

刘柏东,申高,邱宏,等. 医用激光设备动物试验的决策与审评要求探讨 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(6): 148-154.
Liu BD, Shen G, Qiu H, et al. Discussion on the decision and evaluation requirements of animal experiment of medical laser equipment [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(6): 148-154.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.06.022

医用激光设备动物试验的决策与审评要求探讨

刘柏东¹, 申 高¹, 邱 宏¹, 陈民利^{2*}

(1. 国家药品监督管理局医疗器械技术审评中心, 北京 100081;
2. 浙江中医药大学动物实验研究中心/比较医学研究所, 杭州 310053)

【摘要】 医用激光设备是向人体靶组织输出能量的电气设备,动物试验是激光设备开展非临床/临床评价的重要手段之一,也可作为该类设备在临床试验前提供安全性和有效性的证据。本文通过参考现有医疗器械动物试验相关的法规、标准、指南,分析医用激光设备的作用机理;结合常见激光治疗设备的审评经验,概述了激光治疗设备决策开展动物试验研究的考量因素及规范要求;并举例分析了开展动物试验的目的、方案设计要求和评价指标;为医用激光治疗设备的动物试验研究提供参考,也可供该类医疗器械相关的技术审评人员及注册人员参考。

【关键词】 医用激光设备;临床前动物试验;审评要求

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 06-0148-07

Discussion on the decision and evaluation requirements of animal experiment of medical laser equipment

LIU Bodong¹, SHEN Gao¹, QIU Hong¹, CHEN Minli^{2*}

(1. Center for Medical Device Evaluation. NMPA, Beijing 100081, China.
2. Laboratory Animal Research Center/Institute of Comparative Medicine, Hangzhou 310053)

【Abstract】 Medical laser equipment is an electrical equipment that outputs energy to human target tissues. Animal experiment is one of the important method for preclinical/clinical evaluation of laser equipment, and it can also be used as evidence of safety and effectiveness of such equipment before clinical trials. This article analyzes the mechanism of action of medical laser equipment by referring to existing regulations, standards, and guidelines related to animal experiment of medical equipment. Based on the evaluation experience of common laser therapy equipment, the factors and standard requirements for the decision making of animal experiments with laser therapy equipment were summarized. In addition, design requirements and evaluation indexes of animal tests were analyzed with examples. The purpose of this paper is to provide a reference for the animal experimental study of medical laser therapy equipment, as well as for the technical reviewers and registrants related to this medical device.

【Keywords】 medical laser equipment; animal experiment; evaluation requirements

随着激光技术的进步,激光医学也发展成新型交叉学科^[1]。在临床活动中,激光作为电气设备的光源,主要应用于诊断和治疗。典型的用于诊断的产品有光学相干断层扫描设备^[2]、激光扫描检眼镜等^[3];激光治疗分为强激光治疗、弱激光治疗、光动力治疗^[4]。弱激光治疗是指激光作用于生物组织

[作者简介] 刘柏东(1982—),男,硕士,助理研究员,研究方向:医疗器械技术审评。E-mail:liubd@cmde.org.cn
[通信作者] 陈民利(1963—),女,教授,博士生导师,研究方向:实验动物与比较医学。E-mail:cmli991@zcmu.edu.cn

时不造成不可逆的损伤,但刺激机体产生一系列的生理生化反应,对组织或机体起到调节、增强或抑制作用来达到治疗疾病的目的^[5]。光动力治疗主要通过光敏剂在特定波长激光的激活下,产生光物理化学反应,生成具有生物毒性的活性氧物质作用于靶组织,进而实施靶向治疗^[6]。强激光治疗是利用激光的光热效应,对生物组织进行凝固、汽化或切割来达到消除病变的目的。强激光治疗因具有出血少、操作定位精确、非接触、无菌、对周围组织损伤小等优点,已广泛应用于皮肤科、眼科、泌尿外科、口腔科、耳鼻喉科等。常见的获得医疗器械注册证的产品有半导体激光脱毛仪^[7]、眼科倍频 Nd:YAG 激光光凝仪、钬激光治疗仪^[8]、半导体激光治疗仪^[9]、二氧化碳激光治疗仪^[10]等。本文概述医用激光设备的工作原理和使用功能,并对激光治疗类产品决策开展动物试验和规范要求进行探讨。

