

主論文の要旨

Short-range ultraviolet irradiation with LED device effectively increases serum levels of 25(OH)D

〔 LED ライトによるショートレンジ紫外線照射は
vitamin D の供給に有効である 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
運動・形態外科学講座 整形外科学分野

(指導：西田 佳弘 准教授)

森田 大悟

【緒言】

骨粗鬆症とそれに続発する骨折は、健康寿命を短縮し介護状態に直結する最大の要因である。本邦における骨粗鬆症患者数は現在 1500 万人を超えるとされ、骨粗鬆症を低コスト・低侵襲で効率的に治療することができれば、寝たきり状態の予防による健康寿命の延伸、手術を要する患者数の減少による医療コストの低減化が可能となる。ビタミン D は骨代謝の中心的役割を果たす分子であり、体内ビタミン D の 90% は日光紫外線暴露により皮膚内の 7-dehydrocholesterol (DHC) が previtamin D3 に変換することで産生される。しかしながら骨粗鬆症を有する高齢女性の大半は、外出の機会が減少しているためかビタミン D が不足していることが知られている。骨粗鬆症に対する日常生活指導として、日本骨粗鬆症学会による 2015 年度版骨粗鬆症の予防と治療のガイドラインでは、ビタミン D の摂取、骨折予防の運動が推奨されているが、日常生活の中でビタミン D を一定量以上摂取することを担保することは難しく、運動やビタミン D 産生を目的とした日光浴は患者によっては転倒のリスクや介助者の負担など、実施困難な場合も多い。

これまで国内、国外を含めて骨粗鬆症を治療する目的の医療機器は開発されていない。特に日常的に運動や日光浴を実施できない運動能力が低下している高齢者に対して、ビタミン D を効率的に産生させる技術、機器を開発できれば、これまでにないコンセプトの骨粗鬆症治療法となると予想される。過去の紫外線照射によるビタミン D 供給効果を検討した報告ではブロードバンドの波長発生しかできない白熱灯を用いているため、ビタミン D 供給に最も有効であるショートレンジの波長は未だ示されていない。

我々は、名古屋大学の赤崎・天野両氏が発明した青色 Light Emitting Diode (LED) 技術を発展させ、ショートレンジの波長かつ照度コントロール調整が可能な深紫外線 (UV) 発生装置を開発した。本研究の目的はこの UV-LED を用いてビタミン D 供給に最も有効である波長を調べ、骨形態に対する影響を調べることである。

【対象及び方法】

研究プロトコルを図 1 に示す。ビタミン D を欠乏させた C57BL/6 雌マウスを使用し、異なる 5 つの UV 波長の照射群 (268、282、290、305、316 nm) と sham 群のそれぞれ 7 匹ずつを対象にした。各照射群は 8 から 12 週齢まで週 2 回の頻度で $2 \times 4 \text{ cm}^2$ の背部剃毛部に 10 cm 上方から照射部位 1 kJ/m^2 の照射を行い、sham 群には同時間白色蛍光灯の照射を行った。照射開始時から経時的に貯蔵型ビタミン D である血清 25(OH)D と活性型ビタミン D である 1,25(OH)₂D を測定した。照射終了時に肝臓、腎臓を摘出し、肝臓における活性化酵素の 25(OH)ase、腎臓における活性化酵素の 1 α (OH)ase と不活性化酵素の 24(OH)ase の遺伝子発現量を RT-PCR 法により測定した。また照射終了時点で摘出した大腿骨の遠位骨幹端部に対し micro-CT を施行し、骨形態として海綿骨量 (%)、海綿骨梁厚み (μm)、皮質骨厚み (μm)、さらに海綿骨骨密度 (g/cm^3) を計測した。統計学的手法には Mann-Whitney U 検定を用い、

