

フジテレビジョン賞

皮膚機能を電気化学的に評価する低侵襲デバイスの開発

“最大の臓器”への工学的アプローチを目指す

東北大学大学院 工学研究科 ファインメカニクス専攻
博士課程3年

阿部 結奈

1. 緒言

皮膚は“最大の臓器”ともいわれ、生体を包み込む保護膜であると同時に、外環境をセンシングしながら体内機能を調節するインテリジェントな生命維持器官である。最も身近な組織の一つでありながら、活発な研究によって今なお知見の更新が続く沃野といえる。

本研究では、その最前線に位置し、外的なアプローチの窓口となる表皮組織に着目した。表皮は表面に角層とよばれる保護膜を作り出し、過剰な水分蒸発や異物の侵入を防ぐ「バリア機能」を担う。近年の研究により、表皮が刺激伝達に関与していることが示唆され¹、また光²、音³、匂い⁴などの刺激がバリアや傷の修復に影響を与えることが報告されるなど、“皮膚感覚”のありかとしての可能性に光が当たり始めている。

ここで、表皮には神経や筋肉などのように電気化学的なシステムが備わっていると考えられ、疾患やバリア機能不全の状況でイオンの分布変化が観察されており、またイオンがシグナルとなってバリアや細胞活動を制御することが示唆される⁵⁻⁸。関連して、外部からの電氣的刺激により、創傷やバリア治癒の促進、触覚の誘起などを行う例がある⁹⁻¹¹。表皮の厚み方向には「表皮電位」とよばれる電位差が生じており¹²、これも表皮細胞が作り出すイオン局在に起因するものと考えられる¹³。この値は皮膚の傷やバリアの状態を反映して変化するため^{14,15}、皮膚機能の評価指標になることや、電気化学的システム解明の重要な手掛かりになる可能性がある。その一方で、哺乳類の皮膚で表皮電位が発見された1982年以来、表皮電位に関して明らかになった事実は多くない。期待に比して研究が発展しない一因には、表皮内部に電氣的にアクセスする適切な測定法がないという課題が挙げられる。そこで本研究では、表皮電位研究の突破口として、表皮内部に低侵襲に導通をとる新しい測定法の創成に挑んだ。



図1 皮膚への電気化学的アプローチ。表皮の中に発生する電位差「表皮電位」の新たな測定法を創成することで、皮膚のヘルスケアや学術的研究への応用展開が期待できる。

2. 研究背景

2.1. 皮膚と表皮

皮膚は様々な組織から構成されており、大きくは3層構造と捉えることができる。皮膚断面の模式図を図2に示した。各層をなす組織は内側にあるものから順に、それぞれ皮下組織・真皮・表皮とよばれる。皮下組織は脂肪組織など、真皮はコラーゲン繊維などから構成される柔らかく湿潤な組織であるのに対し、表皮は主に表皮細胞の積層からなり、表面は角層に覆われる。角層の正体は、表皮細胞が変化(角化)した強固な角層細胞と、その間を埋める脂

質が、煉瓦とモルタルのように緻密に積み重なったものである。角層は古くなれば垢として剥がれ落ちるが、その下に控える表皮細胞が新たな角層細胞と脂質を絶え間なく供給し、常に健全な状態を保っている。表皮の厚み約0.2mmのうち、角層の厚みは0.02mm程度と、ラップフィルムに例えられるほどのごく薄い膜ながら、皮膚のバリアとして生体を守る重要な役割を果たす。表皮電位を生み出すのは、表皮細胞のイオン輸送であると考えられる。電位差の大きさは部位により最大数十mVに達し、表皮の内側(真皮)に対して皮膚表面側が負になる向きに発生していることが報告されている¹²。