1 医用激光设备概述

1.1 注册单元

根据 2017 版《医疗器械分类目录》^[11],医用激光治疗类设备包括:(1)激光手术设备,参考分类编码 01-02-01,管理类别三类;预期用途为对机体组织进行汽化、碳化、凝固,以达到手术治疗的目的。(2)眼科激光治疗设备,参考分类编码 16-05-02,管理类别三类;预期用途为屈光矫正、角膜切割、青光眼、白内障、或视网膜病变等眼科疾病的手术治疗。(3)激光治疗设备:参考分类编码 09-03-01,管理类别三类;预期用途为用于皮肤浅表性病变、烧伤等整形科、皮肤科的治疗或辅助治疗。一般情况下,激光手术设备用于手术室,分类属于 01;激光治疗设备用于门诊手术,分类属于 09。

1.2 工作原理与用途

按照注册单元中三种不同预期用途的情况,分别以钬激光治疗仪(分类编码 01-02-01)、眼科激光光凝仪(分类编码 16-05-02)、Nd:YAG 皮秒激光治疗仪(分类编码 09-03-01)举例说明产品的工作原理与使用功能。

1.2.1 钬激光治疗仪

钬激光治疗仪是由主机(含钬激光激光器、激光电源、冷却装置、防护装置)、脚踏开关、光纤、激光防护眼镜等组成,可用于泌尿系结石和泌尿系肿瘤的汽化、切割、凝固,皮肤科尖锐湿疣、肉芽肿、肿瘤的汽化、切割、凝固^[12-17]。激光发生的原理,以

2.1 μm 激光器为例,激光腔包括一个激光发生单元、一个高反射镜和一个输出耦合镜。激光发生单元包含钬铝石榴石(Ho:YAG)晶体棒、一个激光激励源闪光灯和一个聚光腔。聚光腔将闪光灯的光线聚焦到晶体棒上,被反射镜引入光路,再将瞄准光耦合进主光束中,通过聚焦透镜引入到光纤,用于照射治疗部位。钬激光碎石的原理是 2.1 μm 的激光主要被结石中的水分吸收,能量蓄积到一定程度,局部结石温度上升,直至达到临界。在该临界值下,结石成分可能会脱水、分解成小结石,或者结石中的间隙水可能会发生爆裂汽化,达到治疗的目的^[9-10]。

1.2.2 眼科激光光凝仪

眼科激光光凝仪是由激光器、裂隙灯显微镜、脚踏开关、裂隙灯适配器、激光防护眼镜、支架台等组成,可用于眼科的视网膜激光光凝术、激光小梁成形术、虹膜切开术、虹膜成形术,以及治疗开角型青光眼和闭角型青光眼等^[18-22]。激光发生的原理,以 577 nm 为例,在激光腔中,半导体泵浦源发射泵浦光,经过准直后照射到工作物质 OPS 芯片,在 OPS 芯片内发生受激辐射;辐射出的光子在 OPS 芯片内的反射层和激光腔的反射镜之间谐振放大,形成 1154 nm 激光震荡;1154 nm 激光,经过激光腔内 LBO 晶体倍频后,产生二次谐波效应,转化为 577 nm 激光,透过 OC 镜(输出耦合镜)输出,再经过聚焦等光学处理,从激光耦合口输出,通过裂隙灯适配器将激光引导到患者眼中。光凝的原理是 577 nm 的激光主要被脉络膜血管中的氧化血红蛋白和视网膜色素上皮层的黑色素吸收,黄斑区的叶黄素几乎不吸收,通过激光的热效应,导致组织温度升高,蛋白质变性,达到光凝的效果^[10,23]。

