

在日新月異的科學領域裏，時刻有許多新發現，給醫學帶來了許多新希望，人類現今的大敵，也許不久將會斂跡了。

雷射對細胞之作用

◇◇◇賴寅雄◇

在過去六年中，一種由雷射 (Laser, 註一) 發生的新形式而富刺激性的光能，已經過了初步的研究可做為醫生，生物學家及物理學家的一種很有用的工具。正如同研究X光放射與核子放射的生物學上用途所必需的，研究雷射光束 (Laser beam, 以下簡稱雷射) 在生物學方面的應用也需要運用多種學科的專門智識而繼之以生物學家，醫生，物理學家以及研究工程師等的通力合作。

專家們早已看出雷射那種奇異的特性，即其高度的凝聚性與單純色性 (Monochromaticity)，將使光能可以被送入直徑僅達幾個 μ 的區域中，這個有趣的可能性，促成了雷射與某種光學設備如顯微鏡等結合而供探討雷射對細胞之作用。

應用于生物醫學研究的雷射系統分成兩類，即脈動波型固態雷射 (Pulsed solid-state lasers) 與連續波型氣態雷射 (Continuous-wave gas lasers)。最常用且最具歷史性的第一部操作的雷射是用紅色剛玉 (俗稱紅寶石) 做成的棒當做雷射介質；用這種介質被激發產生的射出物是波長6943Å的可見的紅色脈動波 (附圖一)。第二種高輸出量的脈動波型雷射叫做鈹雷射，其雷射棒是用含有5%鈹 (Neodymium) 離子的光學玻璃做成。此雷射產生一種波長10,600Å的紅外線。

又有三種常用的氣態雷射系統，其雷射介質為密閉于一狹長管內的一種氣體 (或多種氣體的配合)。此型式中最先發展出來的是氦氖氣態雷射 (附圖二) 它所產生的最主要的是波長6328Å的可見的移續波。最近發展的高輸出量型是氬雷射 (產生4880Å至5145Å的多種移續波) 以及CO₂-N₂-He混合氣態雷射 (其輸出為106,000Å的波長)。

這種雷射系統的射出物之性質各有不同，在生物學之相互作用的研究方面必需予以區別。由于包含在雷射系統中的變數範圍很廣，加以雷射輸出的送出方式之差異以及接受雷射能的目標物之性質之差異可能引起的偏差，則當欲發表一項實驗報告時，這些變數中的每一項勢非嚴格地予以詳細規定不可。今將這些變數列舉如下：

1. 波長或波長的變動範圍。

2. 能量與能量密度。
3. 功率與功率密度。
4. 脈動波的持續期間與其瞬間的特性。
5. 脈動波能量的空間分佈。

目前使用種種方法使能在光學上將雷射導向目標區域。這些方法包括透鏡以外的光學儀器例如稜鏡，石英棒導光器，纖維光學系統，氣體熱差測定，介質導管以及反光鏡的反射等等。

“體組織裡的多相反應”

很顯然的，在雷射輻射對細胞的相互作用之機轉中包含很多因素。為方便起見，我們把雷射反應分成四個獨立相 (Phase) 來敘述各被衝擊區域所發生的相互作用。這四相為(1)在光子 (Photons) 之選擇性吸收程序中的熱成份，(2)介質中壓力反作用力與彈性震盪波的發生，(3)包括雷射在內的強電磁場之影響，(4)目標區域的光學性質。

這四相，在考慮脈動波型雷射系統對活體組織的破壞反應時甚為重要。高功率氣態雷射則可發揮出強烈的熱反應，並且可能有因強烈輻射場引起的非直線式的影響。用連續波型雷射系統時，壓力反作用力及震盪波將不至于達到破壞的程度。

重要性佔第一位的作用相要算是雷射反應的熱成份了。在這幾乎是斷熱的過程 (adiabatic process) 中，雷射能量經由複式吸收程序轉變為熱。例如用紅寶石雷射發射出一100焦耳 (joule) 的脈動波，則由于雷射衝擊引起的局部熱效應，理論上可在瞬間使溫度昇高75°C；但在身體方面遭受的情形是很複雜的：熱反應將可藉輻射、傳導及對流諸效應而傳遍整個目標區域及鄰近組織。

