

原 著

単純性血管腫に対する短パルス色素レーザーと皮膚冷却装置付長パルス幅 色素レーザーによる治療効果の組織学的検討

東京女子医科大学形成外科（主任：野崎幹弘教授）

オオクボ レイ
大久保 麗

（受理 平成20年12月11日）

Histological Comparison of the Efficacy of Long-pulsed Dye Laser with a Skin Cooling Device Versus Short-pulsed Dye Laser in Treatment of Hemangioma Simplex

Rei OHKUBO

Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Tokyo Women's Medical University, School of Medicine

A recently developed long-pulsed dye laser with a skin-cooling device (Vbeam™) is reported to be more effective in the treatment of hemangioma simplex compared to conventional dye lasers. Although there have been reports that describe the superiority of V beam laser in the treatment of hemangioma simplex, the treatment effect in terms of vessel number and changes in diameter has yet to be reported. In this study, we looked at the size and number of blood vessels in tissues collected from sites of hemangioma simplex pre and post treatment. These specimens were analyzed histologically to compare treatment efficacy.

Histological examination of specimens collected after Vbeam™ laser therapy for hemangioma simplex revealed that small blood vessels ($\leq 30 \mu\text{m}$ in diameter) constituted a major proportion of the remaining vessels and that the number of large vessels with a diameter $>30 \mu\text{m}$ was lower than in other tissues. Vbeam™ therapy has been shown to enable more intense irradiation than conventional dye laser therapies and thus be more effective for larger blood vessels.

This result suggests the need for further treatments such as ① more intense irradiation, ② overlapping irradiation, ③ irradiation using a larger aperture, and ④ nonselective laser therapy.

Key words: hemangioma simplex, dye laser, long-pulsed dye laser, laser treatment

緒 言

1980年代に色素レーザーが開発されて以来単純性血管腫に対する治療としてはレーザー治療が第一選択である。1999年に皮膚冷却装置付長パルス幅色素レーザー（以下Vビーム）が開発され、単純性血管腫に対する治療成績は更に向上した。色素レーザー治療に抵抗性の単純性血管腫にVビームを照射して効果が得られた報告もある¹⁾。

その理由としてはVビームが従来の色素レーザーと比較して、冷却することにより高出力照射が可能であり、また波長が長く、パルス幅が可変式になったことにより深部の血管および血管径が大きい血管の治療が可能になったためであるといわれている^{2)~4)}。

しかし色素レーザー照射後の血管腫の組織と、さらにVビームを照射した組織を比較して、実際に血管数や血管径の変化を計測した報告は渉猟し得た限り認めなかった。

そこで今回単純性血管腫の症例に対し、未治療の部位と、色素レーザー照射後、さらにVビーム照射後のレーザー治療の効果について組織学的に比較検討した。

対象および方法

単純性血管腫の治療希望で当科を受診した患者のうち、組織採取の了承を得られた症例を対象とした。その内訳は未治療23例（未治療群）、色素レーザーを複数回照射した23例（色素レーザー治療群）とV

表1 対象例の内訳

	性別 (例)		平均年齢 (歳)	平均照射回数 (回)		部位 (%)			
	男性	女性		色素レーザー	V ビーム	顔面	体幹	上肢	下肢
未治療群	6	17	23	0	0	52.2	13.0	8.7	26.1
色素レーザー治療群	5	18	20	5	0	43.5	13.0	8.7	34.8
V ビーム治療群	9	14	29	6.1	4.2	60.9	13.0	8.7	17.4

表2 各群における血管径別計測結果

血管の深さ		血管径 (μm)				
		~ 30	31 ~ 60	61 ~ 90	91 ~ 120	121 ~
乳頭層	未治療群	79	45	8	2	0
	色素レーザー治療群	71	18	0	0	1
	V ビーム治療群	97	23	1	0	0
乳頭下層	未治療群	162	75	34	20	36
	色素レーザー治療群	139	76	10	6	0
	V ビーム治療群	160	47	4	1	0
真皮上層	未治療群	70	55	38	24	31
	色素レーザー治療群	102	88	43	18	10
	V ビーム治療群	136	52	10	2	1
真皮中層	未治療群	38	56	28	16	12
	色素レーザー治療群	47	47	44	27	12
	V ビーム治療群	114	58	21	8	0
真皮下層	未治療群	1	12	5	6	4
	色素レーザー治療群	0	7	7	10	8
	V ビーム治療群	3	9	9	7	2