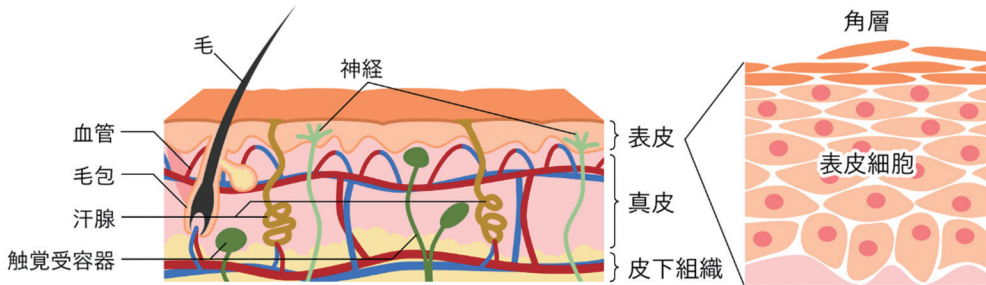


図2 皮膚断面構造模式図。皮下組織・真皮・表皮の3層構造の中に、血管や神経などが備わる。表皮には表皮細胞が積層し、表面に角層を作り出す。

2.2. 表皮電位測定法

生体組織は湿潤であり、一般的な金属などでできた電極(非可逆電極)に直接接続すると充電や化学反応を生じて、電位のずれなどの原因となる。脳神経系などの一部の計測では、スパイクのような急峻な電位変化を観察することが目的であるため、ずれを無視して非可逆電極を使用することができる。しかし、表皮電位のような静的かつ比較的小さな電位差を測定するためには、一定の組成の溶液の中で電位が一意に決まる可逆電極とよばれる電極を使う必要がある。このような系では、可逆電極を所定の組成の溶液の中に保持して電位を安定させながら、電解質水溶液を保持する塩橋によって測定対象とイオニックな導通をとる。模式図を図3(a)に示した。

ここで、表皮電位は表皮の厚み方向に沿って生じるため、測定のためには塩橋を表皮の外側(皮膚表面)と内側(表皮の下、真皮など)とに接続する必要がある。1982年に哺乳類表皮電位が報告されて以来¹²、一般的な表皮電位測定系では、表皮内側用の塩橋は表皮につけた傷を介して真皮層へと接続されてきた(図3(b))。表皮下に直接アクセスして電位を測定できる手法であり、信頼できる測定値を得られるものの、侵襲性が高く、適用範囲は狭くない。

代替法として、表皮下の代わりに舌下の粘膜を利用する方法が開発された(図3(c))¹⁶。これにより、組織を傷つけずに電位差の相対値変化を比較することに成功したが、測定値は他の報告とは異なり、皮膚表面側が場合によって正にも負にもなった。舌下の粘膜と測定点との間に介在した他組織の影響を受け、測定電位差にずれが生じたものと推測される。

以上のように、従来利用されてきた測定法にはそれぞれ問題点が残り、測定対象を広げることが難しかった。

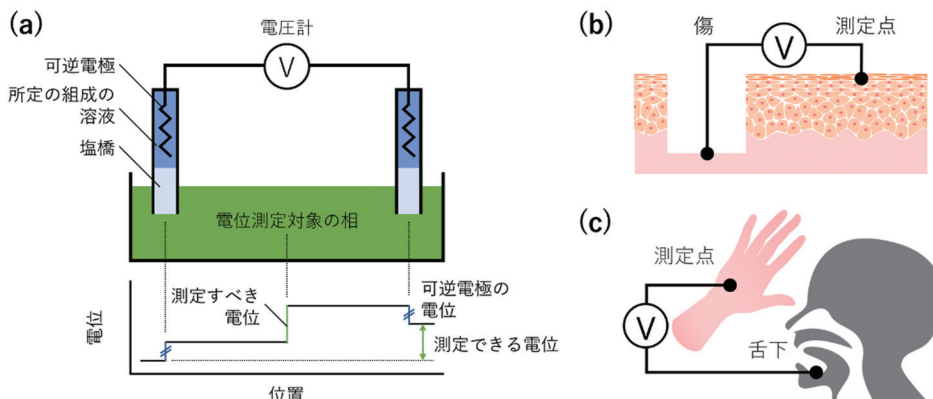


図3 電位測定法模式図 (a) 可逆電極と塩橋を用いる測定系 (b) 傷を介して表皮下に接続する表皮電位測定系 (c) 参考文献¹⁶より改変、表皮下の代わりに舌下粘膜を用いる測定系

2.3. 本研究のアプローチ

表皮電位の絶対値を測定するためには、表皮下に直接アクセスすることが望ましい。本研究では、その侵襲性を最小限に抑え、幅広い対象に適用できる新たな測定法の創成を目指した。予備検討として、脳神経系で用いられるものを参考にした金属製の針型非可逆電極を作製したところ、皮膚の中では先述のような電極電位のずれが数十mVのドリフトとして現れ、表皮電位を測定できないことがわかった。安定な測定のためには、従来の測定法と同じく可逆電極を使用する必要がある。ここで、細胞の電位差測定などでは、ガラスの微細管の中に可逆電極を封じ込めたものが古くから用いられている。こうした経緯を踏まえ、本研究ではまず医療用の無痛微小針を用いる塩橋の開発に着手した。

3. 低侵襲表皮電位測定法の開発

3.1. 無痛微小針をベースにした塩橋の開発

本研究では無痛微小針として市販品のナノパス34G(テルモ)を用いた。医療用に広く用いられる注射針の直径が1.20mm~0.40mm(18G~27G)であるのに対し、本製品の直径は0.18mm(34G)と細く、組織へのダメージや痛みを最小限に抑える設計になっている。

