



新生児高ビリルビン血症に対する黄色フィルターを用いた光線療法の効果

本郷, 彰裕

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1993-01-13

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙1691

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2001691>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・（本籍）	ほん　　ごう　　あき　　ひろ 本　郷　彰　裕	（兵庫県）
博士の専攻分野の名称	博　士（医学）	
学位記番号	博ろ第1332号	
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当	
学位授与の日付	平成5年1月13日	
学位論文題目	新生児高ビリルビン血症に対する黄色フィルターを用いた 光線療法の効果	
審　査　委　員	主査　教授　中　村　　肇	
	教授　望　月　眞　人	教授　伊　東　　宏

論　文　内　容　の　要　旨

緒言

新生児高ビリルビン血症に対する光線療法に広く用いられている blue-white light, day-light は、450nm 付近に peak を有する可視光であるが、生体に対する安全性はいまだ確立されておらず、近年、様々な副作用が報告されている。一方、green-light は潜在的な副作用が少なく、わが国においても大西らによって臨床的に green-light がビリルビン降下作用を持つことが明らかにされている。しかし、この green-loght による光線療法は、日常の診療において医療従事者に頭痛、視覚障害等をきたし、その使用に関して問題点を残している。そこで、著者らは 440nm 以下の波長を 99.8% cut する黄色フィルターを試作し、このフィルターを用いて青白色光の光照射による in vitro, in vivo でのビリルビン低下効果および in vitro での細胞致死効果を検討し、本フィルターの臨床応用の可能性を追求した。

研究対象および方法

①黄色フィルターおよび光源ランプの特性

厚さ 5 mm の黄色プラスチック板を黄色フィルターとして用い、その光透過率を測定したところ 510nm 以上では 100% の透過率を示し、それより短波長側では急激に透過率は低下し、440nm ではほぼ 0 % を示した。光源ランプとしては光線療法用 blue-white light を用い、その発光スペクトルでは、黄色フィルターを用いることにより 400～440nm に見られた peak が消失していた。

② in vitro におけるビリルビン低下効果の検討

光源は blue-white light 20W 2本を用い lamp-液面間距離を 20cm とした。5×5 cm 円形ディッシュ中にビリルビン-アルブミン混合液を注入し、光照射し、フィルター使用群、非使用群について総ビリルビン値を測定した。

③黄色フィルター使用時の in vivo における皮膚ビリルビン低下効果の検討

昭和 63 年 11 月～平成 1 年 5 月までに神戸大学母子センターおよび姫路赤十字病院新生児センターに入院した児のうち、中村の基準に従い光線療法の適応となった 40 名である。光源は光線療法用 blue-white light 20 W 6 本を用い、児は保育器内に収容。すべて仰臥位とし、前胸壁に 1.5×1.5 cm 大の黄色フィルターおよび不透光性のシールドをそれぞれ固定し、光線療法を開始した。児の皮膚面における光エネルギー量として、光源下 50cm の高さにおける光エネルギー量を、フィルター使用時は 450±50nm、非使用時は 550±50nm について測定した。次に、黄色フィルター下、不透光性のシールド下、および直接光照射されている部分の皮膚ビリルビン値を経時的に測定した。

④黄色フィルター使用時の in vitro におけるコロニー形成法を用いた細胞致死効果の検討

用いた培養細胞は、マウス黒色腫 C 2 W。培養メジウムは 10% 子牛血清を添加した Eagle's minimal essential medium (MEM) である。対数増殖期細胞を単離し、 $10^6 \sim 10^7$ 個の細胞を培養メジウムを入れた重複培養ディッシュにプレートした。6 時間 incubate し、付着させた後、培養メジウムを捨て riboflavin 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を含む phosphate-buffered-saline (PBS) 中で incubate し、後述するように光照射した。光照射後 riboflavin を含む P B S を捨て、新しい培養メジウムを加え 7 日間培養した。コロニーは、50 個以上の細胞を持つものを生存コロニーとして算定し、同時に riboflavin を含まない P B S 中で incubate したものをコントロール群として設定し、得られた生存曲線から細胞毒性の解析を行った。