1.2.3 Nd:YAG 皮秒激光治疗仪

Nd:YAG 皮秒激光治疗仪是由主机(含激光器、激光电源、控制面板、冷却装置)、导光臂、脚踏开关、治疗手具(532 nm、1064 nm)、激光防护眼镜等组成,可用于治疗真皮和表皮色素性病变,如激光祛红血丝、激光祛斑、皮秒激光、激光去文身、洗眉、洗眼线等^[24-27]。激光发生的原理,以半导体泵浦的固体 532 nm 激光为例,激光二极管发射 810 nm 泵浦光,泵浦光经过聚焦准直后照射至激光工作物质 Nd:YAG),发生受激辐射后激发出 1064 nm 光子;1064 nm 光子在前镜和输出镜之间反射,互相之间不断发生相干放大形成 1064 nm 激光;1064 nm 激

光经过倍频晶体后,发生非线性光学效应中的二次谐波效应,一部分转化为 532 nm 激光,透过输出镜形成 532 nm 激光输出;532 nm 激光经过偏振片和分光镜,小部分被发射至能量探测器,转化为电信号反馈至控制及安全电路,大部分输出至光纤聚焦镜,经过光纤聚焦镜后,与调节至同光路的瞄准光,一起从激光耦合口输出,通过手具将激光引导到治疗部位。Nd:YAG 皮秒激光治疗仪去除文身、治疗雀斑的原理是基于激光选择性的光热作用,针对表皮和真皮中的黑色素特异性较高,可用于治疗良性色素性病变^[28-29]。

2 决策开展动物试验

在临床上,在一定条件下,利用激光设备作用于同一组织的能量恒定,如果功率提高,手术时间就减少,手术效率也会提高。但不同靶组织特性不同,如利用眼科激光光凝仪对视网膜进行光凝时,眼内组织厚度值较低,尤其是视网膜组织,功率提高也许会伤害视神经细胞,增加视野范围减小、视功能减退的风险;若调整脉宽、脉冲间隔,延长手术时间,会导致热能量累积,增加传导至周边组织的风险,也会影响视野范围、视功能。理论上,组织的温升由热传导效率和热弛豫时间决定,如果激光作用于组织的时间小于热弛豫时间,组织中的热量积累不会因热传导损伤靶组织的周边组织。因此,衡量激光设备安全有效性的关键证据之一是量效关系及热损伤的研究资料。量效关系及热损伤研究应为申报产品临床前的体内外试验(离体及在体的动物试验、台架试验等)、临床试验等一项或多项研究所获得数据的分析和总结。

根据《医疗器械动物试验研究技术审查指导原则第一部分:决策原则》,当体外试验不能充分评估激光设备在临床应用中的安全有效性风险时,需要开展体内动物试验。通过动物试验,可为产品设计定型提供相应的证据支持,也可开展临床试验前,评估医疗器械能否用于人体研究提供支持,降低临床试验受试者及使用者的风险以及为临床试验设计提供参考。

在申报产品的研发早期,设计输入及输出的阶段时,激光产品的性能评估可选择台架试验或离体组织试验,如钬激光治疗仪可开展体外试验,模拟体内使用环境或情形,验证在不同工作模式/能量参数设置的情况下产品用于碎石的效率,然后再开

展动物试验;如已有类似的初步研究或证据时,也可直接开展动物试验研究。

激光设备可以通过动物试验评价在不同波长下的各种工作模式、激光输出方式等对临床使用(包括各种适应症或各种类型的组织)的影响。应当对申报产品能量参数的设置、激光与靶组织的作用机理、适用范围及适应症等因素进行综合考量,结合已有的研究或证据,开展适当的风险分析评估后,决策是否需要开展动物试验。决策时至少应当评估以下几种情形:

(1)相比于成熟已上市的产品,选择一种新的激光波长作用于原适用范围中的靶组织或增加新的适应症。例如:已上市的产品中,Nd:YAG 皮秒激光治疗仪的激光传输装置为手柄,532 nm 用于治疗雀斑、1064 nm 用于去除黑色和蓝色文身。根据皮肤分层及分级,同样作用于黑色素,由于不同波长的激光穿透深度不同,靶组织也不同。常见的良性色素增加性皮肤病包括:色素分界线、雀斑、黄褐斑、蒙古斑(皮肤青、蓝色胎记)、咖啡斑、单纯雀斑样痣(单纯黑子、痞子)、老年性雀斑样痣(老年性黑子、寿斑)、太田痣、伊藤痣、文身等及其他原因引起的色素沉着等。根据皮肤科常见的应用情况,532 nm 作用于表皮层黑色素,694 nm 和 755 nm 可作用于真皮层、表皮层黑色素,1064 nm 进而作用于真皮深部的黑色素。若申报产品的 730 nm 用于治疗良性色素性增加性皮肤病,属于新的激光波长增加新的适应症;若 730 nm 用于治疗良性表皮色素性增加性皮肤病、恶性黑素瘤,属于选择一种新的激光波长作用于原适用范围中的靶组织。