組織的汽化 (Vaporization) 相當明顯，可見到炭化 (charring)。換句話說，組織呈現有臨床上的電灼現象。與普通電灼的差別在於反應的深度色素圈的特殊以及別於鄰近組織的明顯的反應界限。顯微鏡下，可見到組織的凝固壞死及存在於表層組織的空隙 (air spaces)，後者可能是由於汽化以及殘餘組織的全面變形所形成。這樣的反應並非均一的，即使在同一組織中仍有差異。此差異可能是因於組織之光學性質的不同，以及穿越雷射本身的不均一性使然。在細胞方面，分隔鄰接區域之界膜發生破裂。此種膜之變化可歸因於熱力之逼迫，反作用之壓力，及其他有關現象之作用。由顯微切片之研究，因雷射作用於皮膚引起之凝固壞死與因其他方式引起者，迄今尚無法區別，例如由熱灼，電灼引起者。但這並非即是表示這些熱反應在動力學方面對於細胞之作用都完全一樣。目前據初步研究顯示出，雷射輻射的熱因素似乎可藉進一步對 CO_2 雷射的控制而加以研究。 CO_2 雷射會使動物之皮膚與臟器呈現出強烈而瀰漫的凝固壞死。

其次要考慮的雷射反應相是，由高能量脈動波型雷射衝擊體組織所產生的彈性壓力波 (超音波) 與反作用壓力波。一浸漬於某液體中的細胞壁對於雷射呈現一受壓迫的表面。由於隨著雷射熱激引起的熱膨脹，乃在細胞壁內產生一熱的壓迫力。即使是僅引起微量汽化的雷射輸出量 (即低功率密度)，也能產生超出大氣壓力幾千倍的壓縮力量。此壓縮的壓力與表面組織驟然汽化而產生的反作用壓力迥然不同。表面組織的驟然汽化亦可產生一壓力震盪波，不過將較彈性壓力為小且不可能引起細胞壞死。這現象指示出，由低導熱性標本在斷熱情況下產生之熱壓所導致的彈性震盪應該被考慮為一種傷害體組織的可能來源，在該組織被經過雷射輻射之後。

在這已够複雜的事項以外，尚有另外的一面，即是發生於組織內的化學變化。此變化乃由於壓力或音波之機械能之交互作用的結果。這種現象被稱為「音波化學」(Sonochemistry)。此主要為音波交互作用而產生凹渦 (cavitation)。結果機械能可轉變為化學能。這程序的發生主要為由分子的撞擊能轉移成振動之激發。這典型的熱力途徑乃導致化學鍵的斷裂。組織化學方面的變化亦可經由熱離子化效應而產生。

雷射在細胞上的第三反應相包括伴同雷射發生的巨大電磁場之交互作用而導致的變化。伴同高功率雷射系統發生的電場可超出 10^7cm 。這已是相當於原子間結合力大小的次數 (order) 了。如此，由

以這些高功率密度的交互作用結果，自由電子，游離原子以及游離分子皆隨之產生。這是一項移除電場的程序，發生於一個結合中的電子，它在強烈的外電場作用下，穿破其靜電位能障 (barrier) 而逸出。

在由雷射導出之自由基 (free radicals) 的研究中，最為重要的乃是要決定，在組織中所見到的變化是否可列為致癌性。因為自由基的存在曾被認為與生癌作用有密切關係。有一種「電子順磁共振光譜測定法」(Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy —— 以下簡稱EPR) 曾被用來測定在某一特殊標本中，自由而不配對的電子數目。由於活體染料 (vital dyes) 常被用來增加對雷射的吸收量，當然也應該注意到這些色素本身也會形成自由基。即使在雷射衝擊之後長時間內，自由基仍會繼續生成。

透明的組織，在雷射輻射後，顯示出沒什麼有意義的大變化；這並非即是表示着酶與細胞學上的變化絲毫未曾發生。在暴露於強烈的雷射之後，透明組織中可能有其他程序足以引起分子的變化以及局部的熱效應。分子變化可見於某具特殊物理性質之體組織構造；該構造之共振吸收光譜其波長等於雷射波長之半，但在雷射之波長則為透明。此程序曰「雙光子吸收」(two-photon absorption)。第二種效應乃與伴同雷射發生的極強電場有關。此種稱為「逆布倫輻射」(Inverse Bremsstrahlung) 的反應係原來疏鬆地結合中的電子被伴同雷射發生的強電場加速，結果與鄰近的分子撞擊而導致局部的發熱效應。

