

学 位 論 文 要 旨

氏名 土田 克彦

題 目 : Non-invasive assessment of oxidative stress using ultraweak photon emission
(バイオフィトンを用いた酸化ストレスの非侵襲的評価)

ヒトや動物において、皮膚は外界と接する大きな臓器であり、外的因子の侵入防止や体内水分蒸散の防止など体のホメオスタシスを維持するために重要な機能を有している。しかしながら皮膚は日常的に紫外線に曝露されており、活性酸素発生を介して酸化ストレスを受けている。酸化は皮膚の機能に影響を与え、皮膚疾患との関連も報告されているため、皮膚の酸化状態を把握することは重要である。一方で、動物や植物の生体からはバイオフィトンとも呼ばれる極微弱な光が自発的に発生していることが以前より知られている。その発生機序は明確になっていないものの、酸化反応に伴い発光していることがわかっており、試薬などを必要とせずに観測される生体現象として研究されてきた。

以上の背景のもと、第2章ではバイオフィトン計測を用いた皮膚の酸化ストレス評価法の有用性を検証し、第3章では顔面全体の皮膚の発光計測によって酸化ストレス状態を評価するとともに皮膚性状との関連を確認した。さらに第4章では皮膚におけるバイオフィトン発生メカニズム解明を目的に研究を行った。

第2章ではまず超高感度冷却 CCD カメラを用いたイメージング法を用いて、紫外線によって誘発される皮膚由来の発光を調べた。皮膚表面からの発光強度は紫外線照射量依存的に増加し、皮膚表面からの発光は表皮からだけでなく真皮にも由来することが考えられた。また紫外線によって誘発される発光は各種抗酸化剤で抑制されることがわかり、確かに発光が酸化と関連していることが確認された。さらにこの実験で用いたイメージング法は酸化ストレスを視覚化することができ、皮膚がんや光老化防止のために使用されるサンスクリーンの紫外線カット効果を目視で示すことができた。これらの実験結果より、皮膚表面だけでなく皮膚組織全体の酸化ストレスを評価する上でバイオフィトン測定が有用であることが示された。

次に第3章でヒトの顔全体における発光と皮膚性状との関連について、イメージング法を用いて評価した。その結果、顔面皮膚の発光強度は不均一であり、顔の部位によって酸化ストレス状態が異なることが示された。特に皮膚がんの発生率が高いことが報告される鼻では慢性的に酸化ストレス状態が高いことが示唆された。また目周囲の皮膚での発光強度は加齢に伴い増加するだけでなく、シワスコアとも正相関を示し、慢性的に紫外線に曝露されている顔面の皮膚性状を反映していると考えられる。顔全体を対象とした検証は従来の侵襲的な方法ではできなかったが、バイオフィトン計測を応用することで顔面の酸化ストレスを評価することに成功し、さらに皮膚性状との関連を示す重要な知見を得ることができた。

最後に第4章では皮膚における発光の機序を詳細に調べるため、紫外線によって誘発される発光の同時多波長分光分析を行った。解析の結果、皮膚組織全体から発生している発光は550nm

(別紙様式第 3 号)

付近をピークとするブロードなスペクトルパターンを示した。またこの発光スペクトルに寄与すると考えられる皮膚中の生体分子単体に同様に紫外線を照射し、発生するスペクトルパターンを評価した。各種生体分子は異なる波長にピークをもつスペクトルを示し、特にリン脂質は皮膚組織からの発光と似たスペクトルパターンを示し、皮膚からの発光の発生源として比較的大きく寄与していることが示唆された。リン脂質は細胞膜の主成分であるため、紫外線による発光は細胞の酸化状態も反映していると推測される。一方で血液からは紫外線誘発の発光は計測されなかったことから血液からの発光は血中ヘモグロビンなどによって吸収されていると考えられる。同時に皮膚には光増感剤として働く物質も存在し、発光には光増感反応による発光を含む複雑な発光メカニズムがあることが提案された。発光メカニズムの理解はバイオフィトンが示す酸化状態の解釈にもつながる。

以上の研究を通して、バイオフィトンを用いた酸化ストレス評価法は急性かつ慢性的な皮膚の酸化ストレス状態を把握する上で有用であることが確認された。また、本評価法で得られる情報は皮膚表面だけでなく皮膚の深い部位の情報も含んでいるため、外因的または内因的な皮膚や周辺器官の疾患を診断するツールとしての利用が期待される。また小動物臨床における腫瘍診断や放射線治療後の経過観察にも応用できると考えられる。本研究から皮膚におけるバイオフィトンの発光メカニズムの一端を解明するとともに、皮膚の発光現象と皮膚性状との関連性を実証するに至った。バイオフィトン計測を用いた本評価方法は非接触かつノンラベルで評価でき、生体に負担をかけることがないため、ヒトや動物の皮膚の非侵襲的診断法として活用できるものであると考える。

(和文 2,000 字又は英文 800 語程度)