(2)相比于成熟已上市的产品,选择一种新的作用机理作用于原适用范围中的靶组织或增加新的适应症。以输出 577 nm 的眼科激光光凝仪为例,成熟已上市产品采用的是连续波及脉冲波的情况,通过激光的热效应,针对视网膜微血管缺血区或毛细血管无灌注区进行治疗,阻止眼内新生血管的发生和发展,改变视网膜区域的缺氧状态。可用于治疗糖尿病视网膜病变、视网膜静脉阻塞等。新的激光输出方式是通过软件控制调制出阈值下的脉冲波,通过激光的热效应产生生物学效应,产生“阈值”(激光凝固组织所需的能量的临界值)下的脉冲波,作用于视网膜色素上皮层,视网膜色素上皮细胞产生中等程度损伤,引起部分因子发生变化,可以减少新生血管及改变血管通透性,用于治疗中心

性浆液性脉络膜视网膜病变,糖尿病视网膜病变以及视网膜静脉阻塞引起的黄斑水肿,属于选择一种新的激光输出方式增加新的适应症。

(3)相比于成熟已上市的产品,选择一种新的能量参数范围作用于原适用范围中的靶组织或增加新的适应症,如申报产品设置的治疗参数(功率、脉宽、脉冲间隔、光斑大小等)与已上市产品有明显差异的情形。以钬激光治疗仪为例,已批准的产品关键性能参数是最大单脉冲能量为 4.6 J,最大重复频率为 42 Hz,终端最大平均输出功率为 80 W,脉宽为 200~500 μ s,适用范围是用于治疗泌尿系结石,泌尿系肿瘤的汽化和凝固。新的能量参数设置是最大单脉冲能量为 6 J,最大重复频率为 50 Hz,终端最大平均输出功率为 90 W,若适用范围不变,属于选择一种新的能量参数范围作用于原适用范围中的靶组织;若适用范围增加了皮肤科用于尖锐湿疣、肉芽肿、浅表肿瘤的汽化和凝固,属于选择一种新的能量参数范围增加新的适应症。

3 动物试验审评要求

3.1 动物试验规范基本要求

依据《医疗器械动物试验研究注册审查指导原则第二部分:试验设计、实施质量保证》,医用激光设备的动物试验要根据试验目的,选用符合试验要求的动物,在预先设计研究方案规定下,进行产品可行性和/或安全性和/或有效性研究,观察、记录动物的反应过程及结果,以评估医用激光设备对生命活动的作用与影响,动物试验数据应具有重复性和再现性。为保障动物试验结果的真实、可靠、可追溯,应参照相关国家标准(GB/T 35823)动物试验的通用要求进行,并要注意以下几个方面。

3.1.1 人员

动物试验研究人员应具备相应的技能且涵盖不同学科的专业知识,如相关的临床医学、动物学、兽医学、激光学、病理学、医学检验学、影像学等。

3.1.2 设施

开展动物试验的环境应避免对试验结果造成干扰的因素,如噪音刺激、光污染、化学污染、辐射污染等,同时,应能模拟临床使用场景。

3.1.3 动物

应根据不同的试验目的选择使用质量合格的试验动物或检疫合格的试验用动物。建议详细说明选择试验动物模型的依据。如选择的试验动物

模型对于产品应用于人体的安全有效性分析具有局限性,应对研究结果的影响进行详细说明。试验动物数量应保证试验结果具有可靠性,且符合 3R 原则。

3.1.4 操作规范

动物试验应严格按照研究方案和相应的操作规范,记录试验产生的所有数据包括任何偏离试验方案和操作规范的情况,并保证数据记录及时、直接、准确、清晰和不易消除。确保动物试验记录、数据的完整性和可追溯性。