高强度的雷射展示出兩種非直線散佈的程序。第一種是受激的拉曼散佈 (Raman scattering)，能够產生強烈的分散光 (約為入射光線的10%)，其波長較短。第二種類似的程序為受激的布理路恩散佈 (Brillouin scattering)，與雷射同方向產生一很强的超音波。這些強音波的交互作用在生物學方面可能有相當意義。

在某些情況下，雷射之強度可透過其光束對介質的影響而加強。這種所謂「自動對光效應」(self-focusing effect) 又是另一種非直線作用，藉此作用，目標介質表現出一種與強度有關的折射率，實際上此程序乃是雷射之強作用範圍藉以增加介質的介電常數而導致折射率的減小，使光線除已對定焦點外更能凝聚。

在雷射對透明組織之影響的研究中，常用白血球與組織培養 (tissue cultures)。對於白血球方面的研究包括其活動性，鹼性磷酸酯酶，對墨水微

粒之吞噬作用，以及不正常核型之培養。在經過低能量紅寶石雷射衝擊之後，並未發現有何變化。

“目標區域之影響”

雷射對生物體組織之交互作用的結果要看目標物本身性質而定。在目標區域表面，雷射能量的損失估計會有超過70%。尤其在含多量角質之表面更是如此；在角質層，反射回去的能量可佔總入射量之相當部份。曾經射穿數層鋁或銅片的脈動波型紅寶石雷射，對於生在膝蓋上的大疣竟少有影響！

大體上，大部分生物體組織呈現不一致的光學性質，此係與其細胞方面的不均一性有關。在雷射一組織間之交互作用中，其主要之機轉乃是發生于含色素細胞內的共振吸收作用。色素細胞會選擇地在雷射的波長區域吸收。在無色素的組織中，此反應可透過活體染料的應用而加強。某些能吸收某特定光譜的細胞經過雷射輻射後，其粒線體被選擇地破壞。在目標區域，會影響雷射吸收的特性尚有血管系統，特別其位置，分佈程度，血流速度以及還原血紅蛋白與氧氣的濃度。紅寶石、鈦以及氬雷射的輸出會被紅血球吸收而引起有意義的破壞性變化，從而導致纖維性血栓形成及出血。此現象已為顯微切片所證明。將剛自人體切除的黑色素瘤暴露于二氧化碳雷射下，顯微鏡的觀察顯示出一致性的凝固壞死而蒸氣泡存在于表皮內。這似乎完全是二氧化碳雷射之一種極長波長的作用，此波長被絕大部份的物質所吸收。

目標區域的膠原組織也可以影響雷射反應，因為緻密的膠原組織對雷射具有相當的抗性。人體皮膚上的附件如毛脂單位。對於能使鄰近組織凝固壞死的同強度雷射，仍具有相當抗性。

此外，用組織培養法可研究染色體之變型；而用細菌培養則可研究雷射導致的突變。截至目前為止，實驗顯示出人體皮膚經過脈動波型紅剛玉雷射的衝擊後，並未發現有不正常的核型。而低能量的同種雷射亦未引起突變。目前雷射研究的對象是能產生色素的細菌。

“雷射顯微鏡”

如上述指出，將雷射連接到顯微鏡上，即可應用波長特定而能量密度各不相同的雷射來研究細胞與體組織的顯微外科術 (Microsurgery)。此外，亦可用為測定生體組織之光譜的顯微探針而不致對體組織引起有意義的破壞。最近曾用雷射對一皮膚鈣沉積症的病例測定鈣在皮膚中的存在。

另外最近的一種雷射應用是「雷射整體顯形顯

微檢查」 (Laser holographic microscopy)。所謂「整體顯形術」 (Holography)，簡單地說，乃是一種程序，經由波前重建 (wavefront reconstruction) 而產生一三度空間的立體像。此一立體像之獲得不需要透鏡，而只需用凝察雷射即可。目前，在顯微鏡下曾被記錄下來的整體顯形像大小為 1μ ，深度為 40μ 。最近，軌條以及彈道學上的應力與變形亦會由雷射整體顯形術記錄下來。故應用雷射顯微整體顯形術 (Laser microholography) 將可研究雷射對體組織的衝擊作用。