光源は光線療法用 blue-white light 20W 2 本を用い、lamp-P B S 液面距離は 20cm とした照射方法により、フィルターを lamp-ディッシュ間に設置し照射した群、フィルターを用いず直接照射した群の 2 群に分けた。また、フィルター使用時および非使用時の培養液面における光エネルギー量をそれぞれ、450±50nm および 550±50nm の波長域において測定した。

結果

①黄色フィルター使用時の in vitro におけるビリルビン低下効果の検討 (図 1)

光照射 120 分後において、フィルター使用群は非使用群に比して 23% 劣っていた。

②黄色フィルター使用時の in vivo における皮膚ビリルビン低下作用の検討 (図 2)

光照射開始 6 時間までは、フィルター下、直接照射下共に皮膚ビリルビン値は急激な低下を示し、その後 24 時間までゆるやかに低下した。遮光下では、光照射開始後ゆるやかに低下するのみであった。黄色フィルター下での皮膚ビリルビン低下率を直接照射下の低下率と比較すると、黄色フィルター下では光照射 6 時間後で前値の 32%、24 時間後で 41% の皮膚ビリルビン低下率であったが、直接照射下では光照射 6 時間後すでに前値に対して 47% の低下率を認め 24 時間後では 56% に達し、両群間の低下率には統計学的に有意差を認めた。また、保育器内での光エネルギー量については、550±50

nm でのエネルギー量には差がなかったが、 $450 \pm 50 \text{ nm}$ でのエネルギー量は直接照射下で $6.40 \mu \text{ W} / \text{cm}^2 / \text{nm}$ であるのに対して黄色フィルター下では $1.50 \mu \text{ W} / \text{cm}^2 / \text{nm}$ であった。

③黄色フィルター使用時の *in vitro* におけるコロニー形成法を用いた細胞致死効果の検討

riboflavin 存在下での生存曲線を図 3 - a に示した。細胞致死効果は照射時間依存性に認められ、直接照射群の細胞生存率は 60 分後には 9.4% まで低下していた。しかし、フィルターを用いた群の細胞生存率は、60 分後でも 75.3% であり細胞致死効果はこのフィルターを用いることによって明らかに軽減された。

また、riboflavin 非存在下での生存曲線を図 3 - b に示した。両群共細胞生存率の低下はほとんど認められなかった。

光エネルギー量については、 $450 \pm 50 \text{ nm}$ でのエネルギー量は、フィルターを用いることによって約 $1/5$ に減少していた。しかし、 $550 \pm 50 \text{ nm}$ でのエネルギー量には差を認めなかった。以上より、我々の考案した黄色フィルターはその波長特性より光増感物質の光増感作用を軽減し、細胞致死軽減効果を持つものと考えられた。

考案

従来の blue-white light, day-light による光線療法をより安全にかつ効率良く実施するために特殊フィルターを考案し、その臨床応用について検討した。著者らの考案したフィルターは、黄色のプラスチック製で、形状は従来より保育器内で使用している半円筒形の遮温フード状とした。実際の使用方法については、blue-white light, day-light を光源として用い、フィルターは保育器内で遮温フードと同様に設置し光線療法を行うものとした。すなわち green-light が持つ医療従事者に対する視覚障害を回避できるだけでなく、本フィルターの持つ波長特性により blue-white light, day-light の細胞致死効果を軽減し、ビリルビン低下効果は同様に認めうるものであれば臨床の場において有用なものになると考えられた。

in vitro でのビリルビン低下効果については、光がフィルターを通過する際に生じるエネルギー量の減衰に起因し、直接照射群に比して劣っていたもののフィルター使用時にも明らかにビリルビン低下効果は認められた。*in vivo* でも直接照射下に比して皮膚ビリルビン低下率は劣っていたものの遮光下と比較すると有意に低下していた。