3.2 动物试验设计基本要求

开展决策评估时,当已有数据不能充分评估激光设备在临床应用中的安全有效性的风险时,需要开展体内动物试验。动物试验的方案设计及结果应能反映激光设备在不同波长下的各种工作模式或激光输出方式与作用于靶组织位点的量效关系,根据不同的适应症可进行相应的典型性试验。还应验证申报产品不同能量参数对靶组织及周边非治疗区域热扩散情况。动物试验的研究结果应可以更客观、完整地提供支持激光产品作用于靶组织的可行性、安全性、有效性的证据。

3.2.1 动物试验目的

根据决策评估的情形,开展动物试验设计前,明确试验目的。例 1:钬激光治疗仪,通过调节脉宽或提高功率,输出新的能量参数(终端最大平均输出功率、单脉冲最大能量、最大重复频率等)作用于原适用范围中的靶组织,试验目的为通过观察猪的膀胱组织表面损伤及愈合情况、碎石残留情况,评估量效关系及热损伤范围,考核产品用于泌尿系碎石,汽化和凝固泌尿系肿瘤的安全性和有效性。例 2:眼科激光光凝仪,选择一种新的激光波长增加新的适应症,试验目的为通过观察兔的视网膜光凝反应,热损伤范围,并评估量效关系,考核产品治疗视网膜疾病的安全性。例 3:二氧化碳激光治疗仪,增加超脉冲的激光输出方式,新适应症为治疗良性表皮色素性增加性皮肤病。试验目的为观察棕色豚鼠的皮肤组织中的黑色细胞及黑素颗粒去除情况,观察皮肤组织损伤及愈合情况,评估量效关系及热损伤范围,考核产品用于治疗良性表皮色素性增加性皮肤病的安全性和有效性。

3.2.2 试验方案设计基本要求

选择已在中国获准上市、具有相同或更宽的适用范围、市场反应良好的激光设备进行随机平行对

照。应设置可反映申报产品量效关系的能量参数进行试验,且应当能够涵盖产品技术要求中的性能参数范围,如波长、光斑大小、激光输出方式、功率、脉宽及脉冲间隔、占空比等关键参数。试验组及对照组的能量参数设置应相同/相似且应满足临床需求。确保每次试验前,动物/靶组织都处于相同的生理状态,且能证明可用于开展动物试验。

3.2.3 评价方法及指标

安全性,主要通过观察激光设备对治疗区域内靶组织及周边组织的热损伤范围。可以采用组织病理学或 OCT 等方法对对急性及慢性热损伤情况进行评估,应评估不同时间点,试验组与对照组的凝固带最大宽度及最大深度、水肿、细胞空泡化等情况,提供对比表并附图并分析热损伤范围对临床使用的影响。

有效性,通常应分析试验组和对照组的激光仪治疗相同/相近/相似的靶组织,使用能量的差异。试验结果应给出梯度能量与治疗靶组织的量效关系图,应至少包含组别、波长、工作模式、治疗能量参数的范围、靶组织的变化,并给出有效能量参数范围。

例 1:应分析试验组和对照组的钬激光治疗仪治疗相同大小的结石,比较能量参数、碎石效果、碎石时间、碎石残留量的差异并进行组间分析。有效性评价指标至少应包含:碎石能量、碎石时间、碎石效果及残留量、损伤膀胱组织能量;安全性评价指标至少应包含:膀胱组织病理学、动物存活率、血及尿生化指标、其它生理状况、与术前相比是否存在尿路感染、膀胱穿孔、继发性血尿等。有些钬激光治疗仪的适用范围还包括汽化和凝固泌尿系肿瘤,考虑动物模型的经济性及便利性,可通过比较治疗仪作用于正常尿路上皮组织,给出梯度能量与汽化、凝固组织厚度的量效关系图,分析试验结果对临床使用的影响。

例 2:利用 Nd:YAG 皮秒激光治疗仪/二氧化碳激光治疗仪治疗良性色素性增加性皮肤病。有效性,评价试验组和对照组的激光仪治疗相同区域的黑色素,比较能量参数、治疗时间、色素沉着、黑色素颗粒的差异并进行组间分析。安全性评价,观察并分析术后动物存活率、皮肤组织病理学、术后并发症。有效性评价指标应至少包含:治疗能量、治疗时间、色素沉着评分、黑色素颗粒计数等;安全性评价指标应至少包含:皮肤组织病理学、皮肤感染、