塩橋は、内部に保持した電解質水溶液を介してイオンの導通を確保する。皮膚との親和性を考慮し、水溶液にはリンゲル液(KCl、NaCl、CaCl \cdot 2H $_2$ Oを含む組織液に近い組成の電解質溶液、点滴用の輸液などに利用される)を、これを保持する担体にはアガロースゲル(寒天)を選定した。塩橋と皮膚内の組織液が素早く接続されるよう、針にはオゾンプラズマ処理を施して表面を親水化した。また、皮下脂肪が測定を妨げないように、針先にはシリコンゴム製のスパーサーを取り付け、刺入深さが1mm程度になるよう調整した。作製手順の概念図を図4(a)に、針塩橋の写真を(b)に示した。

3.2. 無痛微小針塩橋を用いた表皮電位測定実験

まず、ヒトの皮膚に近い形態をもつとされるブタの皮膚サンプル¹⁷で測定を試みた。ブタ

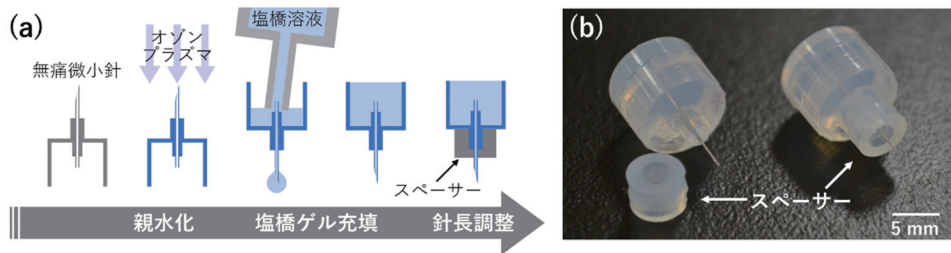


図4 無痛微小針塩橋 (a) 作製手順概念図 (b) 針塩橋、スペーサー取り付け前後 図は文献¹⁹を基に作成

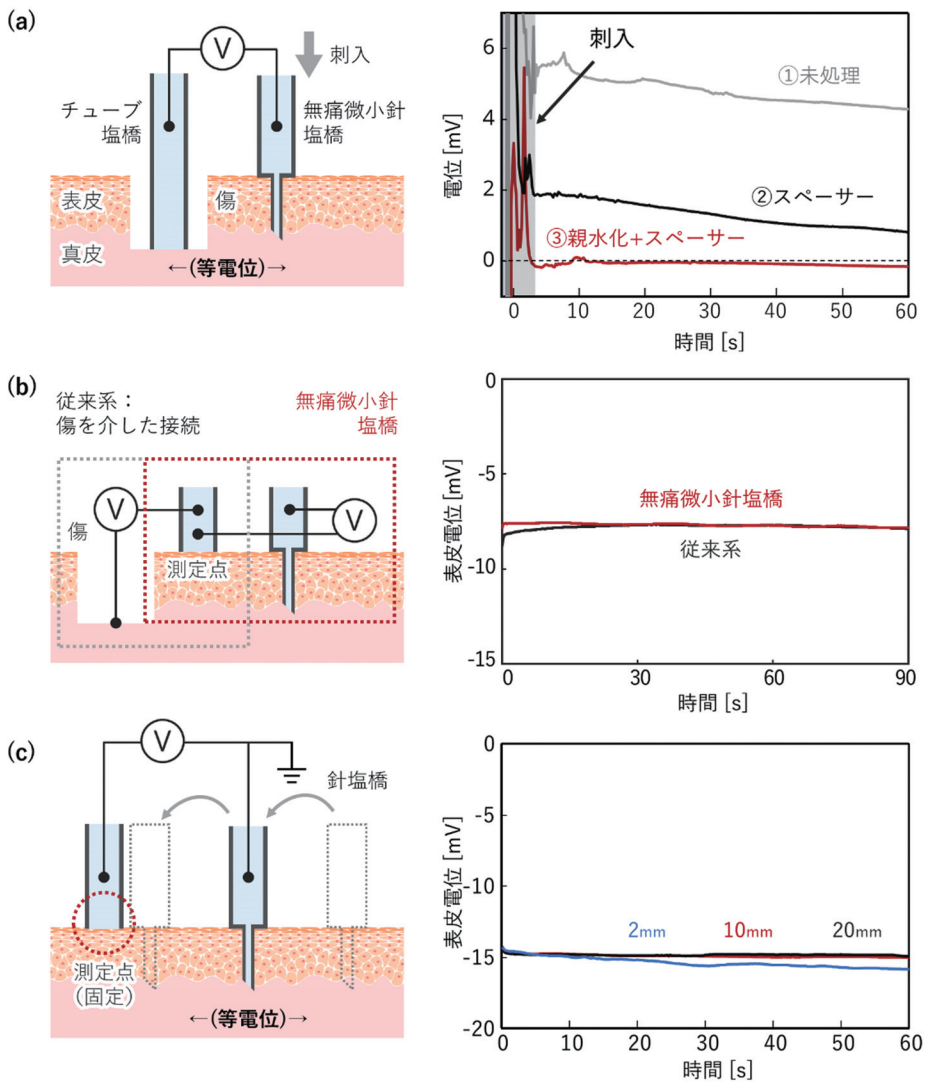


図5 無痛微小針塩橋による測定 (a) 表皮下での電位差測定値 (b) 針塩橋を用いた系と従来系との表皮電位測定値 (c) 針塩橋刺入位置を変えた場合の表皮電位測定値 図は文献¹⁹を基に作成

皮膚サンプルは食肉用ブタ(ランドレース種、生後6か月、去勢雄)から採取されたものを使用した。皮膚サンプルは、採取後すぐに冷蔵状態に保つことで新鮮な状態に維持できる¹⁸。先行研究では、動物から採取された皮膚サンプルで表皮電位の発生や変化が観察されており¹⁵、切り出された表皮でも組織レベルでは活動を続けていると考えられる。

無痛微小針塩橋の安定性を確認するため、はじめに表皮下で電位差を測定した。測定系の模式図と測定結果を図5(a)に示した。針塩橋と対になる塩橋には、シリコンチューブにリンゲル液を含むアガロースゲルを充填したものをを用いた。表皮下には電位差が生じないと報告されており¹²、2つの塩橋を両方とも表皮下に接続すると、両極間の電位差は0mVとなるはずである。①針に何も処理を施さなかった場合、②親水化は行うがスパーサーを取り付けなかった場合、③親水化とスパーサー取り付けの両方を行った場合、の3条件で比較すると、針を刺入した後、最も早く測定値が0mV付近へと移行して安定したのは③の塩橋であった¹⁹。