ビームを複数回照射した 23 例 (V ビーム治療群) であった。未治療群は男性 6 例, 女性 17 例, 平均年齢 23 歳, 色素レーザー治療群は男性 5 例, 女性 18 例, 平均年齢 20 歳, 治療の平均回数は 5 回であった。V ビーム治療群は男性 9 例, 女性 14 例, 平均年齢 29 歳で V ビーム治療の平均回数は 4.2 回であり, これらの症例はいずれも V ビーム治療前に色素レーザー治療を平均 6.1 回照射していた (表 1)。

照射部位の内訳は未治療群で顔面 12 例, 体幹 3 例, 上肢 2 例, 下肢 6 例であった。色素レーザー群では顔面 10 例, 体幹 3 例, 上肢 2 例, 下肢 8 例であり, V ビーム群で顔面 14 例, 体幹 3 例, 上肢 2 例, 下肢 4 例であった (表 1)。

今回使用したレーザー装置およびその照射条件は以下のごとくである。色素レーザーはサイノシユア社製 PhotogenicaV™, 発振波長 585nm, スポットサイズ 5, 7, 10mm, パルス幅 0.45msec であり, 冷却装置付長パルス幅色素レーザーはキャンデラ社製 V beam™, 発振波長 595nm, スポットサイズ 5, 7, 10mm, パルス幅 0.45~40msec を用いた。冷却装置はスプレー式で, レーザー照射直前に照射部位に冷却ガスが噴射される DCD (dynamic cooling device™) である。照射条件は色素レーザーではエネルギー 5.5~6J, V ビームではパルス幅 1.5~10msec,

エネルギー 9~15J で照射した。

組織の採取は全例血管腫内の皮膚を 3mm デルマパンチで行い, 10% ホルマリン液で固定後 4 μm のパラフィン包埋薄切片とした。ヘマトキシリン-エオジン染色と抗ヒト factor VIII 免疫染色 (Dako 社製) を行った後, 標本中の血管数と深さを顕微鏡下に目視で計測した。それらの数値は各群間で t 検定により有意差判定をした。

また, 5 例では色素レーザーと V ビームを照射した直後に同様に組織を採取し, レーザー照射による血管への影響をみた。

結 果

1. 血管数の比較

切除標本の血管数を血管径別に比較した (表 2, 図 1)。色素レーザー治療群では未治療群と比較して 30 μm 未満から 120 μm まで増減はあまりなく, 121 μm 以上の血管径で血管数の有意な減少がみられた。

V ビーム治療群では血管径が 30 μm 以下の血管数は有意に増加していたが血管径が 31 μm 以上では減少しており, 61 μm 以上の血管数は未治療群と比較し有意に減少していた。

