

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 14 日現在

機関番号：	34401
研究種目：	基盤研究(C)
研究期間：	2009～2011
課題番号：	21591475
研究課題名（和文）	可視光の皮膚アンチエイジング効果に関する基礎的研究～DNA修復能に着目して
研究課題名（英文）	Analysis of the effect of visible light on photoaged skin focusing on DNA repair
研究代表者	
	森脇 真一 (Moriwaki Shinichi)
	大阪医科大学・医学部・教授
研究者番号：	40303565

## 研究成果の概要（和文）：

光線（LED IPL 疑似光源）照射による紫外線性 DNA 損傷の修復能、酸化的 DNA 損傷の修復能、さらに細胞増殖能、ヒアルロン酸産生能、メラニン産生抑制能の定量的変化を種々の正常ヒト皮膚由来培養線維芽細胞、ヒト皮膚 3 次元モデルを用いて解析した。その結果赤、黄、青色 LED が細胞内酸化的 DNA 損傷、青色 LED が紫外線性 DNA 損傷の修復能を高め、また赤色、青色 LED はともに細胞増殖能亢進作用、ヒアルロン酸産生亢進作用、さらに組織を損傷することなくメラニン産生抑制作用を持つことが判明した。これらの所見は LED 光には皮膚の抗老化作用があることを示唆する。

## 研究成果の概要（英文）：

Visible light (VL) such as intense pulsed light (IPL) and light emitting diodes (LED) have been recently introduced to the painless, nonabrasive phototherapy to reverse photoaging skin such as wrinkles and lentigines. However the precise basic mechanisms on which VL irradiation can modulate these aged skin changes has not yet been proven. Here, we examined the effect of LED on cell proliferation, production of hyaluronic acid, DNA repair ability and melanogenesis by use of the human primary cultured fibroblasts and the 3-D skin-like tissue structure. A rate of cell proliferation and production of hyaluronic acid from the cells were significantly increased after red and blue LED irradiation. In addition, red, yellow and blue LED could stimulate the ability to repair oxidative DNA damage including 8-oxo-G of the cells assessed by host cell reactivation of the reporter plasmid. Melanogenesis was inhibited on the human 3-D skin-like tissue exposed to red or blue LED without no histologically damage of the skin. These findings suggest that LED light can be useful for skin rejuvenation through mechanisms of activating dermal skin fibroblast, increasing DNA repair ability to oxidative DNA damage and suppressing melanogenesis.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学、皮膚科学

キーワード：アンチエイジング、光線治療、DNA 修復、発光ダイオード (LED)、紫外線

### 1. 研究開始当初の背景

近年皮膚の若返り（アンチエイジング）を目的にシミ、シワ、皮膚のたるみなどの光老化皮膚に対して、広域スペクトルの非レーザー光線（Intense pulsed light; IPL、あるいはその次世代の I2PL、Light emitting diode; LED）が利用されるようになってきた。これらは効果がマイルドで治療回数がかかるという欠点はあるが、非侵襲的でダウンタイムの少ない治療法として美容皮膚科学の領域で最近特に注目されている。しかし美容皮膚科領域におけるこのような光線機器を用いた皮膚アンチエイジング治療の手技的な進歩は著しいが、その医学的・科学的エビデンス、基礎データについてはまだまだ乏しいのが現状である。

### 2. 研究の目的

今回の研究目的は主として DNA 修復という観点から、光線を用いるアンチエイジング治療に関する医学的・科学的エビデンスを得ることである。研究代表者が本邦で唯一保持する紫外線性 DNA 損傷、酸化 DNA 損傷各々の修復機能を鋭敏、正確に評価するシステムを応用して、研究代表者が長年保管している多くの初代培養線維芽細胞（健常人）、独自に作製した IPL 疑似光線、LED 光線を用いて研究を行うというストラテジーをとった。

### 3. 研究の方法

材料；正常ヒト皮膚由来培養線維芽細胞（初代培養、低パッセージ、20～50 歳健常人由来の 12 系統）、ヒト皮膚 3 次元モデル

方法；光線（赤、黄、青色 LED IPL 疑似光源）照射の有用性をレポータープラスミド

（ルシフェラーゼ発現ベクター）の宿主細胞回復能を指標にした紫外線性 DNA 損傷の修復能、酸化 DNA 損傷（8-OHdG）の修復能に着目して検討した。前者の系は *in vitro* でプラスミド DNA 内に UVC を照射し、人工的に UV photoproduct を誘発し、それをヒト由来培養細胞に導入して DNA 修復をさせ、レポーター遺伝子の発現量を指標にその細胞での DNA 修復能を定量化するものである。後者では UVC の代わりに色素（rose bengal : RB）処理後の可視光線照射により光線力学反応を起こさせ、プラスミド DNA 内に 8-OHdG を誘発させるものである。また同時に光線照射による細胞増殖能、ヒアルロン酸産生能も検討した。さらに光線照射前後のヒト 3 次元モデル皮膚におけるメラニン産生抑制能などの定量的変化も解析した。