p<0.05 を有意差ありとした。

【結果】

照射 1 週、4 週時点それぞれで、各照射群の 25(OH)D は sham 群に対し有意に高値であった (p<0.001) (図 2)。1,25(OH)₂D は照射 1 週時点では明らかな差は認めなかったが、4 週時点では 268、282、305 nm の波長において有意に高値であった (p<0.05) (図 3)。肝臓における活性化酵素である 25(OH)ase 遺伝子発現量は 316nm を除く照射群で有意に高値であった (p<0.05)。一方で腎臓における活性化酵素である 1α(OH)ase は 316 nm を除く照射群で有意に低値であり (p<0.05)、不活性化酵素である 24(OH)ase は 282 nm を除く照射群で高値であった (p<0.05) (図 4)。UV 照射による骨形態、骨密度の改善効果は認めず、むしろ皮質骨の厚みについては 316 nm 波長を除く照射群で低い結果であった (p<0.05) (図 5)。

【考察】

ビタミン D 供給に有効な紫外線波長の指標として CIE (Comite International de l'Eclairage) が提言する action spectrum が広く知られている。それによるとビタミン D 供給に最も有効な波長は 298 nm であり、本研究で用いた UVA 領域の波長である 316 nm ではその僅か 3-4 % しか供給効果がないとされている。しかしながら本研究の LED ライトによるショートレンジの UV 照射の結果からは、316 nm の波長であっても十分にビタミン D 供給効果があることが確認された。この結果の違いの理由として、CIE の action spectrum は皮膚検体を用いた 7-DHC から previtamin D3 の一方向の反応を評価した研究結果に基づき作成されたものであるのに対して、本研究では previtamin D3 の下流物質である 25(OH)D と 1,25(OH)₂D を生存したマウスの血清検体で評価したことが考えられる。実際の生体内においては 7-DHC から previtamin D3 の順行性の反応の他に、紫外線暴露によりその逆行性反応や不活性物質である lumisterol や tachysterol、toxisterols への変換反応も生じている。さらにこれらの反応に対する紫外線の影響度は波長によってそれぞれ異なるため、生体内における紫外線暴露による最終的なビタミン D 産生量は 7-DHC から previtamin D3 の一方向の反応のみでは単純に評価することはできない。本研究ではビタミン D 貯蔵量である 25(OH)D と活性型である 1,25(OH)₂D を評価しているため、より臨床現場にとって有用な結果であると考えられる。さらに本研究の RT-PCR の結果より、紫外線照射により多量のビタミン D が供給されると腎臓によりその濃度を調整するホメオスターシスが働くことが示唆された。内服薬としての活性型ビタミン D 製剤には濃度過剰やそれによる高 Ca 血症の危険性が存在する一方で、本研究で示した紫外線照射療法ではそれらの危険性が低減することが可能であると考えられる。

明らかなビタミン D 供給効果が確認できた一方で、本研究では骨形態、骨密度の改善効果を確認することはできなかった。過去の報告では骨代謝が高回転状態である幼若ラットにおいては高濃度のビタミン D 投与は皮質骨の厚みを減少させることが示

されており、これは本研究で用いたマウスが若年マウスであることを考慮すると両者の研究結果は一致している。一方で骨代謝が低回転状態である老年性骨粗鬆症モデルマウスを用いた研究では、短期間の活性型ビタミン D 製剤の投与による明らかな骨密度改善効果が示されている。従って骨代謝状態の違いによりビタミン D の骨に対する効果は異なることが予想される。また低 Ca 血症下ではビタミン D により Ca 濃度を維持するために骨吸収反応が骨形成反応よりも優位となることも報告されている。本研究の照射期間が 4 週間と短期であったことを考慮すると、Ca 濃度が安定化せず骨吸収反応の影響をより強く受けたことも予想された。今後は異なる骨代謝状態のモデルマウスを用いたより長期間の紫外線照射の検討が必要である。

【結論】

LED ライトによる紫外線照射は、本研究で用いた UVA 領域を含むすべての波長においてビタミン D 供給に有効である。さらに紫外線照射により産生された活性型ビタミン D 濃度は生体内のホメオスタシスにより調整されるため、内服薬と比較して安全な治療法になり得ると考える。また本研究で用いた UV-LED ライトは小型で長時間耐久性にも優れているため、医療経済的にも有用な治療法になる可能性がある。