HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	光線力学療法の歯科への応用
Author(s)	長谷部, 晃; 柴田, 健一郎
Citation	北海道歯学雑誌, 32(2), 230-232
Issue Date	2012-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/48716
Type	journal article
File Information	13-hasebe_shigaku.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

北海道歯誌　32：230-232，2012.

最新の歯学

光線力学療法の歯科への応用
Application of antimicrobial photodynamic therapy to dentistry

北海道大学大学院歯学研究科　口腔分子微生物学教室
長谷部　晃，柴田健一郎

1．は　じ　め　に

これまで歯科治療を含む外科的な処置では，切削・研磨などにおいて機械的な器具が用いられてきた．また，予防的な目的を含む感染症の治療には抗菌薬の投与などの化学療法が行われてきた．近年，これらの処置において，主にレーザー光を利用した光線力学療法を利用することが注目されてきている．

本稿では，光線力学療法の歯科への応用について，ならびに我々の研究成果である光線力学療法による培養細胞からの口腔マイコプラズマの除去について概説する．

2．光線力学療法とは

光線力学療法（photodynamic therapy; PDT）とは，光感受性物質への光の照射により生じる光化学反応を利用して細胞を傷害する治療法である．光化学反応による細胞障害性自体については20世紀初頭から知られていたが[1]，その傷害メカニズムは現在も完全には解明されていない[2]．基本的には，光照射により光感受性物質が励起されて，結果として生じる活性酸素が細胞障害性を発揮するというメカニズムによると考えられている[1]．したがって，標的となる腫瘍細胞などに高い親和性を示し，かつそれ自体は生体への安全性の高い光感受性物質，ならびに組織障害性のない光を用いることで，生体に対してきわめて低侵襲性に腫瘍細胞を傷害することが可能となる．

本療法にはこのような特徴があるため，皮膚がんなどの限局性の表層性腫瘍の治療，皮膚の前がん病変のひとつである日光性角化症などの治療に利用されてきた[3]．また，早期の頭頸部腫瘍ならびに肺がん，その他の腫瘍に対しても，他の治療法との併用などで利用されており[3]，腫瘍以外においても失明の原因となる網膜の加齢性黄斑変性の治療にも用いられている．歯科においても舌がんの治療に利用されており[4]，歯周治療への応用もされ始めている[5,6]．

3．歯科への応用

歯周治療においては，歯周組織の殺菌を目的としたantimicrobial PDT（aPDT）が利用されている．aPDTとは，光化学反応で細菌を傷害することによる殺菌方法であり，使用する光感受性物質，光発生装置ならびにその使用条件により生体の組織は傷害せずに殺菌をすることが可能である[7,8]．また，aPDTでは，光化学反応により発生する活性酸素の作用で殺菌をするため，抗菌薬を使用する場合と異なり種々の薬剤耐性菌にも有効であり，かつ薬剤耐性菌の出現を誘導しないことも利点である．実際，メチシリン耐性黄色ブドウ球菌，バンコマイシン耐性腸球菌や緑膿菌などにも有効であることが報告されている[9]．一方，欠点としては，光エネルギーの及ばないところには無効であることである．したがって，歯周治療においては，まず歯周ポケット内のスケーリングを行ってからゲル状の光感受性物質をポケット内に注入し，ポケット内に光照射をすることが可能な照射器を用いてポケット内の殺菌を行うのが一般的である．このような術式で効果があげられていることが報告されているが[10]，そこから理解できるようにaPDTはそれ単独で効果をあげるというよりは，むしろ他の方法との併用でより有効となるものである．

口腔細菌に対するaPDTの有効性に関しては，これまで*in vitro*の研究において，種々の歯周病関連細菌，*Streptococcus mutans*など口腔バイオフィルム形成細菌ならびに*Candida albicans*に有効であることが報告されており[5]，現在は上述のようにチェアサイドでLEDあるいは半導体レーザーなどの光源を利用することも検討されている[10,11]．

4．培養細胞からのマイコプラズマの除去

生命科学における培養細胞の重要性は高まってきており，基礎研究においてのみならず，様々なレベルでの培養細胞の実践的利用が進んでいる．種々の培養細胞がワクチン製造に利用されていることはもちろん[12]，最近では再生医療の領域でも重要な役割を果たしている．口腔領域においても，例えば，歯根膜細胞由来細胞をヒトから分離培養し，その細胞を歯周組織の再生に利用できるということ[13]，あるいは歯肉からiPS細胞を効率良く作製できるため，それを顎骨の再生医療に役立てることが検討されていること[14]，などが報告されている．

培養細胞の利用において微生物による汚染は大きな問題となる．汚染には培地への抗真菌薬ならびに細胞壁合成阻害剤などの抗菌薬の添加などで対処するが，マイコプラズマはこれらの方法では除去できない．マイコプラズマは細胞壁を欠くので，細胞壁合成阻害剤が無効だからである．ま

た，マイコプラズマは自己増殖可能な最小の微生物であり，培養細胞を汚染しても培地の混濁がないため，目視により確認することはできない．さらに，マイコプラズマはヒトに常在するものもあることから，しばしば培養細胞はマイコプラズマに汚染される．マイコプラズマ汚染の除去ならびに感染の治療では，マクロライドなどの抗菌薬が使用されてきたが，マクロライド耐性株についての報告も増えており，我々はマイコプラズマ汚染細胞からのマイコプラズマ除去にaPDTを応用できないかと考えた．そこで，ヒト口腔に常在し，種々の細胞を汚染している*Mycoplasma salivarium*（Ms）と，ヒト胎児腎由来細胞であるHEK293，光感受性物質としてメチレンブルー（MB），光照射器として歯科用の光重合レジン硬化用LED照射器の改造品（赤色LED照射）を使用し，Ms汚染HEK293からのaPDTによるMs除去を試みたところ，以下のような成果を得た（抜粋）．

・液体培地で培養したMsの密度が0.25～1.7×10^7 colony-forming unit（CFU）/mlの範囲では，MB存在下で60秒以上光照射すればMsをほぼ殺滅できる（図１）．

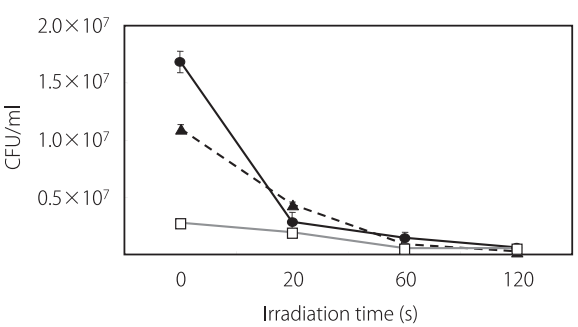

図１． MB存在下におけるLED照射がMsの生存に及ぼす影響．液体培地にMBを加えLED照射を行ったもの．照射時間依存的に生存Ms数が減少している．Ms密度1.7×10^7 CFU/ml（●），1.1×10^7 CFU/ml（▲），0.2×10^7 CFU/ml（□）．

・MB 100 ng/ml以下，LED照射60秒以下であればHEK293細胞の生存に影響が少ない．

・HEK293汚染細胞を浮遊状態にすることによりMsの除去が可能である（図２）．

その他にも種々の知見が得られたが，基本的にこれらのことから我々の方法でaPDTによりHEK293に混入したMsの除去が可能であることがわかった．しかしながらヒト正常歯肉線維芽細胞Gin-1などのように，HEK293の場合に比べはるかに容易にaPDTで傷害される細胞もあることから，今後は，より実用性の高い普遍的方法を構築できるように研究を進めなければならない．

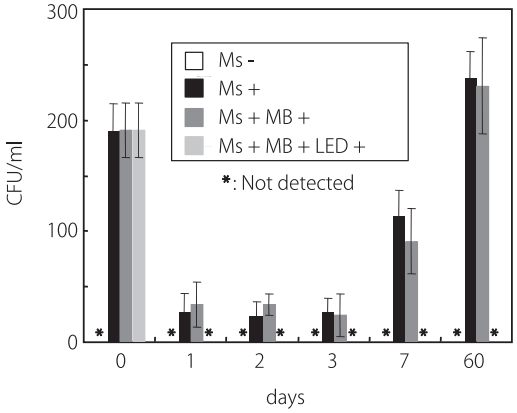

図２． aPDTによるHEK293からのMs除去成績．HEK293細胞の培養上清におけるMsの検出（培養法）．Ms非汚染細胞（Ms−），Ms汚染細胞（Ms+），Ms汚染細胞にMBのみ加えたもの（Ms＋ MB＋）Ms汚染細胞にMBを加えLED照射したもの（Ms＋ MB＋ LED＋）．