### 4. 研究成果

今回の研究のために独自に作製した赤、黄、青色 LED（7-16 mW/cm<sup>2</sup>）が酸化 DNA 損傷の細胞修復能、もしくは紫外線性 DNA 損傷の修復能を高めることが証明された。酸化 DNA 損傷の細胞修復は赤、黄、青色 LED すべてにおいて照射後上昇し、紫外線性 DNA 損傷の細胞内修復レベルは青色 LED 照射後増加した（図 1）。青色 LED の紫外線性 DNA 損傷修復能亢進作用はこれまで哺乳類には存在しないとされる「光回復」という DNA 修復系の存在を推測させる点で大変興味深い。また赤色、青色 LED はともに細胞増殖能亢進作用、ヒアルロン酸産生亢進作用、メラニン産生抑制作用を持つことが判明した（図 2）。このメラニン抑制作用は皮膚組織を破壊することなくみられることが組織化学的に確認された。これらの結果は特に青色、赤色 LED がシミ・シワ治療に有望であることを示唆する。今後は DNA 修復に関連する遺伝子のリアルタイム PCR 解析を実施し各種光線によるアンチエイジング作用の分子機構の解明を早急に行い、将来の皮膚アンチエイジング（シワ・シミ治療）治療の臨床応用につなげていきたい。

図 1

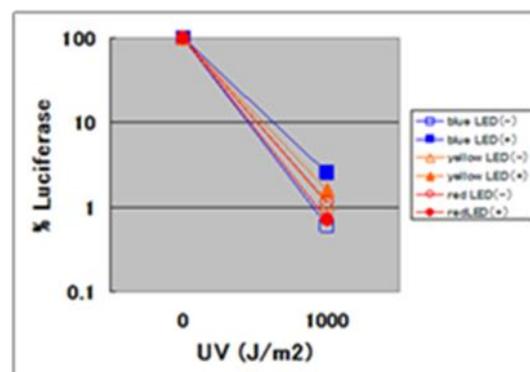
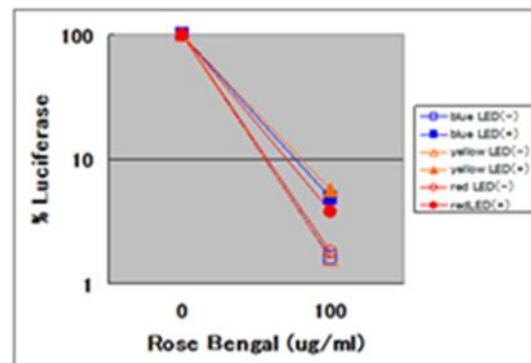


図 2

	blue LED	yellow LED	red LED
cell growth	→	n.d.	↑
synthesis of hyaluronic acid	n.d.	n.d.	↑
sensitivity to killing by UV	n.d.	n.d.	→
repair of UV-induced DNA damage	↑	→(slightly)	→
repair of oxidative DNA damage	↑	↑	↑
inhibition of melanogenesis	↑	n.d.	↑

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 23 件)  
(英文)

(1) Moriwaki S, Takigawa M, Igarashi N, Nagai Y, Amano H, Ishikawa O, Khan SG, Kraemer KH Xeroderma pigmentosum complementation group G patient with a novel homozygous mutation and no neurological abnormalities, *Exp Dermatol*, in press.

(2) Moriwaki S, Takahashi Y, Shimizu H, Inoue M, Sugiyama Y, Inoue S Decreased repair of singlet oxygen-induced DNA damage in xeroderma pigmentosum group A cells determined by plasmid host cell reactivation *J Derm Sci*, in press.

(3) Moriwaki S, Yamashita Y, Nakamura S, Fujita D, Kohyama J, Takigawa M, Ohmichi H Prenatal diagnosis of xeroderma pigmentosum group A in Japan. *J Dermatol*, in press.