続いて、表皮電位が正しく測定できていることを確認するため、針塩橋を用いる系と、皮膚に傷をつける従来系で同一の点の表皮電位を測定し、比較した(図5(b))。いずれの場合も約-7.5mVと互いに同等の値を再現よく測定することができた。電位差は表皮下に対して皮膚表面が負になる向きに数mVの大きさで発生しており、先行研究と一致する結果となった¹⁹。

さらに、針塩橋を刺入したことの影響を評価するため、別の点の表皮電位を塩橋を差し込む位置を変えながら測定し、比較した(図5(c))。針塩橋の刺入位置を測定点から20mm、10mm、2mmと変えても、測定電位は約-15mVとほとんど変化しなかった。塩橋間距離2mmは塩橋を可能な限り近づけた最小距離であった。刺入の影響は小さく、皮膚表面側の塩橋と針塩橋を束ねても測定が可能であることがわかった¹⁹。

3.3. 表皮電位測定プローブの開発

表皮電位を簡便に測定するため、塩橋や電極をコンパクトにまとめたプローブ型デバイスを作製した。デバイスの写真および概念図を図6(a)(b)に示した。専用のハウジングを3Dプリンタで造形し、各構成要素をはめ込んで固定した。ハウジングは図6(c)のように開く構造となっており、各構成要素を交換して衛生的に使用できる。内部には無痛微小針塩橋、シリコンチューブ塩橋、可逆電極を搭載し、後端の端子を電圧計につないで測定を行う。

これを用いた表皮電位測定の結果を図6(d)に示した。ブタ皮膚サンプルの表面に、写真に示したように1cm角の区画を3つとり、中央の区画をアセトンを含ませた脱脂綿で拭いた。この処理により、角層の細胞間を埋める脂質が除去され、バリアが破壊されることが報告されている²⁰。アセトン処理を行った区画について、写真では明らかな変化がみられないが、表皮電位は隣接する区画に比して小さく、局所的なバリア異常を反映したものと考えられた¹⁹。

さらに、ヒトを対象とした測定試験を行った。すべての手順において、東北大学大学院工学研究科 人を対象とする研究に関する倫理委員会の規定、およびヒトを対象とした実験の倫理原則を示すヘルシンキ宣言に従った。実験参加者は大学の認めたインフォームドコンセント手順によって実験に同意した。本実験は東北大学大学院工学研究科 人を対象とする研究に関する倫理委員会の承認を受けた(承認番号16A-5)。