次に深さにより各層別に血管数を比較した (図 2)。乳頭層および乳頭下層までの血管数をみると, 色素レーザー治療群と V ビーム治療群において未

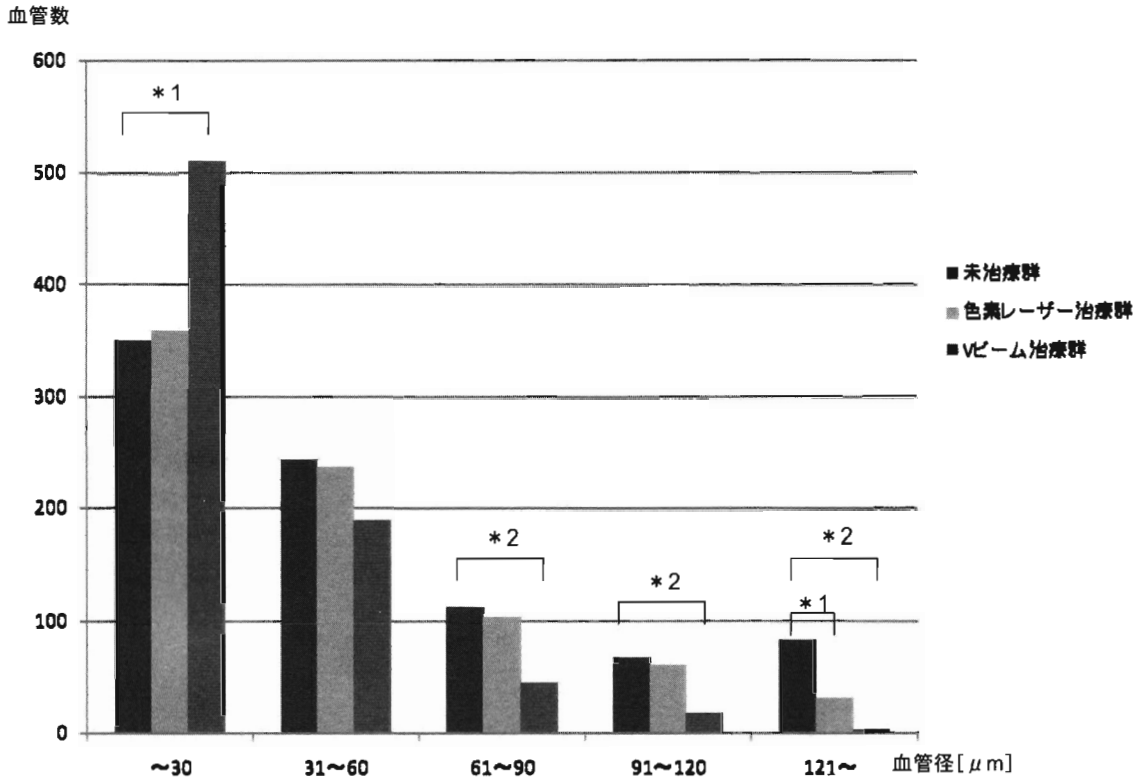


図1 各群間での口径別血管数の比較
* 1 : $p < 0.05$. * 2 : $p < 0.01$, t-test.

治療群と比較して血管数は減少していた(図2a). しかし真皮中層および下層では色素レーザー治療群で血管数の減少は認めなかった.

Vビーム治療群では真皮上層でも61μm以上の血管数は未治療群に比較して有意に減少していた. しかし真皮中層から下層にかけての血管数は121μm以上でのみ減少していた.

2. 組織像の比較

最終照射直後の標本では色素レーザーで700μmの深さ(真皮中層)の血管では直径200μmの血管内で凝血が見られたが血管内皮は連続性が保たれており損傷は見られなかった(図3a). 一方Vビーム治療群では深さ1,000μm(真皮中層)で直径250μmの血管内で凝固がみられ, 血管内皮の損傷と赤血球の漏出を認めた(図3b).

3. 症例

47歳男性. 背部の単純性血管腫で, 照射前と色素レーザー3回照射したが奏功せず, 患者の希望により, さらにVビーム7回照射したところ臨床的には薄い淡紅色斑が残存する程度に改善が得られた(図4a). 経時的に組織標本を比較すると, 色素レーザー照射後には主に直径60μm以下の血管が散在していたが, Vビーム照射後ではこれらの血管径の数は減

少した. しかし直径が30μmより小さい血管の残存が見られた(図4b~d).

考 察

単純性血管腫に対する治療は, パルス発振式の色素レーザーが, 瘢痕を生じずに治療できる方法として第1選択とされてきた^{5)~8)}. しかし色素レーザーである程度の色調の改善や面積の縮小は得られても完全に消失することは難しい. 近年パルス幅が変更可能で, 450μ~40msecまでの可変式パルス幅色素レーザーが開発され, 波長は595nmと色素レーザーの585nmよりも長く, また照射時に皮膚を冷却するDCDにより高出力でも安全性を高めた治療が可能となった. パルス幅を長くすることでより太い血管を標的とし⁹⁾¹⁰⁾, また波長を長くすることで深達性を高め, より深部までの治療が可能である¹⁴⁾¹¹⁾. 岩城ら¹⁾は色素レーザー治療で抵抗性であった単純性血管腫に対してVビームではより効果的であると報告しており, 当科でもVビームを用いて治療してきた. 従来型色素レーザー治療抵抗性の単純性血管腫の要因として, ①残存血管が深部に存在する, ②残存血管が太すぎる, ③残存血管が細すぎる, ④血流が早すぎる, などを挙げている¹⁾.