红肿、出血、出现疤痕等。

例 3:由于动物与人眼组织的差异,眼科激光光凝仪的评价指标应体现可行性及安全性。通过观察光凝反应分析术前、术后的视网膜厚度、脉络膜厚度、光斑大小及形态变化情况,给出能量(梯度功率)与术前后视网膜、脉络膜厚度变化的量效关系图;通过检眼镜/裂隙灯显微镜观察视网膜损伤斑,计算损伤发生率(损伤斑数/照射斑数),给出光凝仪不同波长、不同激光输出方式下对试验动物的视网膜热损伤阈值的评价,按照梯度功率绘制损伤发生率与能量的关系表。主要评价指标应包含:视网膜组织形态学及组织病理学变化。次要评价指标应包含:与激光光凝术前相比,是否存在视网膜前和视网膜下的纤维化及增殖、视网膜出血、新生血管形成、激光斑扩大、视网膜水肿等。

4 讨论

医用激光设备是通过向人体输出能量达到治疗目的的高风险设备,临床前动物试验的目的是通过动物模型来考察激光产品的可行性、安全性和有效性,可为制定临床方案选择合理治疗参数提供建议,并观察潜在的不良事件,降低临床活动中的风险。目前,我国医疗器械临床前的安全性评价现状是无相关的质量管理规范,无试验室资质要求。建议申请人根据申报产品的实际情况,决策开展动物试验的情形,通过选择合理的动物试验方案,验证激光产品的可行性、有效性和安全性,保证研究数据的科学性、真实性和可追溯。

4.1 动物模型的考量

申请人可根据产品的实际预期用途,开展动物试验的目的综合评估后决策。眼科研究的常用实验动物包括小鼠、大鼠、兔、比格犬、小型猪、猴等^[30-31],但普遍存在生理结构及功能与人眼有不同差异的情形,如小鼠、大鼠、兔、犬、小型猪等动物不存在类似于人眼的黄斑区^[32],无法验证激光产品治疗黄斑区疾病的有效性,只能通过试验组与对照组的的产品作用于试验动物眼后,比较视网膜厚度的变化情况评估激光产品的可行性及安全性。此外,还需考虑开展动物试验的经济性、便利性等因素,恒河猴眼与人眼相似度较高,但动物试验成本较高。因此,本文动物试验举例仅作参考。

4.2 研究观察时间点

动物试验应能观察到产品作用于动物之前、之

后不同时间点的组织状态,研究中选择的观察时间点,应有合理依据。由于试验动物模型和人体之间组织损伤与愈合应答存在差异,且不同激光产品能量参数设置也存在差异性,因此,应合理设置最终观察时间点。同时,尽可能对临床相关的安全性事件进行观察,分析对临床使用的影响。

4.3 决策方案中的试验与对照组

按照《医疗器械临床试验质量管理规范》、《医疗器械临床评价指导原则》,医用激光治疗设备可以通过同品种医疗器械临床试验或临床试用获得的数据开展评价(同品种比对)。若需要开展临床试验,动物试验应在临床试验前完成,可为临床试验的方案设计提供依据,并可预测在临床试验中可能出现的不良事件,降低临床试验受试者和临床使用者承担的风险。如果只有试验组无对照组的数据,可以作为申报产品开展临床试验前的研究资料;如果同时有试验组及对照组的数据,可以作为开展临床试验前的研究资料,也可作为通过同品种比对开展临床评价时用于证明安全性和有效性的支持性资料。

综上所述,本文在参考《药物非临床研究质量管理规范》、《医疗器械动物试验研究技术审查指导原则第一部分:决策原则》、《医疗器械动物试验研究注册审查指导原则第二部分:试验设计、实施质量保证》等规范性文件基础上,结合审评经验,分析医用激光设备的作用机理,归纳强激光治疗类产品决策开展动物试验的情形,并举例分析开展动物试验的目的、方案设计要求和评价指标等,为医疗器械相关技术审评人员、研发人员及注册人员提供参考。