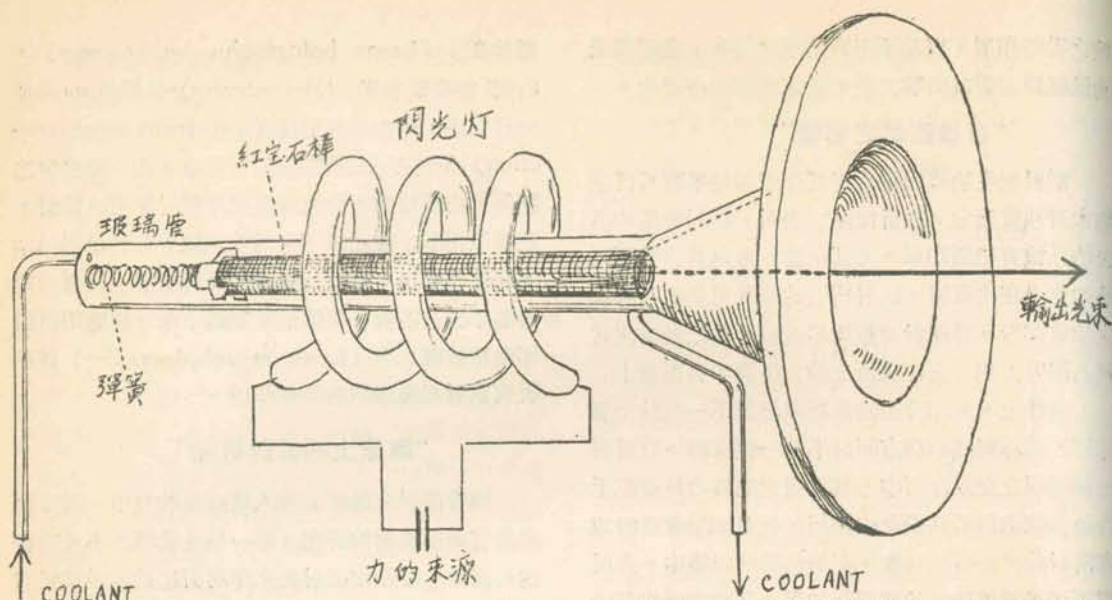
“臨床上的探討研究”

隨著雷射在臨床上對人體癌症的應用，繼之而來的有兩項重要的研究。第一項是我們所不希望有的可能性，即是由雷射交互作用引起的震盪或壓力波將會把癌細胞團和基質壓入附近之血管和淋巴通路，而導致此惡性病的蔓延。這種可能性曾在動物軟性瘤之研究中被提到。但根據對人體癌用雷射治療的研究，迄今尚未發現此種現象。

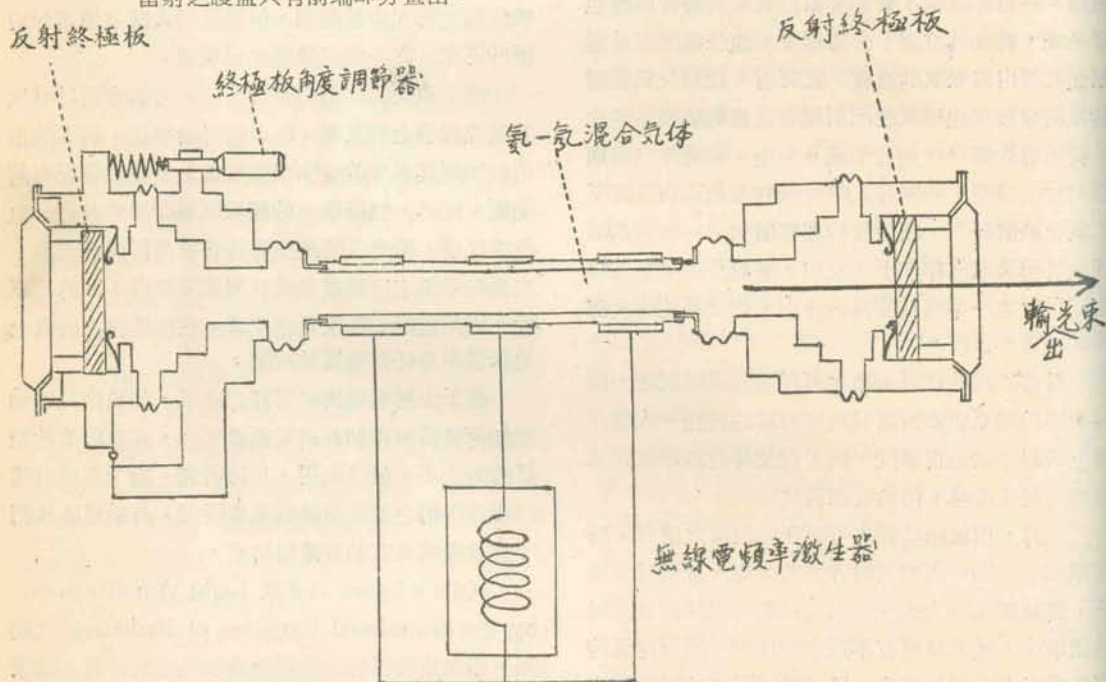
第二項是在經過雷射治療後，可能由雷射導致某種免疫學上的反應。經過雷射治療後，病人的血清被加到其本身的腫瘤組織培養上，並未發現有何效應。此外，免疫學上的種種反應如補體結合，血凝素反應，螢光抗體產生等皆曾利用雷射研究過。家兔被燒傷之皮膚曾發現有與正常皮膚不同的抗原性。但用雷射灼傷家兔之皮膚，在抗原性之研究上並未發現有任何特異的抗體。