学位論文審査の結果の要旨

氏名	土田 克彦
審査委員	主査： 鳥取大学 教授 山野 好章
	副査： 鳥取大学 教授 太田 利男
	副査： 鹿児島大学 教授 藤田 秋一
	副査： 鳥取大学 教授 竹内 崇師
	副査： 鳥取大学 教授 日笠 喜朗
題目	Non-invasive assessment of oxidative stress using ultraweak photon emission (バイオフィオンを用いた酸化ストレスの非侵襲的評価)
審査結果の要旨： ヒトや動物において、皮膚は外界と接する大きな臓器であり、外的因子の侵入防止や体内水分蒸散の防止など体のホメオスタシスを維持するために重要な機能を有している。しかしながら皮膚は日常的に紫外線に曝露されており、活性酸素発生を介して酸化ストレスを受けている。酸化は皮膚の機能に影響を与え、皮膚疾患との関連も報告されているため、皮膚の酸化状態を把握することは重要である。一方で、動物や植物の生体からはバイオフィオンとも呼ばれる極微弱な光が自発的に発生していることが以前より知られている。その発生機序は明確になっていないものの、酸化反応に伴い発光していることがわかっており、試薬などを必要とせずに観測される生体现象として研究されてきた。 以上の背景のもと、第 2 章ではバイオフィオン計測を用いた皮膚の酸化ストレス評価法の有用性を検証し、第 3 章では顔面全体の皮膚の発光計測によって酸化ストレス状態を評価するとともに皮膚性状との関連を確認した。さらに第 4 章では皮膚におけるバイオフィオン発生メカニズム解明を目的に研究を行った。 第 2 章ではまず超高感度冷却 CCD カメラを用いたイメージング法を用いて、紫外線によって誘発される皮膚由来の発光を調べた。皮膚表面からの発光強度は紫外線照射量依存的に増加し、皮膚表面からの発光は表皮からだけでなく真皮にも由来することが考えられた。また紫外線によって誘発される発光は各種抗酸化剤で抑制されることがわかり、確かに発光が酸化と関連していることが確認された。さらにこの実験で用いたイメージング法は酸化ストレスを視覚化することができ、皮膚がんや光老化防止のために使用されるサンスクリーンの紫外線カット効果を目視で示すことができた。これらの実験結果より、皮膚表面だけでなく皮膚組織全体の酸化ストレスを評価する上でバイオフィオン測定が有用であることが示された。	

次に第 3 章でヒトの顔全体における発光と皮膚性状との関連について、イメージング法を用いて評価した。その結果、顔面皮膚の発光強度は不均一であり、顔の部位によって酸化ストレス状態が異なることが示された。特に皮膚がんの発生率が高いことが報告される鼻では慢性的に酸化ストレス状態が高いことが示唆された。また目周囲の皮膚での発光強度は加齢に伴い増加するだけでなく、シワスコアとも正相関を示し、慢性的に紫外線に曝露されている顔面の皮膚性状を反映していると考えられる。顔全体を対象とした検証は従来の侵襲的な方法ではできなかったが、バイオフィトン計測を応用することで顔面の酸化ストレスを評価することに成功し、さらに皮膚性状との関連を示す重要な知見を得ることができた。

最後に第 4 章では皮膚における発光の機序を詳細に調べるため、紫外線によって誘発される発光の同時多波長分光分析を行った。解析の結果、皮膚組織全体から発生している発光は 550 nm 付近をピークとするブロードなスペクトルパターンを示した。またこの発光スペクトルに寄与すると考えられる皮膚中の生体分子単体に同様に紫外線を照射し、発生するスペクトルパターンを評価した。各種生体分子は異なる波長にピークをもつスペクトルを示し、特にリン脂質は皮膚組織からの発光と似たスペクトルパターンを示し、皮膚からの発光の発生源として比較的大きく寄与をしていることが示唆された。リン脂質は細胞膜の主成分であるため、紫外線による発光は細胞の酸化状態も反映していると推測される。一方で血液からは紫外線誘発の発光は計測されなかったことから血液からの発光は血中ヘモグロビンなどによって吸収されていると考えられる。同時に皮膚には光増感剤として働く物質も存在し、発光には光増感反応による発光を含む複雑な発光メカニズムがあることが提案された。発光メカニズムの理解はバイオフィトンが示す酸化状態の解釈にもつながる。

以上の研究を通して、バイオフィトンを用いた酸化ストレス評価法は急性かつ慢性的な皮膚の酸化ストレス状態を把握する上で有用であることが確認された。また、本評価法で得られる情報は皮膚表面だけでなく皮膚の深い部位の情報も含んでいるため、外因的または内因的な皮膚や周辺器官の疾患を診断するツールとしての利用が期待される。また小動物臨床における腫瘍診断や放射線治療後の経過観察にも応用できると考えられる。本研究から皮膚におけるバイオフィトンの発光メカニズムの一端を解明するとともに、皮膚の発光現象と皮膚性状との関連性を実証するに至った。バイオフィトン計測を用いた本評価方法は非接触かつノンラベルで評価でき、生体に負担をかけることがないため、ヒトや動物の皮膚の非侵襲的診断法として活用できるものであると考える。

以上により本論文は、博士(獣医学)の学位論文として十分な基準に達していると判断された。