今回の色素レーザー照射後の組織学的所見では,

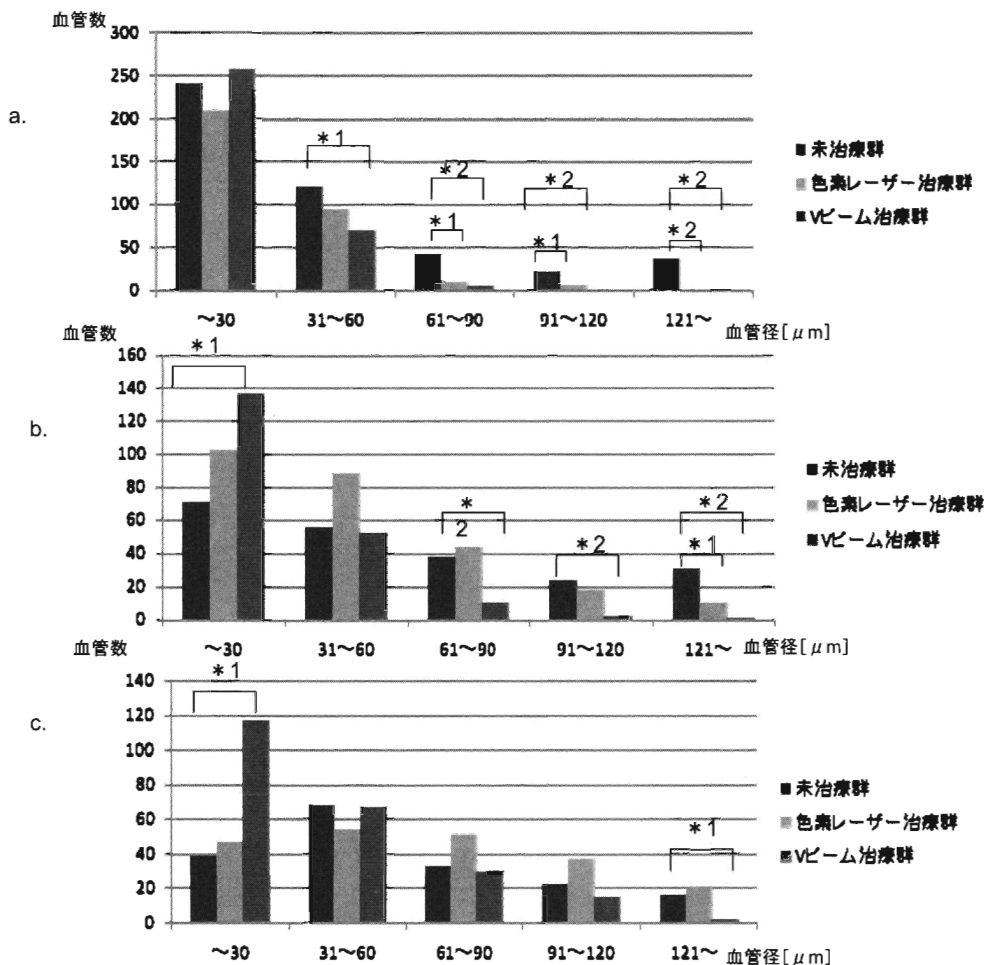


図2 各群間での層別血管数の比較

a: 乳頭層および乳頭下層までの血管数. b: 真皮上層の血管数. c: 真皮中層および下層の血管数.

* 1: $p < 0.05$, * 2: $p < 0.01$, t-test.

真皮乳頭下層までの血管数は減少していたが、より深い部分での血管数の減少は認められず、かえって増加している結果となった。色素レーザーではエネルギーの大きさや深達度が不十分であることを示していると考えられる。

色素レーザー照射直後の組織像では、血管内の凝血のみで血管内皮の損傷が見られず(図3a)血流は再開通する可能性が高いと考えられる。さらに血管径が大きい血管での部分的な凝固では血管新生を促すともいわれており⁶⁾血管数の増加する結果となったと思われた。

Vビーム治療群では、真皮の上層から下層まで30μm以下の血管数が増加していたが、真皮上層でも60μm以上の血管は減少しており、やはり色素レーザーよりも深くまで効果が及んでいる結果となった。しかし乳頭下層までの深さでも30μm以下の血管数は減少しておらず、本疾患がレーザー治療に抵抗する原因と考えられる。Edströmら¹²⁾は色素レ

ザー1回照射後に10μm以下の血管は増加していると報告しており、その原因としてレーザー照射により低酸素状態になることが血管新生を促すとしている。今回色素レーザー治療群と同様に、Vビームで出力を高くして照射してもその傾向は変わらなかったが、これはやはり血管径が小さいため内腔に標的となる赤血球が十分にはないことと、血管壁にダメージを与えるために、より長い時間に大きなエネルギーが必要であることが原因であると思われる^{11)~13)}。