参考文献:

- [1] 邱霞霞,李布洪,马辉,等.我国激光技术医疗应用和产业发展战略研究[J].中国工程科学,2020,22(3):14-20.
- [2] Swanson EA, Fujimoto JG. The ecosystem that powered the translation of OCT from fundamental research to clinical and commercial impact [J]. Biomed Opt Express, 2017, 8(3): 1638-1664.
- [3] Guitera P, Menzies SW, Longo C, et al. *In vivo* confocal microscopy for diagnosis of melanoma and basal cell carcinoma using a two-step method: Analysis of 710 consecutive clinically equivocal cases [J]. J Invest Dermatol, 2012, 132(10): 2386-2394.
- [4] Niemz NH. Laser-Tissue Interaction [M]. Berlin: Springer; 2007.
- [5] Avci P, Gupta A, Sadasivam M, et al. Low-level laser (light

- therapy (LLLT) in skin: Stimulating, healing, restoring [J]. Semin Cutan Med Surg, 2013, 32(1): 41-52.
- [6] Allison RR, Moghissi K. Photodynamic therapy (PDT): PDT mechanisms [J]. Clin Endosc, 2013, 46(1): 24-29.
- [7] Peng Q, Juzeniene A, Chen JY, et al. Lasers in medicine [J]. Rep Prog Phys, 2008, 71(5): 1-28.
- [8] Tracey J, Gagin G, Morhardt D, et al. Ureteroscopic high-frequency dusting utilizing a 120W holmium laser [J]. J Endourol, 2018, 32(4): 290-295.
- [9] Blackmon RL, Irby PB, Fried NM. Comparison of holmium: YAG and thulium fiber laser lithotripsy: ablation thresholds, ablation rates, and retropulsion effects [J]. J Biomed Opt, 2011, 16(7): 071403.
- [10] Lavinsky D, Sramek C, Wang J, et al. Subvisible retinal laser therapy: titration algorithm and tissue response [J]. Retina, 2014, 34(1): 87-97.
- [11] 国家食品药品监督管理总局关于发布医疗器械分类目录的公告(2017年第104号)[EB/OL]. [2017-08-31]. <https://www.nmpa.gov.cn/ylqx/ylqxggtg/ylqxqtgg/20170904150301537.html>.
- [12] Kronenberg P, Somani B. Advances in lasers for the treatment of stones-a systematic review [J]. Curr Urol Rep, 2018, 19(6): 45.
- [13] Jin P, Jing W, Zhan W, et al. Efficacy and safety of laparoscopic holmium laser lithotripsy in the treatment of complicated biliary calculus: A PRISMA-compliant systematic reviews and meta-analysis [J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98(4): e14286.
- [14] Scoffone CM, Cracco CM. Prostate enucleation better with low or high-power holmium laser? A systematic review [J]. Arch Esp Urol, 2020, 73(8): 745-752.
- [15] 任秀朋,崔微微.宫腔镜下钬激光治疗子宫黏膜下肌瘤的效果及对性激素、性生活质量的影响[J].解放军医药杂志, 2021, 33(2): 70-74.
- [16] 王振誉,朱华,张冰,等.经尿道钬激光整块切除手术治疗非肌层浸润性膀胱癌的疗效分析[J].临床泌尿外科杂志, 2021, 36(10): 789-791, 795.
- [17] 江杰,顾志波,陈建刚,等.高低功率钬激光剜除治疗不同体积良性前列腺增生的疗效分析[J].中国临床医学, 2021, 28(5): 846-852.
- [18] Cohn AC, Wu Z, Jobling AI, et al. Subthreshold nano-second laser treatment and age-related macular degeneration [J]. J Clin Med, 2021, 10(3): 484.
- [19] Evans JR, Michelessi M, Virgili G. Laser photocoagulation for proliferative diabetic retinopathy [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2014, 2014(11): CD011234.
- [20] Eng VA, Leng T. Subthreshold laser therapy for macular oedema from branch retinal vein occlusion: focused review [J]. Br J Ophthalmol, 2020, 104(9): 1184-1189.
- [21] Yoshihiro T, Shogo A, Seiji M, et al. Panretinal photocoagulation using short-pulse laser induces less inflammation and macular thickening in patients with diabetic retinopathy [J].

