強い power を有する。

更にこれを単位面積あたりの power density に概算し、spot diameter をレンズで 200 μm まで絞った場合、約 90 W/cm² となる。しかし He-Ne レーザー光の組織透過率は高くても、血管壁のエネルギー吸収率を 5~10% とすると、power density は 4.5~9 W/cm² となってしまう。更に照射時間を 5 分(300 S) から 120 分(7200 S) と延長することにより照射部位のエネルギーは 1350~2700 J/cm² から 32400~64800 J/cm² とばく大なものになってしまう^{1,2,4,6)}。つまり今回の Laser irradiation での病巣はこのようなエネルギー照射のもとで形成されたことになる。

今回の実験に認められた血管壁の組織変化を生じた可能性のある原因としては、①レーザー光照射によるもの、②血管を露出時の或は血管摘出時の血管に対する機械的損傷、③感染によるものなどがあげられる。

今度の所見の特徴をまとめると、〈1〉病変は血管横断面の一カ所にあり、しかもその範囲は大抵 200~300 μm に限られていた。これはレーザー beam の太さとほぼ一致している。〈2〉病的所見は非照射側に見出されなかった。〈3〉病変の性質に関しては、炎症性というより、むしろ退行変性のようなものと考えられる。〈4〉病変は照射光の出力と照射時間との間にある関係を持つように見える。こう考えると、レーザー光照射により生じたものとの可能性が強いと思われる。

今度の病変は炎症性のものでないことは明らかであるから、全例の 10% は肉眼的に被っていた頸部筋肉、特に糸結びの標識を中心とした部分に感染・炎症が認められ、でも血管に及んだもので

はなかつたので、炎症によるものとは考えにくい。

機械的損傷とすると、両側血管に同じ頻度起るはずであったが、実にも血管外膜は両側とも損傷を加えていた。だから血管外膜についての検討は出来なかった。但し、中膜に認められた病変は照射側にしか認められなかったので一概に機械的損傷とは言い難い。

生体組織はレーザー光照射される場合に、その波長によって生ずる反応が異なる。それに同一レーザー光照射に対しても各種の組織の光吸収率も反応も一致とは限らない。今度の実験に、血管壁がどのような機序でこういう反応を生じたかがまだ明らかでない。今後更に検討する必要があると考えている。今回の実験の結果によって 27 mW の half power を用いても連続照射時間が 60 分を越えると血管そのものにむしろ退行性変性ような変化を認めたことになるので、例え検査に用いる場合でもその出力や時間的配分を考慮すべきであると考えられた。

References

1. Fox JL, Hayes JR, Stein MN: Experimental cranial and vascular studies of the effects of pulsed and continuous wave laser radiation. J Neurosurg 27: 126-137, 1967
2. Yoshii Y, Egashira T, Maki Y: Use of evoked responses to measure laser photoradiation tissue effects. Neurosurgery 14: 131-134, 1984
3. Edwards MSB, Bogan JE, Fuller TA: The laser in neurological surgery. J Neurosurg. 59: 555-566, 1983
4. Toya S, Kawase T, Iisaka Y, et al.: Acute effect of the carbon dioxide laser on the epicerebral microcirculation. J Neurosurg. 59: 193-197, 1980
5. 池田 公, 口脇博治, et al: レーザードップラー法による血流速測定の試み.
日本臨床 43. №2 71-75. 1985.
6. 江頭泰平, 吉井与志彦, 牧 豊: アルゴン・レーザーによる脊髄傷害後の生理機能変化に関する基礎的研究,
日本レーザー医学会誌 6 №2 23-27. 1985.
7. 北沢克明, 白土城明: レーザーの眼科応用,
日本レーザー医学会誌 5 Vol. 1, 8-13, 1985.
8. 久保宇市: 医用レーザー入門,
オーム社, 東京 1985.
9. Dougherty, T.J., Kaufman, J.E., Goldfarb. A, Weishaupt, K.R. et al.: Photoradiation therapy for treatment of malignant tumors, Cancer Res., 38: 2628-2635, 1978
10. 神川喜代男: レーザー学会学術講演会第 3 回
年次大会講演予稿集, p179(1983).