in vitro における細胞致死効果の検討には生体内に存在する riboflavin を光増感剤として用いた。riboflavin 非存在下ではフィルター使用の有無にかかわらず非照射群とは明らかな差を認めなかった。一方、riboflavin 存在下で直接光照射すると、細胞生存率は照射直後より対数的に低下した。これは、Sanvordeker らが述べたごとく、光照射により励起された riboflavin が基底状態に戻る際、酸素を活性化し生じた一重項酸素が細胞に障害を与えたことによると考えられる。一方、フィルター使用群でも生存率は低下し、riboflavin の細胞致死効果を完全に抑制することはできなかったが、直接照射群に比して生存率は有意に高かった。これは、riboflavin の光増感作用が $400 \sim 500 \text{ nm}$ の波長域に存在することが深く関係しており、この波長域を大部分カットする本フィルターによってフリーラジカル

の産出は抑制され、細胞毒性が軽減した結果と考えられた。

まとめ

通常用いている blue-white light, day-light の光線療法で本フィルターを用いると、ビリルビンの低下を認め、かつ細胞致死効果を軽減できることが実証された。しかし、ビリルビン低下効果は blue-white light, day-light に比べ同一光源量では劣っていた。将来、本フィルターを光線療法に応用する場合、光がフィルターを通過する際に生じるエネルギー量の減衰に対して改良がなされれば十分臨床的に用いることが可能であろう。

