

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 24 日現在

機関番号：16301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23791273

研究課題名(和文)皮膚構成細胞に対するLEDの作用メカニズムの解析

研究課題名(英文)Analysis of the effect of LED to skin component cells

研究代表者

宮脇 さおり(Miyawaki, Saori)

愛媛大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90467853

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：発光ダイオードを用いた創傷治癒に対する光線療法を確立し、その作用メカニズムを検討することを目的として研究を行った。3種類(415nm, 630nm, 660nm)の波長の発光ダイオード照射機器を作成し、それぞれの波長の皮膚構成細胞に照射し、細胞増殖能、細胞障害性を検討した。仮説として、発光ダイオードに照射により皮膚構成細胞が増殖し、創傷治癒に有効性を示すのであろうと予測していた。しかしながら予想に反して、創傷治癒につながる細胞増殖作用はいずれの細胞に置いても観察できなかった。一方415nmの波長は照射することによって、照射量依存性に皮膚構成細胞がアポトーシスに陥り、細胞増殖抑制に働く事が判明した。

研究成果の概要(英文)：We conducted this study to establish the phototherapy for wound healing using a light emitting diode, and to clarify the mechanism. We have created a light-emitting diode irradiation equipment of three wavelengths. After irradiated respective wavelengths for the skin component cells, we examined cell proliferation and cytotoxicity. As a hypothesis, it was predicted skin component cells proliferate by exposure to a light emitting diode, it would show efficacy in wound healing. Contrary to expectation, we could not observe cell proliferation after irradiation all wavelengths lights respectively. However, this study found that skin component cells induced apoptosis in dose-dependent after irradiation of 415nm light emitting diode.

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：発光ダイオード 創傷治癒 皮膚構成細胞 細胞増殖抑制

1. 研究開始当初の背景

発光ダイオードは、近赤外～紫外線を単一波長で発光する光で、創傷治癒や皮膚の若返りなどに効果があるとされ、細菌褥瘡やシワに対し臨床応用が試みられている。しかしながら作用機序についてほとんど解明されていない。

2. 研究の目的

本研究では発光ダイオードを用いた創傷治癒に対する光線療法を確立し、その作用メカニズムを *in vitro* ならびに *in vivo* にて検討することを目的とする。

3. 研究の方法

- 1) 630nm, 660nm, 415nm の 3 波長の発光ダイオード照射機器を作成する。
- 2) 各波長の光を線維芽細胞、角化細胞、血管内皮細胞、リンパ管内皮細胞に照射を行い、細胞増殖能、細胞障害性を検討する。
- 3) 細胞増殖能を亢進させる波長に関しては、更に細胞成長因子に関する検討、マイクロアレイ解析、三次元培養皮膚に対する影響を検討する。

4. 研究成果

- 1) 発光ダイオードの細胞増殖能、細胞障害性に与える影響(630nm、660nm)

630nm, 660nm の波長を皮膚構成細胞に照

射した群、対照群を比べて、いずれにおいても細胞増殖能、細胞障害性において有意差は認められなかった。図 1 に 630nm、660nm の発光ダイオードを照射した皮膚構成細胞のうち、線維芽細胞の結果を下記に示す。コントロール比べて有意差はない。

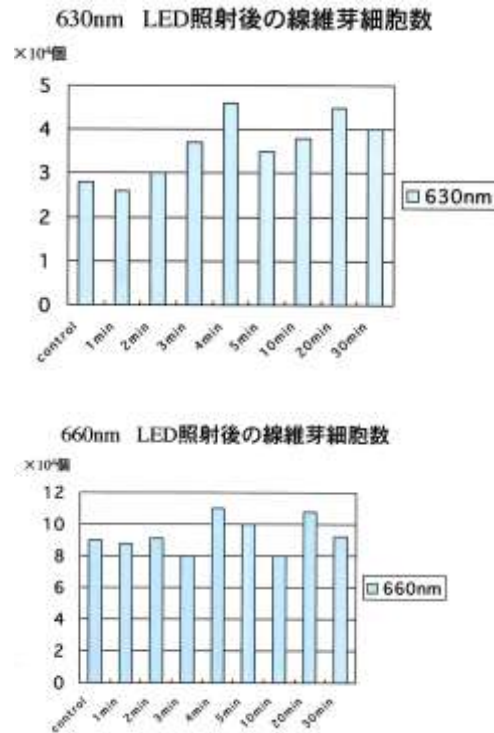


図 1. 630nm、660nm の発光ダイオード照射後の線維芽細胞数

- 2) 発光ダイオードの細胞増殖能、細胞障害性に与える影響 (415nm)