Vビーム治療群では色素レーザー治療群よりも血管径が小さい血管の数は増加しているが、この原因として、色素レーザーよりも真皮中層や下層までレーザーの効果が及ぶことと、レーザーの出力が大きく口径が大きい血管にも効果があるため、より血管新生が促進されている可能性が考えられる。

また、レーザー照射後には血管径が小さい血管の数は増加しているが、口径が小さいため血管内に赤血球の数は少なく、臨床的には色調が薄くなり淡紅

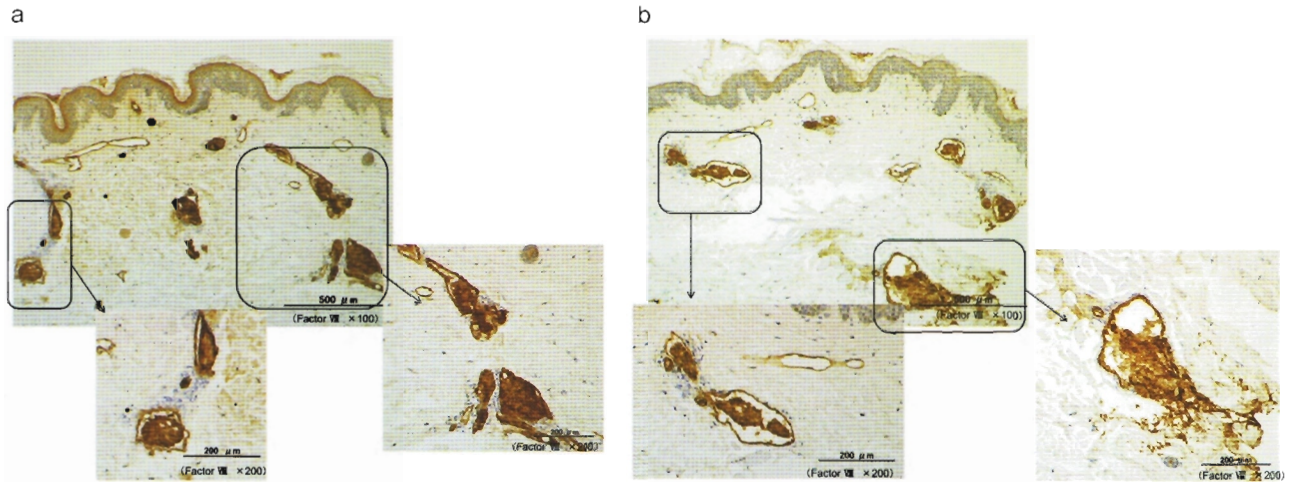


図3 レーザー照射直後の組織像

a: 色素レーザー照射直後の組織像 (Factor VIII 染色). 拡大部で血管内の赤血球が凝血しているが, 血管壁は連続性が保たれている. b: V ビーム照射後の組織像 (Factor VIII 染色). 血管内では赤血球が凝血しており, 血管壁の破壊と血球の漏出が見られる.