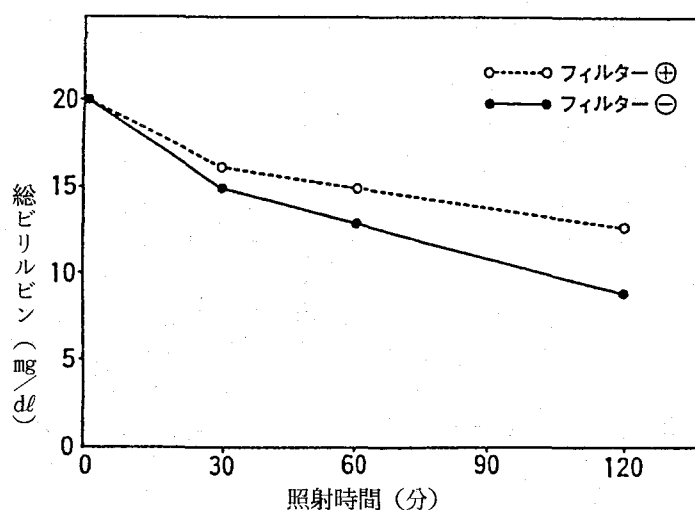


図1. in vitro における光照射による総ビリルビン値の経時的変化

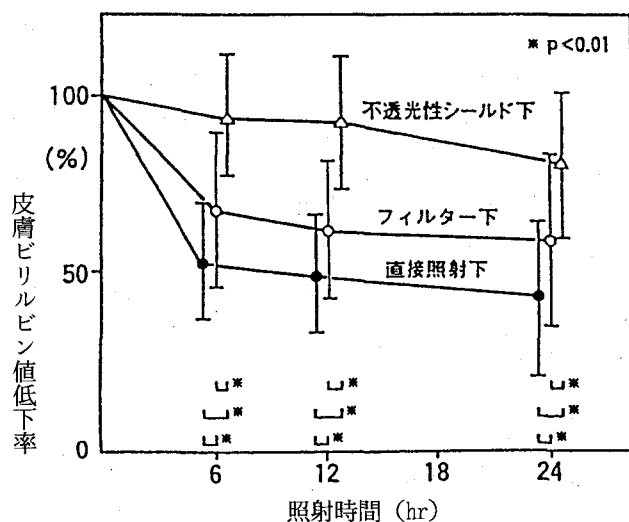
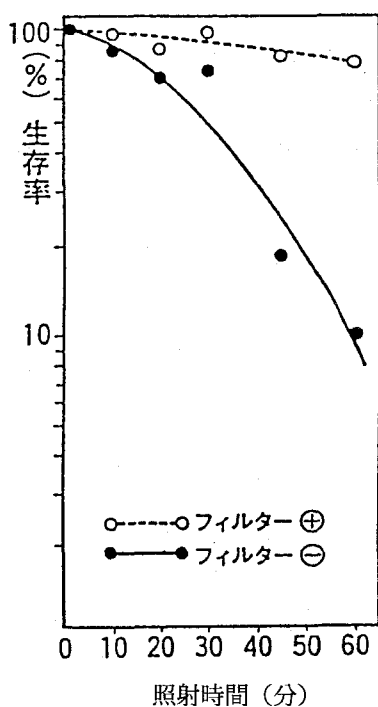
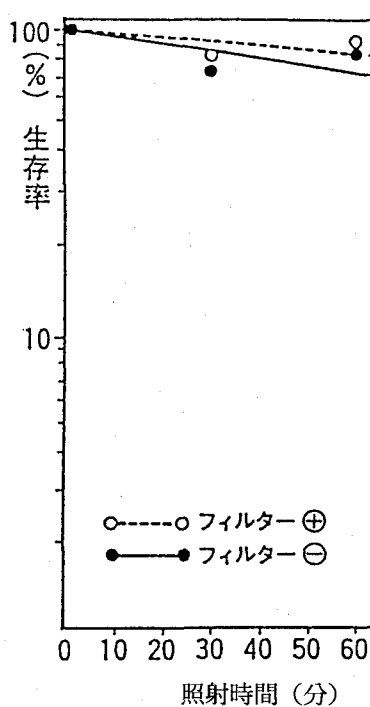


図2. 皮膚ビリルビン値の経時的変化



a. Riboflavin 5 μ g/ml 存在下



b. Riboflavin 非存在下

図3. in vitro における光照射による細胞生存率

論文審査の結果の要旨

新生児ビリルビン血症に対する光線療法は今日日常診療で広く用いられているが、現在一般に用いられている blue-white, day-light は 450nm 付近にピークを有する可視光で、この光線の生体に対する安全性は未だ確立していない。

Speck らをはじめ多くの研究者らによって、紫外線領域だけでなく、420~475nm 付近の波長も真核細胞に対して DNA 断裂をきたすことが報告され、教室の上谷も、ビリルビン、リボフラビン共存下で、blue-white lamp で DNA single strand break を引き起こすことを培養細胞で明らかにしてきた。

そこで、申請者は、440nm 以下の波長を 99.8% cut する黄色フィルターを試作し、このフィルターを用いて青白色光の光照射による in vitro, in vivo でのビリルビン低下効果および in vitro での細胞致死効果を検討し、臨床応用の可能性を追求した。

in vitro での研究において、試作フィルター下ではビリルビン減少効果は直接照射に比べ 23% 劣ったが、リボフラビン 5 μ g/ml を含む PBS 中の C2W 細胞に同一エネルギーの光照射をしたときの

コロニー形成法による生存曲線を求めた成績では、直接照射群の細胞生存率は照射 30 分後には 70.4%、60 分後には 9.4%まで低下するが、フィルター下では、夫々 95.6%、75.3%と著しく細胞致死効果が軽減することを明らかにした。一方、皮膚ビリルビン値を比較した vivo での研究では、フィルター下では直接照射下に比べ、ビリルビン低下率が有意に減少していることを明らかにした。

以上より、ビリルビン値減少効果が劣りはするが、フィルター使用による細胞致死効果軽減作用がより大きいことから、十分量の光エネルギーを用いることにより、本法が臨床的に有用であることを明らかにした。

本研究は、新生児高ビリルビン血症に対する光線療法の効果について、その光源の選択を研究したものであるが、従来ほとんど行われなかった黄色フィルター使用の有用性について重要な知見を得たものとして価値ある集積と認める。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。