表皮電位と比較するため、皮膚科学分野におけるバリア機能評価の指標である経皮水分蒸散量の測定も行った。バリア機能が健全な状態でも、内部の水分は常に少しずつ外へ蒸散し

ており、バリア機能が低下すると蒸散量が増大する。この値は皮膚表面付近の空気に含まれる水分量から算出するため、測定雰囲気や発汗の影響を除くため、一般的に病院などの恒温恒湿室(空調を管理し、温度・湿度を一定に保った部屋)で測定する必要がある。

ヒト皮膚で表皮電位測定を行った様子を図6(e)に、測定値を(f)に示した。こちらもプローブ先端を測定部に押し当てて電位を測定することに成功した。角層を粘着テープで少しずつ剥離していくと、経皮水分蒸散量が増加していく一方で、表皮電位は減少していった。これらの値の関係は図6(g)のおおむね直線状となり、先行研究で報告された相関関係を確認することができた²¹。

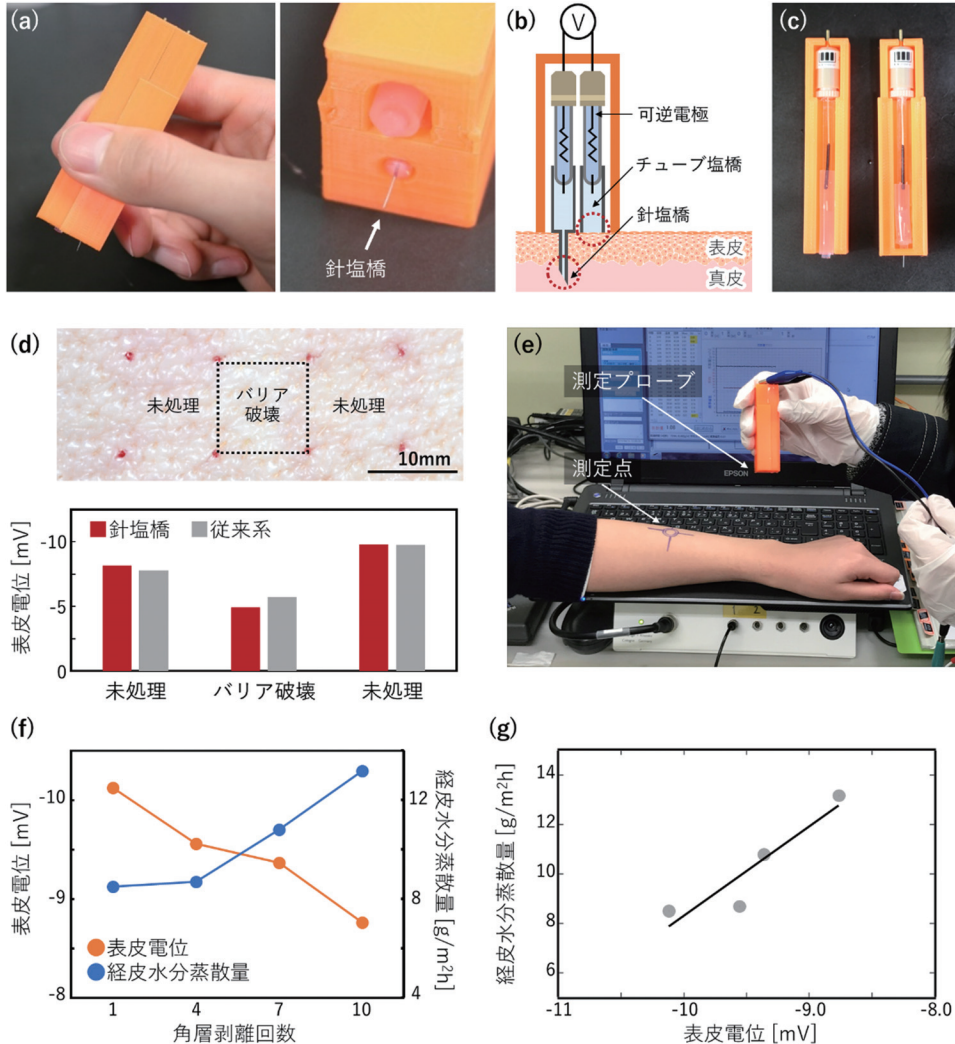


図6 プローブによる表皮電位測定 (a) プローブ写真 (b) プローブ概念図 (c) ハウジングを開いた様子 (d) 脱脂処理を施したブタ皮膚サンプルの表皮電位測定値 (e) ヒト皮膚での表皮電位測定 (f) 表皮電位および経皮水分蒸散量の測定値 (g) 表皮電位と経皮水分蒸散量の相関関係 図は一部文献^{19,21}を基に作成