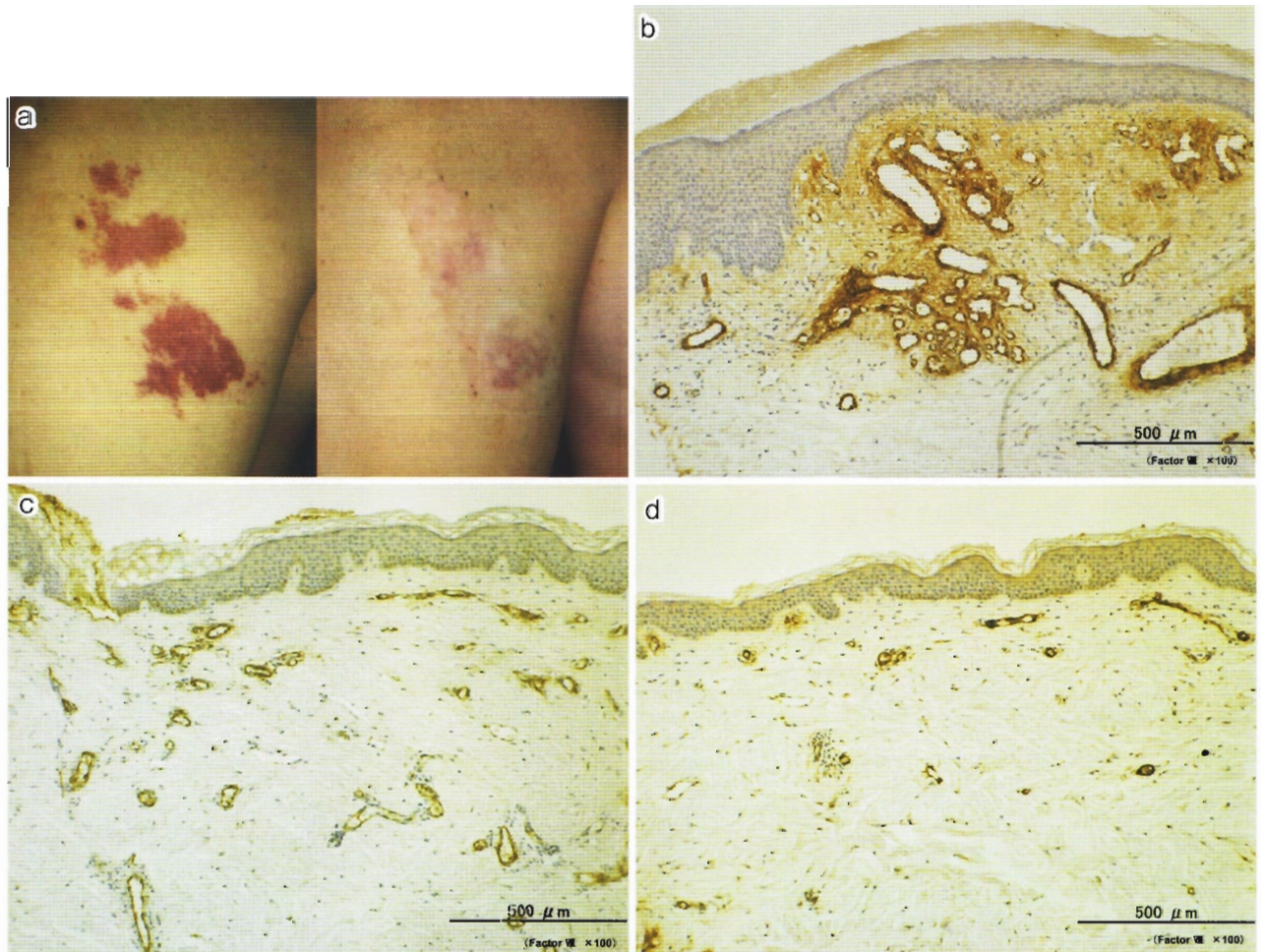


図4 症例

a: 47歳男性の背部単純性血管腫. 左) 初診時 (未治療). 右) 色素レーザー3回, V ビーム7回照射後. b: 未治療部 (Factor VIII 染色). 乳頭層から真皮中層に多数の拡張した血管を認める. c: 色素レーザー3回照射後 (Factor VIII 染色). 乳頭下層から真皮中層にかけて主に直径20~60 μ mの血管を認める. d: V ビーム7回照射後 (Factor VIII 染色). 乳頭下層に直径約20 μ mの血管を認める.

色に見えるものと思われる。

V ビーム照射直後の組織像では、血管径が 200 μ m 以上の血管内皮を損傷している像がみられ、血管径が大きい血管に対してより効果的であることが示された。

一方 Fiskerstrand ら¹⁴ は単純性血管腫の組織学的検討により、血管腫の存在する深さは、顔面で 352 \pm 87 μ m と報告している。今回の結果では照射後の組織で深部に血管が多数見られた所見はなく、レーザーの効果が及ぶ深さは比較的十分であると考えられた。今回の研究結果から V ビームでの治療は色素レーザーよりも効果的であることが残存する血管数から示されたが、今後さらに治療効果を向上させるには、①さらに高出力の照射、②重複照射、③大口径による照射¹⁵、④非選択的なレーザー照射等が考えられる。小口径の血管ではオキシヘモグロビンが少ないため、照射によりオキシヘモグロビンを停滞させてさらに重複照射することで効果が得られる可能性がある^{11,16}。また同様の理由から、非選択的に照射することも効果的である可能性がある。本疾患のレーザー治療については今後もレーザーの種類や照射方法によりその効果が改善される余地があると考えられる。