J Ophthalmol, 2017, 2017; 8530261.

[22] Findlay Q, Jobling AI, Vessey KA, et al. Prophylactic laser in age-related macular degeneration: the past, the present and the future [J]. Eye, 2018, 32(5): 972-980.

[23] Szymanska J, Goralczyk K, Klawe JJ, et al. Phototherapy with low-level laser influences the proliferation of endothelial cells and vascular endothelial growth factor and transforming growthbeta secretion [J]. J Physiol Pharmacol, 2013, 64(3): 387-391.

[24] 韩玉, 关欣, 苏明山. 1064/532nm 皮秒激光和纳秒激光治疗文身的疗效对比观察 [J]. 临床皮肤科杂志, 2021, 50(6): 360-363.

[25] Heidari Beigvand H, Razzaghi M, Rostami-Nejad M, et al. Assessment of laser effects on skin rejuvenation [J]. J Lasers Med Sci, 2020, 11(2): 212-219.

[26] 杨雅娇, 郑佳兴, 杨高云. Nd:YAG 皮秒激光治疗黄褐斑临床疗效及安全性研究 [J]. 临床和实验医学杂志, 2021, 20(5): 552-555.

[27] Santos MOD, Latrive A, De Castro PAA, et al. Multimodal evaluation of ultra-short laser pulses treatment for skin burn injuries [J]. Biomed Opt Express, 2017, 8(3): 1575-1588.

[28] Anderson RR, Parrish JA. Selective photothermolysis: precise microsurgery by selective absorption of pulsed radiation [J]. Science, 1983, 220(4596): 524-527.

[29] Major A, Brazzini B, Campolmi P, et al. Nd:YAG 1064 nm laser in the treatment of facial and leg telangiectasias [J]. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2001, 15(6): 559-565.

[30] 裴超. 激光光凝法和光动力疗法诱导视网膜静脉阻塞动物模型新进展 [J]. 中华实验眼科杂志, 2020, 38(7): 621-624.

[31] Struebing FL, Geisert EE. What animal models can tell us about glaucoma [J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2015, 134: 365-380.

[32] Khayat M, Lois N, Williams M. Animal models of retinal vein occlusion [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2017, 58(14): 6175-6192.

[收稿日期]2021-11-29

(上接第 104 页)

[38] Pekow C. Commentary on two reports on animal models of COVID-19 [J]. Animal Model Exp Med, 2020, 3(2): 115-116.

[39] Thevarajan I, Nguyen THO, Koutsakos M, et al. Breadth of concomitant immune responses prior to patient recovery: a case report of non-severe COVID-19 [J]. Nat Med, 2020, 26(4): 453-455.

[40] Yu H, Sun B, Fang Z, et al. Distinct features of SARS-CoV-2-specific IgA response in COVID-19 patients [J]. Eur Respir J, 2020, 56(2): 2001526.

[41] Padoan A, Sciacovelli L, Basso D, et al. IgA-Ab response to spike glycoprotein of SARS-CoV-2 in patients with COVID-19: A longitudinal study [J]. Clin Chim Acta, 2020, 507: 164-166.

[42] Huang AT, Garcia-Carreras B, Hitchings MDT, et al. A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: antibody kinetics, correlates of protection, and association of antibody responses with severity of disease [J]. medRxiv, 2020, 2020:20065771.

[43] Guo L, Ren L, Yang S, et al. Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19) [J]. Clin Infect Dis, 2020, 71(15): 778-785.

[44] Seow J, Graham C, Merrick B, et al. Longitudinal evaluation and decline of antibody responses in SARS-CoV-2 infection [J]. Nat Microbiol, 2020, 5(12): 1598-1607.

[45] Long Q, Tang X, Shi Q, et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections [J]. Nat Med, 2020, 26(8): 1200-1204.

[46] Zhang L, Zhou L, Bao L, et al. SARS-CoV-2 crosses the blood-brain barrier accompanied with basement membrane disruption without tight junctions alteration [J]. Signal Transduct Target Ther, 2021, 6(1): 337.

[收稿日期]2021-09-29