本デバイスにより、低侵襲かつ安定な表皮電位測定を簡便に行うことが可能になった。プローブ型のハウジング形状は、空間的な電位のマッピングに好適であった。さらに、表皮電位は経皮水分蒸散量と異なり、測定環境を選ばないオンデマンド測定が可能であることから、長期間のモニタリングなどに効果を発揮することが期待できる。

4. 表皮電位測定による皮膚機能評価

4.1. 皮膚バリア機能の光治療法

皮膚に適用される治療法には、光のもつ熱的・化学的作用を利用するものがある。代表的な例はレーザーを用いる方法で、瘢痕(傷痕)除去や創傷治癒などへの効果が報告されている^{22,23}。近年ではLEDも応用されるようになり²⁴、皮膚バリアについても、LEDの赤色光を照射することで回復が促進されることが示された²。光刺激によって皮膚の回復が生じるメカニズムについては未だ解明の途上にあるが、特定の波長の光で表皮細胞の形態や増殖が改善され、代謝が活性化されているとみられること²⁵や、表皮細胞に光受容体に似たタンパク質が存在すること²⁶などが報告されている。こうした研究例から、表皮細胞が光を検知し、皮膚バリアなどの回復を促進していると推測できる。

バリア光治療法の実用化に向けては、照射する光の照度や持続時間といった刺激条件を検討し、治療デバイス開発に反映していくことが必要である。本研究では、光刺激によるバリアの回復を表皮電位によって評価し、治療効果の時空間的な分析、リアルタイムでのモニタリングを試みた。

4.2. 表皮電位を応用した光治療効果の評価

モデルとしてブタ皮膚サンプルを用い、アセトンを用いた脱脂処理により破壊されたバリアの回復を刺激条件ごとに比較した。実験手順の概念図を図7(a)に示した。最初に皮膚サンプルの表皮電位を測定してから、脱脂処理によるバリア破壊を行い、測定点の表皮電位が減少したことを確認した。その後、LED光源から測定点に光を照射し、刺激直後の表皮電位と、さらに静置した後の表皮電位を測定した。表皮電位は個体や部位ごとにばらつきがあることから¹²、比較のため最初の表皮電位を100%とし、変化率で比較した。

はじめに、①赤色光を照射した場合、②青色光を照射した場合、③何もしない場合、の3条件を比較した(図7(b))。光はいずれも40mW/cm²の放射照度で60minの照射を行った。①では③より早く表皮電位が回復した一方、②では③とほぼ同様の経過をたどり、回復促進効果はみられなかった²¹。この結果は、先行研究²での経皮水分蒸散量などによる評価の結果と一致した。ここでは強い光を長時間照射したため、より小さなエネルギーとなるよう照射条件を変えてさらに比較した(図7(c))。単位面積あたりに与えられる光のエネルギー[J/cm²]は放射照度[W/cm²]×照射時間[s]から求められる。各条件は表1の①～③のとおり設定した。