結 論

単純性血管腫に対し色素レーザー治療したが、奏功を得ないため V ビーム治療を加えたところ改善した症例につき、そのメカニズム解明のために組織学的検討を行った。

V ビームは血管径が大きい血管に対して色素レーザーよりも効果的であり、有意に血管数の減少が見られた。しかし V ビーム治療後でも主に 30 μ m 以下の血管の残存がみられ、治療に抵抗する原因であることが示唆された。

謝 辞

本研究を行うに当たりご指導くださいました東京女子医科大学形成外科学教室主任教授野崎幹弘先生に感謝いたします。またレーザー治療にご協力いただきました同教室員の先生方に感謝いたします。

組織学的研究に関してご指導くださいました東京女子医科大学第一病理学教室主任教授小林楨雄先生に感謝いたします。

文 献

1) 岩城佳津美, 井上 研: 短パルス色素レーザーで効果に限界がきた単純性血管腫の治療—Ultra Long Pulsed Dye Laser を用いて—, 日形会誌 22: 690-696, 2002

- 2) Bernstein EF: Treatment of a resistant port wine stain with the 1.5 msec pulse duration, tunable, pulsed dye laser. *Dermatol Surg* 26: 1007-1009, 2000
- 3) Tan OT, Morrison P, Kurban AK: 585nm for the treatment of port-wine stains. *Plast Reconstr Surg* 86: 1112-1117, 1990
- 4) Scherer K, Lorenz S, Wimmershoff M et al: Both the flashlamp-pumped dye laser and the long-pulsed tunable dye laser can improve results in port-wine stain therapy. *Br J Dermatol* 145: 79-84, 2001
- 5) Woo WK, Handley JM: Pulsed dye laser treatment of port-wine stains: clinical response and treatment characteristics. *Br J Dermatol* 147: 60, 2002
- 6) Katugampola GA, Lanigan SW: Five years experience of treating port wine stains with the flashlamp-pumped pulsed dye laser. *Br J Dermatol* 137: 750-754, 1997
- 7) Hoehenleutner U, Hilbert M, Wlotzke U et al: Epidermal damage and limited coagulation depth with the flashlamp-pumped pulsed dye laser: a histochemical study. *J Invest Dermatol* 104: 798-802, 1995
- 8) Kane KS, Smoller BR, Fitzpatrick RE et al: Pulsed dye laser-resistant port wine stains. *Arch Dermatol* 134: 499-500, 502-503, 1996
- 9) Rohrer TE, Chatrath V, Iyengar V: Dose pulse stacking improve the results of treatment with variable-pulse pulsed-dye lasers? *Dermatol Surg* 30: 163-167, 2004
- 10) Dierickx CC, Casparian JM, Venugopalan V et al: Thermal relaxation of port-wine stain vessels proved in vivo: the need for 1-10-millisecond laser pulse treatment. *J Invest Dermatol* 105: 709-714, 1995
- 11) Kono T, Sakurai H, Takeuchi M et al: Treatment of Resistant Port-wine stains with a variable-pulse pulsed dye laser. *Dermatol Surg* 33: 951-956, 2007
- 12) Edström DW, Hedblad MA, Ros AM: Flashlamp pulsed dye laser and argon-pumped dye laser in the treatment of port-wine stains: a clinical and histological comparison. *Br J Dermatol* 146: 285-289, 2002
- 13) Fiskerstrand EJ, Svaasand OL, Kopstad G et al: Photothermally induced vessel-wall necrosis after pulsed dye laser treatment: Lack of response in port-wine stains with small sized or deeply located vessels. *J Invest Dermatol* 107: 671-675, 1996
- 14) Fiskerstrand EJ, Svaasand OL, Kopstad G et al: Laser treatment of port wine stains: therapeutic outcome in relation to morphological parameters. *Br J Dermatol* 134: 1039-1043, 1996
- 15) Tan OT, Motemedi M, Welch AJ et al: Spot size effects on guinea pig skin following pulsed irradiation. *J Invest Dermatol* 90: 877-881, 1988
- 16) Kono T, Groff WF, Sasaki K: Treatment of port wine stains with the dye laser. *Ann Plast Surg* 56: 460-463, 2006