基于上述種種實驗研究之結果，使我們更想知道如何將雷射和別的研究儀器配合，在有限度的能量控制之下，加以利用，加以研究。對於雷射對體組織的作用之某些變效的基本研究，將能幫助我們了解並提供更有效的雷射治療。

(註一 Laser 乃英文 Light Amplification by the Stimulated Emission of Radiation 之縮寫，即光束藉輻射之激發而增加強度之裝置。其原理如下：一光束可以因原子之能階轉移而減弱，亦可因之而增強。試看如下之能階圖 (energy level diagram, 附圖三) 在熱的平衡中，幾乎所有的原子都在基本狀態 I。今設有某原子集合被頻率 f_1 之輻射所照射，而轉移到狀態 III。在狀態 III 之原子中，有一些會因頻率 f_1 輻射之自然 (或被誘導的) 放射而歸返于基本狀態；其他的原子則藉 f_2 之自然放射或某種非輻射性的轉移而到達狀態 II。如果由狀態 II 轉移至基本狀態的或然率不太大，則狀態 II 的存在數目將會增加。當原子由基本狀態被「轟」出



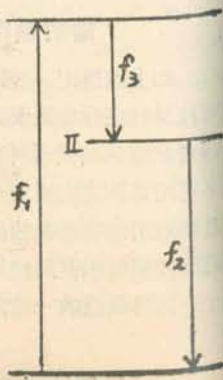
附圖(一) 紅寶石雷射由一閃光燈發動供給泵能。輸出光束經由紅寶石晶體部分鍍銀的一端射出；另一端為完全鍍銀。光束由于在兩端極之間返復的反射而形成。液體氮被用來冷卻紅寶石。雷射之護蓋只有前端部分畫出。



附圖(二) 氣態雷射之操作以一定比例之氖氬混合氣體為作用介質。無線電頻率激生器將能量送入介質中。在兩端反射終極板之間反復地來回通過，即產生了輸出光束。

去而堆積于狀態II時，狀態II之存在數目增加終而變成比存在于基本狀態的原子數更多。今設光束之原來強度I，改變後之強度I'，光之吸收徑長 ℓ ，被誘導轉移之或然率 K' ，低能階每單位體積內的原子數比高能階的要多出 ΔN ；則應用藍伯氏定律（Lambert's law）： $I = I_0 e^{-(K' \Delta N) \ell}$ 。基于上述推論，此處 ΔN 應為負數，則指數為正數故光束可因原子之能階轉移而增加強度。應用此原理做成的雷

射有一特性，即其穿入標本後之光束與入射光束方向相同而不再分散，故其射入標本後之能量極強。它可將一呎外的剃刀片射穿成洞；把它瞄準月球則在瞬間可貫穿太空，到達月球後又反射回地球來。



附圖(三)