表1 赤色光照射の条件

	放射照度[mW/cm ²]	持続時間[min]	エネルギー[J/cm ²]
①	40	60	144
②	40	10	24.0
③	26	60	93.6

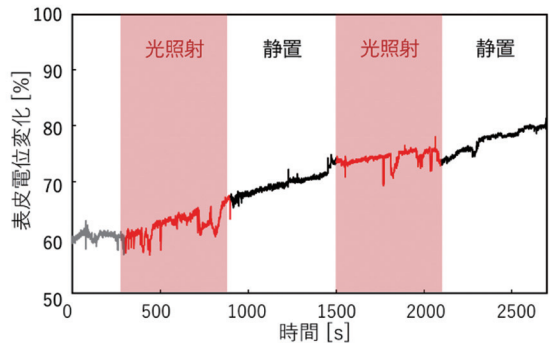
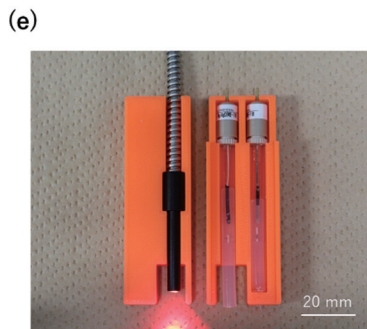
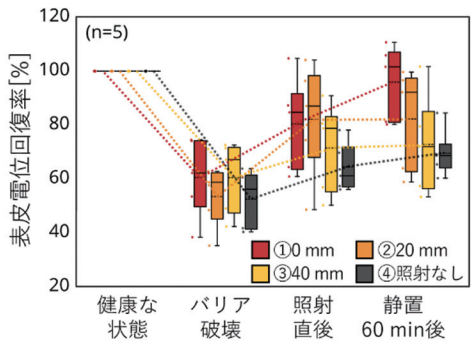
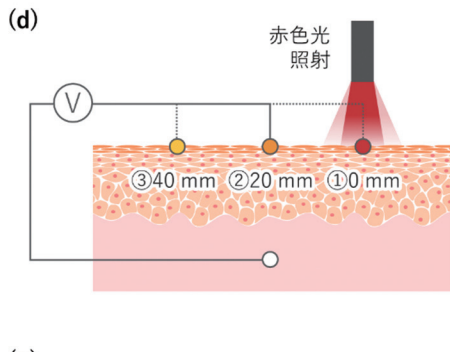
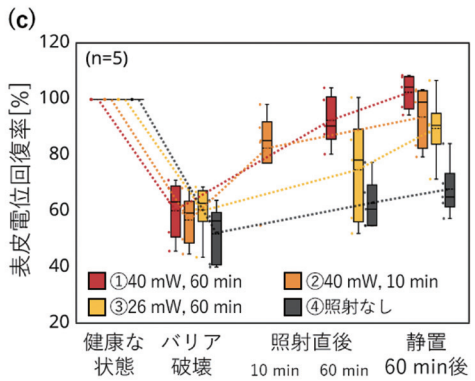
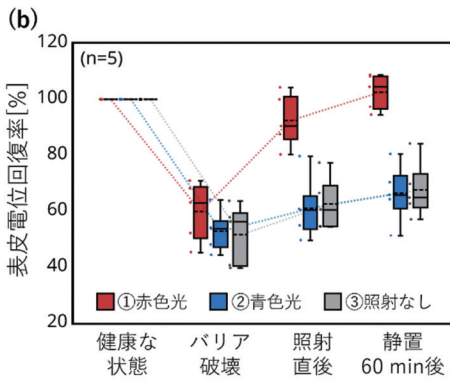
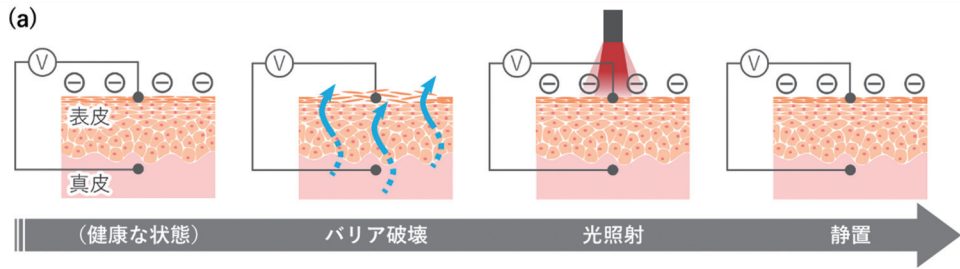


図7 光治療効果の表皮電位による評価 (a) 実験手順概念図 (b) 異なる色の光を照射した際の表皮電位変化 (c) 異なる放射照度および持続時間の光を照射した際の表皮電位変化 (d) 光照射点からの距離が異なる各点での表皮電位変化 (e) 光照射中の表皮電位変化 図は一部文献²¹を基に作成

条件はエネルギーが大きい順に①(先の実験と同一の条件)、③、②、と並ぶ。しかし、表皮電位変化については、②では10minの照射が終了した直後に電位が100%近くまで回復した一方、より大きなエネルギーを与えた③では60minの照射終了直後にも100%の回復はみられないサンプルが多かった²¹。皮膚バリアの回復を促進するためには、エネルギー量にかかわらず短時間でも強い光を照射し、回復を励起することが必要であると示唆する結果である。

続いて、広範囲にわたって皮膚バリアを破壊し、光照射点の直下と、離れた位置での効果を比較した(図7(d))。光照射点からそれぞれ①0mm(照射点直下)、②20mm、③40mm離れた点に測定点をとった。広範囲にわたるバリア破壊は皮膚サンプルへの負担が大きいためか、表皮電位の回復は①②③を通じて全体的に遅くなった。回復促進効果は照射点から20mm離れた点まで観察された²¹。この点での光の強さは $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ オーダーと極めて小さかったため、治癒効果が皮膚内を広かったことが推測される。光治療デバイスの設計について、光源のサイズや配置間隔の決定に資する重要な知見である。