415nm の波長を各皮膚構成細胞に照射した結果、照射量依存性に細胞増殖能の低下および、細胞障害性の増加を認めた。図 2 は線維芽細胞へ照射した際の浮遊細胞を含めた細胞数である。コントロールに比べ照射量依存性に細胞数が減少している。図 3 は角化細胞であるが、同様の結果が得られた。

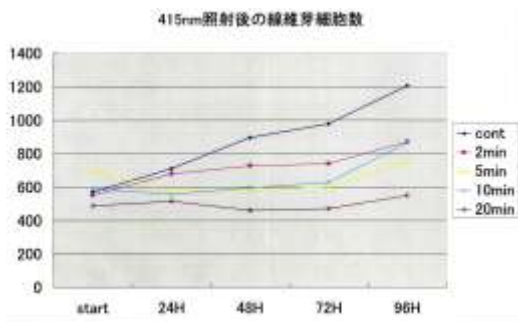


図 2. 415nm 照射後の線維芽細胞数の経時変化

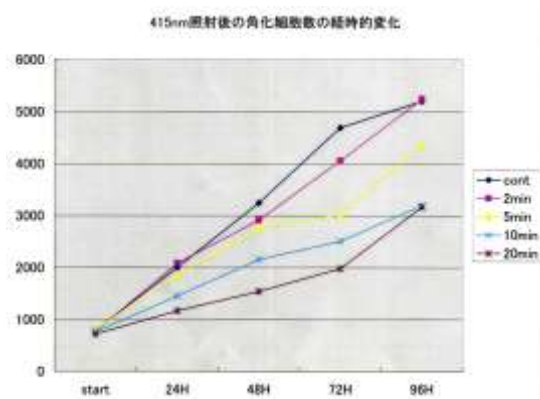


図 3. 415nm 照射後の角化細胞数の経時変化

各皮膚構成細胞へ照射した後、96 時間後に細胞の形態を観察した。図 4 のごとく、コントロール群と比べて、5 分照射群は細胞が膨化し、20 分照射群は細胞が接着できず浮遊している。



図 4. 415nm 照射による線維芽細胞の形態変化

Tunel 法でアポトーシスに陥った細胞をカウントした。各表皮構成細胞のうち角化細胞を供覧する。図 5.1 5.2 に示す通り、角化細胞に置いてコントロール群では 415nm の発光ダイオード照射群に比べアポトーシスに陥

った細胞が有意に多かった。他の皮膚構成細胞に置いて同様の結果が得られた。

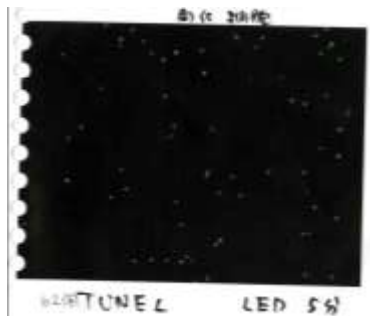


図 5.1 415nm 照射によるアポトーシス



図 5.2 コントロール

研究の目的として、発光ダイオードを用いた創傷治癒に対する光線療法を確立し、その作用メカニズムを *in vitro* ならびに *in vivo* にて検討することを掲げ、研究を進めた。仮説として、発光ダイオードに照射により、皮膚構成細胞が増殖し、創傷治癒や若返りに対しても有効性を示すのであろうと予測していた。しかしながら予想に反して、創傷治癒につながる細胞増殖作用はいずれの細胞に置いても観察できなかった。一方 415nm の波長は照射することによって、照射量依存性に皮膚構成細胞がアポトーシスに陥り、細胞増殖抑制に働くことが分かった。

以上の事より、創傷治癒に対する光線療法の現実は現段階においては厳しい。しかしながら、415nm の波長の発光ダイオードに関し

ては、細胞紡織抑制作用、細胞障害作用を有することが分かった。腫瘍細胞等へ照射することで、腫瘍細胞をアポトーシスに誘導することができる可能性が示唆され、今後の課題としたい。

## 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 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

宮脇 さおり (Miyawaki, Saori)

愛媛大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90467853

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし