

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 17 日現在

機関番号：32710

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25463102

研究課題名(和文)405nm青紫色レーザー光による新規口腔カンジダ症治療法の開発

研究課題名(英文)Possible application of 405-nm blue light irradiation for the treatment and the prevention of oral candidiasis

研究代表者

山近 重生 (YAMACHIKA, Shigeo)

鶴見大学・歯学部・講師

研究者番号：60182565

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：口腔カンジダ症はカンジダ属真菌による口腔粘膜の感染症であり、その病態は、さまざまである。その原因は宿主の免疫能の低下など日和見感染として発症する側面と、菌交代現象を背景として発症するなどきわめて複雑である。そこで本研究では、より効果的で簡便な新しい口腔カンジダ症予防法、治療法の開発の可能性につき検討した。口腔内より分離されるカンジダ属真菌4種に対し、405nm青紫色レーザー光は、増殖抑制効果を有していた。このことは、405nm青紫色レーザー光を利用した口腔内カンジダ属真菌の制御が可能であることを示しており、口腔カンジダ症に対する新たな低侵襲予防法、治療法確立の可能性を示唆するものと考えられた。

研究成果の概要(英文)：Although oral candidiasis, an opportunistic infection caused by *Candida* species, has been conventionally treated by topical and/or systemic administration of antifungal agents, this medication therapy is prone to raise the drug resistance of *Candida* species as well as multiple side effects. Therefore, it is important to establish a minimally invasive therapeutic strategy and prophylactic approach for oral candidiasis. Here, we focused on photodynamic therapy with 405-nm blue light, and examined the effect of 405-nm blue light irradiation on the growth of *Candida albicans* (*C. albicans*).

Results: Irradiations at 200 mW of the output for 10 and 20 minutes showed about 55 % and 90 % significant growth inhibition, respectively. *C. albicans* growth was suppressed by 405-nm blue light irradiation, suggesting that 405-nm blue light irradiation is a promising means for treatment and prevention of oral candidiasis.

研究分野：口腔外科

キーワード：口腔カンジダ症 光線力学療法 405nmレーザー光

1. 研究開始当初の背景

(1) 歯周病などの口腔感染症による口腔環境の悪化が、虚血性心疾患、糖尿病、骨粗鬆症など、さまざまな全身疾患の進行や予後に密接に関連しているという研究結果が数多く報告されてきており、口腔の健康が全身の健康の維持、増進という観点からも大きく注目されている。

また、未曾有の超高齢社会を迎えた我が国においては、今後、様々な全身疾患を有していたり、ADL が低下した国民が増加したりすると考えられることから、口腔感染症に対しても、より効果的な予防法や、より低侵襲な治療法の確立が望まれている。

(2) 口腔感染症の1つに難治性の誤嚥性肺炎の原因となる口腔カンジダ症がある。口腔カンジダ症はカンジダ属真菌による口腔粘膜の感染症であり、その病態は、偽膜性カンジダ症、紅斑性カンジダ症、肥厚性カンジダ症などさまざまであるが、その原因は宿主の免疫能の低下やステロイド薬投与による日和見感染として発症する側面と、長期の抗菌薬の投与により菌交代現象を背景として発症するなどきわめて複雑である。治療は抗真菌薬の投与が一般的となっているが、副作用が強く、肝・腎臓機能が低下した患者には投与しにくいこと、耐性株の出現を助長し、より難治性の口腔カンジダ症の発症を助長すること、また長期の投与による医療経済の圧迫など、さまざまな問題点がある。そこで光線力学療法に着目した。光線力学療法 (Photodynamic Therapy : PDT) は癌の治療において導入され、腫瘍親和性光感受性薬剤と高エネルギー可視光を併用することにより光化学反応を惹起させ、癌細胞を変性、壊死させる治療法である。近年では、この PDT はさまざまな微生物に対しても応用されている。

2. 研究の目的

過去の研究で、405-nm の青紫色レーザー光が *P. gingivalis* の増殖を阻害するための最も効果的な波長であることが確認された。本研究ではこの波長のレーザー光照射装置を開発し、口腔内より分離されるカンジダ属真菌に対するレーザー光の効果を検証し、副作用が少なく、高齢者や有病者に対しても効果的で簡便な新しい口腔カンジダ症予防法・治療法の開発の可能性につき検討した。

3. 研究の方法

(1) 405-nm のレーザー発光装置の開発

405-nm レーザー照射装置は laser diode を用いて製作した。(長田電機株式会社、東京、日本) 出力は 0.05 W から 0.2 W の間で調整可能とし、レーザー照射装置先端はテーパ状でアクリル樹脂製であり、最先端の直径は 50 μm とした。

(2) 対象菌種

Candida albicans(ATCC18804),
Candida glabrata(ATCC90030),
Candida parapsirosis(ATCC90018),
Candida tropicalis(ATCC750) の4菌種を対象とした。

(3) 405-nm レーザー光の照射

各対象菌種を液体培地にて培養後、マイクロピペットで 10 μl 採取し、照射装置の先端をマイクロチップ内の菌液中に挿入し、出力・照射時間のさまざまな条件にてレーザー光を照射した。

(4) 増殖抑制効果の評価

レーザー光照射後、全菌液を回収してサブロー寒天培地にそれぞれ播種し、37 $^{\circ}\text{C}$ で 48 時間培養後、CFU(colony forming units) を計測することによって評価した。

4. 研究成果

(1) 405-nm のレーザー発光装置の開発
Laser diode を用いた 405nm レーザー光照射装置を製作した。出力は 0.05 W から 0.2 W の間で調整可能とし、レーザー照射装置先端はテーパ状でアクリル樹脂製であり、最先端の直径は 50 μm とした。(図1、2、3参照)



図1 レーザー照射装置

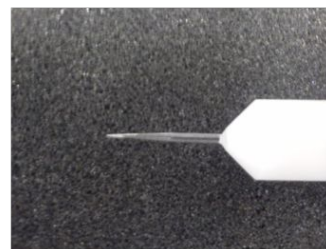


図2 レーザー照射装置先端

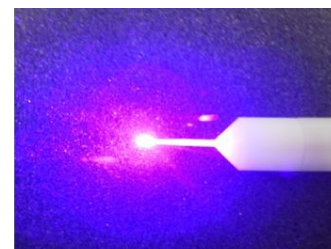


図3 レーザー照射中

(2) カンジダ属真菌に対する 405-nm レーザ
ー光の効果

口腔内より分離されるカンジダ属真菌 4 種 (*C. albican*, *C. glabrata*, *C. parapsirosis*, *C. tropicalis*) に対し、405-nm 青紫色レーザー光は、増殖抑制効果を有していた。(図 4、5、6、7 参照)

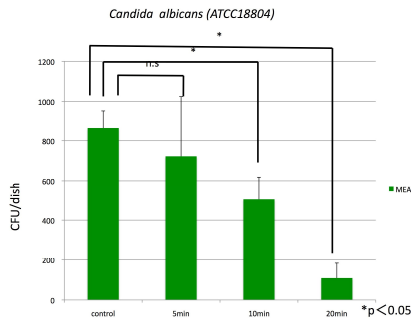


図 4 *C. albican* に対するレーザー光の
効果

照射 5 分では増殖抑制は認められなかったが、10 分で約 45%、20 分で約 90%の増殖抑制が認められた。

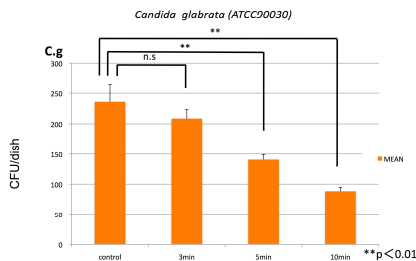


図 5 *C. glabrata* に対するレーザー光
の効果

照射 3 分では効果が認められなかったが、照射 5 分では約 40%、照射 10 分で約 60%の効果が認められた。

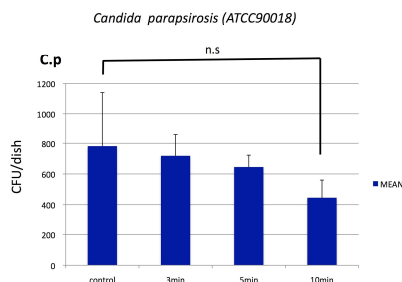


図 6 *C. parapsirosis* に対するレーザ
ー光の効果

増殖抑制傾向は認められたものの、非照射のコントロールと比較して、有意な抑制効果を示さず、照射時間を延長しても統計学的に有意な結果は得られなかった。

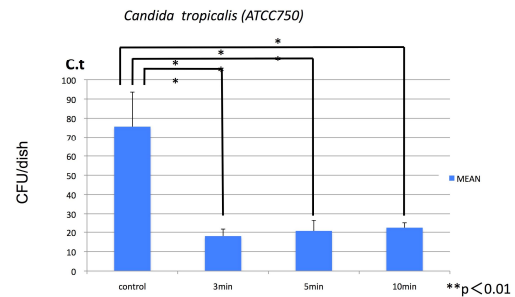


図 7 *C. tropicalis* に対するレーザ
ー光の効果

照射 3 分で著しい約 70%の効果が認められたが、照射時間を延長しても抑制効果の増強は認められなかった。

口腔内より分離されるカンジダ属真菌 4 種に対し、405-nm 青紫色レーザー光は、増殖抑制効果を有していた。このことは、405nm 青紫色レーザー光を利用した口腔内カンジダ属真菌の制御が可能であることを示しており、口腔カンジダ症に対する新たな低侵襲予防法・治療法確立の可能性を示唆するものと考えられた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Takahiro Imamura, Seiko Tatehara, Yusuke Takebe, Reiko Tokuyama, Tomoko Ohshima, Nobuko Maeda, Kazuhito Satomura, Antibacterial and antifungal effect of 405-nm monochromatic laser on endodontopathogenic microorganisms, International Journal of Photoenergy, 査読有、vol 2014, Article ID 387215, 7 pages 2014 <http://dx.doi.org/10.1155/2014/387215>

Okamoto M, Kamo M, Yamachika S, Tsurumoto A, Imamura T, Yamamoto K, Kadomatsu S, Saito I, Maeda N, Nakagawa Y. Efficacy of Fungiflora Y staining for the diagnosis of oral erythematous candidiasis Gerodontology、査読有、30(3): 20-5, 2013

〔学会発表〕(計 4 件)

Takahiro Imamura, Seiko Tatehara, Yusuke Takebe, Reiko Tokuyama, Kazuhito Satomura, Possible application of 405-nm blue light irradiation for the treatment and prevention of oral candidiasis, International conference on oral and maxillofacial surgery (2013.10.21-24, BARCELONA SPAIN)

岡本 真理子、山近 重生、今村 武浩、齋藤 一郎、中川 洋一、*Candida*

albicans の舌乳頭萎縮に及ぼす影響 第 58 回日本口腔外科学会学術大会 (2013.10.11-13、福岡市、福岡国際会議場)

今村 武浩、館原 誠晃、手塚 充樹、竹部 祐生亮、徳山 麗子、大島 朋子、前田 伸子、里村 一人、405nm 青紫色レーザー光を用いた口腔カンジダ症制御の可能性、第 23 回日本口腔内科学会・第 26 回日本口腔診断学会合同学術大会 (2013.9.13-14、千代田区、学術総合センター—橋記念講堂)

今村 武浩、館原 誠晃、手塚 充樹、竹部 祐生亮、徳山 麗子、大島 朋子、前田 伸子、里村 一人、405nm 青紫色レーザー光の口腔感染制御への応用、第 67 回日本口腔科学会総会 (2013.5.22-24、宇都宮市、栃木県総合文化センター)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山近 重生 (YAMACHIKA, Shigeo)

鶴見大学・歯学部・講師

研究者番号：60182565

(2) 研究分担者

里村 一人 (SATOMURA, Kazuhito)

鶴見大学・歯学部・教授

研究者番号：80243715

館原 誠晃 (TATEHARA, Seiko)

鶴見大学・歯学部・講師

研究者番号：90380089

徳山 麗子 (TOKUYAMA, Reiko)

鶴見大学・歯学部・助教

研究者番号：20380090

井出 信次 (IDE, Shinji)

鶴見大学・歯学部・助教

研究者番号：00611998