

論文の内容の要旨

1 申請者

防衛医科大学校 中山 瑛子

2 論文題目

青色光照射の尋常性痤瘡への治療効果と発生する活性酸素種の研究

3 論文の内容の要旨（博士：2,000 字程度）

（1）背景と目的

尋常性痤瘡は、角化異常やアンドロゲンホルモン分泌による皮脂分泌の増加、*Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) の定着および炎症が主な原因とされている。痤瘡の治療としては、外用剤・内服薬を用いるのが一般的であるが、波長 415 nm 付近の青色光照射の有効性も報告されている。

痤瘡に対する青色光治療においては、既に家庭用デバイス、クリニック用デバイスが多数販売されている。しかし、それらの治療プロトコル（照射密度・時間・期間・頻度）は定まっていない。そのため、既に複数のランダム化比較試験で痤瘡に対する青色光治療の有効性が示されているにも関わらず、システマティックレビューやメタアナリシスが行われると、その観察期間の短さや、照射プロトコル・評価方法の不統一性によって、その有効性に関する評価が制限されている。その結果、青色光治療は、尋常性痤瘡治療ガイドライン等において、エビデンス不足として未だ推奨が得られていない。しかし、青色光照射による痤瘡治療は、簡便な光照射で、正常組織への侵襲性や副作用が少ない治療方法として有望である。

これらのことから、青色光による痤瘡治療の普及には、照射プロトコルについて、根拠ある詳細な検討が必要だと考えた。*C. acnes* の増殖速度（倍化時間：4-5 時間）を考えると、現在クリニックで行われている週に 2~3 回の照射頻度では *C. acnes* の増殖を抑えることは難しく、家庭で患者本人によって行われるような毎日の照射が必要だと考えた。一方で、青色光照射は活性酸素種（Reactive Oxygen Species：ROS）の発生を誘導することが知られているため、正常組織の傷害性の評価も必要であると考えた。

そこで本研究では、マウスの痤瘡モデルを用いて、青色光の痤瘡への至適治療プロトコルの探究と、その組織傷害性評価に関する実験を行った。また、青色光の痤瘡皮膚における組織透過率を計測する実験を行った。さらに、マウス線維芽細胞において青色光照射によって発生する ROS の種類や ROS のスカベンジャーである Super Oxide Dismutase：SOD を計測した。

（2）対象と方法

- ① ヘアレスマウスの背部に *C. acnes* を皮下接種し痤瘡モデルを作製した。これに対し、4 つの条件（100 or 30 mW/cm², 20 or 10 分）で 5 日間連日青

色光(波長 415 nm)を照射し、その治療効果を、痤瘡の破裂の有無、病理組織学的評価、ELISA 法による炎症性サイトカイン量の計測で評価した。

- ② 痤瘡モデルに Cleaved caspase-3 免疫染色を行い、青色光照射による皮膚組織のアポトーシスについて評価した。
- ③ 青色光照射によって変化する皮膚 ATP 量を細胞機能の指標として計測した。ATP 感受性の Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET) 型蛍光タンパク質 ; GO-ATeam を発現する遺伝子組み換えマウスを使用した方法と、ホタルルシフェラーゼ発光法によって計測した。
- ④ パワーメーターを用いて青色光の痤瘡皮膚における組織透過率を計測した。
- ⑤ マウス線維芽細胞に特定の ROS に反応する蛍光プローブを取り込ませ、青色光によって発生する ROS の種類と量をフローサイトメトリーによる蛍光輝度計測によって評価した。さらに照射後の細胞生存率や Superoxide dismutase (SOD) 活性を計測した。

(3) 結果・考察

ヘアレスマウスの背部には直径 8 mm の膿を有する膿腫性痤瘡を作製することができた。100 mW/cm²、20 分の 5 日間連日照射は有意に痤瘡の炎症を抑制した。しかし、その後 72 時間の無照射期間で炎症は再燃したため、青色光の照射法としては、痤瘡が治癒するまで毎日照射することが必要と考えられた。

今回設定した照射条件では、痤瘡皮膚及び正常皮膚組織において有意な Cleaved caspase-3 免疫染色陽性細胞の増加は見られなかった。しかし、青色光のフルエンス (J) に応じて皮膚組織の ATP 量は低下した。

青色光の痤瘡皮膚における組織透過率を計測したところ、青色光は全照射量のうち約 5 % が痤瘡膿瘍の表面に到達し、膿瘍内を 50 μm 進むごとにその組織透過率は半減することがわかった。痤瘡の治療メカニズムには、*C. acnes* の代謝物であるポルフィリンが励起されて発生する ROS だけではなく、周囲皮膚組織から発生する ROS なども関与している可能性が考えられた。

マウス線維芽細胞からはスーパーオキシド (O₂^{•-}) と次亜塩素酸 (HClO) が照射量に依存して発生し、細胞生存率も減少することがわかった。また、30 mW/cm²、10 分等の照射条件では、照射 120 分後の SOD 活性が未照射群に比べて有意に上昇した。

(4) 結論

5 日間連続の青色光照射は、痤瘡の炎症抑制に有効であった。ただし、その後 72 時間の無照射期間で炎症は再燃するので、痤瘡への青色光照射は、治癒するまで毎日行うことが必要である。しかし、青色光の照射により、細胞生存率や細胞内 ATP 量の低下が起きることがわかった。そのため、青色光治療では、治療効果と組織障害のバランスを考慮した治療プログラムを組む必要がある。

4 キーワード (5 個程度)

「尋常性痤瘡」「青色光治療」「光治療」「活性酸素種」「ATP」