５．お　わ　り　に

口腔領域は体内の諸器官などに比べ光を直接照射することが容易であるだけでなく，歯科においては日常的に光硬化型レジンの重合用照射器を使用することなどから，これらの装置によるPDT，aPDTが可能になれば本療法は口腔領域の様々な治療において非常に有効な手段となるものと思われる．さらに，我々が示したように培養細胞の除菌に利用可能であり，また種々の医療用の器具などの除菌にも応用可能であることから，今後はますます重要な方法となることが予想される．

参　考　文　献

１．Dolmans DE, Fukumura D, Jain RK: Photodynamic therapy for cancer. Nat Rev Cancer 3 : 380-387, 2003.
２．Jori G, Fabris C, Soncin M, Ferro S, Coppellotti O, Dei D, Fantetti L, Chiti G, Roncucci G: Photodynamic therapy in the treatment of microbial infections: basic principles and perspective applications. Lasers Surg Med 38 : 468-481, 2006.
３．Agostinis P, Berg K, Cengel KA, Foster TH, Girotti AW, Gollnick SO, Hahn SM, Hamblin MR, Juzeniene A, Kessel D, Korbelik M, Moan J, Mroz P, Nowis D, Piette J, Wilson BC, Golab J: Photodynamic therapy of cancer: an update. CA Cancer J Clin 61 : 250-281,
４．Jerjes W, Upile T, Hamdoon Z, Abbas S, Akram S, Mosse CA, Morley S, Hopper C: Photodynamic therapy: The minimally invasive surgical intervention for advanced and/or recurrent tongue base carcinoma. Lasers Surg Med 43 : 283-292, 2011.
５．Konopka K, Goslinski T: Photodynamic therapy in

dentistry. J Dent Res 86 : 694-707, 2007.
6. Meisel P, Kocher T: Photodynamic therapy for periodontal diseases: state of the art. J Photochem Photobiol B 79 : 159-170, 2005.
7. Komerik N, Curnow A, MacRobert AJ, Hopper C, Speight PM, Wilson M: Fluorescence biodistribution and photosensitising activity of toluidine blue o on rat buccal mucosa. Lasers Med Sci 17 : 86-92, 2002.
8. Luan XL, Qin YL, Bi LJ, Hu CY, Zhang ZG, Lin J, Zhou CN: Histological evaluation of the safety of toluidine blue-mediated photosensitization to periodontal tissues in mice. Lasers Med Sci 24 : 162-166, 2009.
9. Wainwright M, Crossley KB: Photosensitising agents-circumventing resistance and breaking down biofilms: a review. International Biodeterioration & Biodegradation 53 : 119-126, 2004.
10. 青木章，Chui C，竹内康雄，江黒徹，吉野敏明，田中真喜，和泉雄一：歯科の最新テクノロジー　光を用いた新しい抗菌治療法の歯周治療への応用　a-PDTによる光化学殺菌．DENTAL DIAMOND 36 : 64-69，2011.
11. 吉野敏明, 田中真喜, 青木章, 和泉雄一：“光”を用いた殺菌治療：抗菌光線力学療法　歯周治療におけるフォトダイナミックセラピーの基礎と臨床. The Quintessence 30 : 1806-1815, 2011.
12. Feng SZ, Jiao PR, Qi WB, Fan HY, Liao M: Development and strategies of cell-culture technology for influenza vaccine. Appl Microbiol Biotechnol 89 : 893-902, 2011.
13. Washio K, Iwata T, Mizutani M, Ando T, Yamato M, Okano T, Ishikawa I: Assessment of cell sheets derived from human periodontal ligament cells: a pre-clinical study. Cell Tissue Res 341 : 397-404, 2010.
14. Egusa H, Okita K, Kayashima H, Yu G, Fukuyasu S, Saeki M, Matsumoto T, Yamanaka S, Yatani H: Gingival fibroblasts as a promising source of induced pluripotent stem cells. PLoS One 5 : e12743, 2010.