(4) Hirata Y, Koga S, Fukui N, Yu A, Koshida S, Kosaka Y, Moriwaki S 5-Aminolevulinic acid (ALA) - mediated photodynamic therapy to superficial malignant skin tumors using Super Lizer™. *J Dermatol* 38:748-754, (2011)

(5) Bradford PT, Goldstein AM, Tamura D, Khan SG, Ueda T, Boyle J, Oh K-S, Imoto K, Inui H, Moriwaki S, Emmert S, Pike KM, Raziuddin A, Plona T, DiGiovanna JJ, Tucker MA, Kraemer Cancer and neurologic degeneration in xeroderma pigmentosum : long term follow-up characterizes the role of DNA repair. *J Med Genet* 48:168-176, (2011)

(6) Takahashi Y, Endo Y, Sugiyama Y, Inoue S, Iijima M, Tomita Y, Kuru S, Takigawa M, Moriwaki S Novel XPA Gene Mutations Resulting in Subtle Truncation of Protein in Xeroderma Pigmentosum Group A Patients

with Mild Skin Symptoms. *J Invest Dermatol* 130:2481-8, 2010

(邦文)

(7) 森脇真一 紫外線を用いた皮膚病治療 皮膚科セミナーウム 日本皮膚科学会雑誌印刷中

(8) 森脇真一 DNA 修復機構と色素性乾皮症 *Monthly Book Derma* 191:15-24, 2012

(9) 森脇真一、小谷麻由美、櫛原維華、藤田晃人、岡崎茂俊、正常ヒト皮膚 3 次元モデルを用いた赤色、青色 LED (Light emitting diode) の色素沈着抑制効果の検討 日本美容皮膚科学会雑誌 20:288-294, 2010

(10) 森脇真一 櫛原維華 美容皮膚科領域の新しい医療機器としての LED の可能性 日本美容皮膚科学会雑誌 19:39-44, 2009

[学会発表] (計 21 件)

(1) 大津詩子、藤原美智子、別所 優、森脇真一、石井健太郎 光老化皮膚に対する Intense Pulsed Light (IPL) 治療の照射波長による改善効果の違いの検討 第 29 回日本美容皮膚科学会総会 平成 23 年 9 月 10 日 (下関)

(2) 森脇真一 色素性乾皮症とコケイン症候群 from molecule to patient 特別講演 第 33 回日本光医学光生物学会 平成 23 年 7 月 23 日 (大阪)

(3) Moriwaki S, Ichihara Y, Kotani M, Fujita A EFFECTS OF RED AND BLUE LIGHT EMITTING DIODES (LED) ON THE CULTURED HUMAN SKIN The 22nd World Congress of Dermatology May 25, 2011 (Seoul, Korea)

(4) 森脇真一、櫛原維華 LED (light emitting diode) による皮膚アンチエイジング効果の実験的検討 UVABCclub 2011 平成 23 年 3 月 4 日 (熱海)

(5) Moriwaki S, Sakai Y, Nakanishi N, Nakamura S, Takahashi M, Toda K Progression of UV sensitive syndrome to adult onset Cockayne syndrome in a patient with CSB mutations 第 35 回日本研究皮膚科学会 平成 22 年 12 月 3 日 (和歌山)

(6) Moriwaki S Experience of laboratory diagnosis of XP, CS and TTD in Japan XERODERMA PIGMENTOSUM AND OTHER DISEASES OF HUMAN PREMATURE AGING AND DNA REPAIR: MOLECULES TO PATIENTS 2010.9.21-24 (Lansdowne, VA)

(7) 森脇真一 「色素性乾皮症を知ろう」 市民公開講座 第 32 回光医学・光生物学会

平成 22 年 8 月 1 日（東京）

(8) 森脇真一 遺伝性光線過敏症の分子診断と患者ケア 教育講演 第 109 回日本皮膚科学会総会 平成 22 年 4 月 17 日(大阪)

(9) 石井健太郎、小谷麻由美、藤田晃人、森脇真一 エレクトロポレーション応用によるシワ治療の有用性の検討 第 27 回日本美容皮膚科学会 平成 21 年 8 月 1 日（新潟）

〔図書〕（計 19 件）  
（英文）

(1) Moriwaki S, Kraeemr KH Disorders of DNA repair Therapy of skin diseases p 589-595, Springer, (2010)

(2) Tokura Y, Moriwaki S Photodynamic therapy Therapy of skin diseases p 105-111, Springer, (2010)

（邦文）

(3) 森脇真一 色素性乾皮症 からだと光の事典 p171-175, 2010（朝倉書店）

(4) 森脇真一 色素性乾皮症 「顔の皮膚病最前線」皮膚科最前線シリーズ（メディカルビュー社） p 134-137、2009

(5) 森脇真一 遮光の指導はどうする？ 「顔の皮膚病最前線」皮膚科最前線シリーズ（メディカルビュー社） p 138-139、2009

(6) 森脇真一 光線過敏症 皮膚疾患診療実践ガイド（文光堂）第 2 版 428-435, 2009

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

森脇 真一 (Moriwaki Shinichi)  
大阪医科大学・医学部・教授  
研究者番号：40303565