さらに、表皮電位測定プローブに光源を統合し、リアルタイムでの回復効果観察を試みた(図7(e))。測定はバリア破壊で表皮電位が減少した時点から開始した。光照射を始める前には、表皮電位はほとんど回復しなかったが、 $40\text{mW}/\text{cm}^2$ の赤色光を照射すると同時に増大を開始した。10min後、光照射をいったん停止しても回復傾向は持続した。図7(c)で示した結果と同様に、十分な放射照度の光刺激によって回復効果を得られると示唆する結果であり、より少ないエネルギーで効率よく治療を行うための指針となることが期待できる。

5. 結 言

本研究では、表皮組織の中に発生する表皮電位を低侵襲に直接測定する新たな手法を創成した。局所的な皮膚バリア機能を、無痛微小針を搭載した電気デバイスで簡便に評価することが可能となり、バリア治療法の評価に応用することにも成功した。表皮電位はこれまでにないオンデマンド評価指標となる可能性があり、低侵襲測定法の開発はその適用範囲を拡張する重要なブレイクスルーであると考えられる。得られた成果は、表皮電位を医療・美容分野へ応用する可能性を示すと同時に、表皮の中の電気化学的システムへの研究発展をも期待させる、実用上・学術上のいずれの面にも寄与しうるものである。

電気デバイスは拡張性が高いことも利点の一つであり、現在は先述の電圧刺激によるバリア治療¹⁰機能の搭載を視野に、回復促進効果の確認に着手している。さらに、近年とみに発展するウェアラブルデバイス関連技術を応用して、デバイスの高機能化を図る予定である。すでに生体親和性樹脂の微小な針(マイクロニードル)を用いた極低侵襲化、電極・塩橋の薄膜化などを進めており、皮膚に貼り付けて使うことができる小型の表皮電位測定パッチの実現を見込んでいる。これにより、皮膚の健康を日常生活に密着してモニタリングし、必要に応じて治癒を助けもする、新たなヘルスケアの形が拓かれる。今後も電気化学的な計測と制御の両面から表皮へのアプローチを進め、最も身近な組織である皮膚の機能解明を目指す。

6. 謝 辞

本研究を進めるにあたり、ご指導を頂きました西澤松彦教授(東北大学大学院工学研究科)、長峯邦明准教授(山形大学大学院有機材料システム研究科)、吉田昭太郎助教(東北大学大学

院工学研究科)、共同研究にてご助力を頂きました山崎研志准教授(東北大学医学系研究科)、山内文史博士(東北大学医学系研究科)、傳田光洋博士(資生堂グローバルイノベーションセンター)に謹んで御礼申し上げます。本研究の一部は、日本学術振興会 特別研究員研究奨励費(DC1)、東北大学学際高等研究教育院 教育院生研究費の支援を賜り遂行されました。ここに深く感謝いたします。

7. 参考文献

1. Talagas, M. & Lebonvallet, N. Lifting the veil on the keratinocyte contribution to cutaneous nociception. *Protein Cell* (2020). doi:10.1007/s13238-019-00683-9
2. Denda, M. & Fuziwara, S. Visible Radiation Affects Epidermal Permeability Barrier Recovery: Selective Effects of Red and Blue Light. *J. Invest. Dermatol.* **128**, 1335-1336 (2008).
3. Denda, M. & Nakatani, M. Acceleration of permeability barrier recovery by exposure of skin to 10-30 kHz sound. *Br. J. Dermatol.* **162**, 503-507 (2010).
4. Busse, D. *et al.* A synthetic sandalwood odorant induces wound-healing processes in human keratinocytes via the olfactory receptor OR2AT4. *J. Invest. Dermatol.* **134**, 2823-2832 (2014).
5. Denda, M., Hosoi, J. & Asida, Y. Visual imaging of ion distribution in human epidermis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **272**, 134-137 (2000).
6. Rinnerthaler, M., Streubel, M. K., Bischof, J. & Richter, K. Skin aging, gene expression and calcium. *Exp. Gerontol.* (2015). doi:10.1016/j.exger.2014.09.015
7. Hennings, H. & Holbrook, K. A. Calcium regulation of cell-cell contact and differentiation of epidermal cells in culture. An ultrastructural study. *Exp. Cell Res.* (1983). doi:10.1016/0014-4827(83)90115-5
8. Menon, G. K., Elias, P. M. & Feingold, K. R. Integrity of the permeability barrier is crucial for maintenance of the epidermal calcium gradient. *Br. J. Dermatol.* **130**, 139-147 (1994).
9. Ud-Din, S. & Bayat, A. Electrical Stimulation and Cutaneous Wound Healing: A Review of Clinical Evidence. *Healthcare* **2**, 445-467 (1980).
10. Denda, M. & Kumazawa, N. Negative electric potential induces alteration of ion gradient and lamellar body secretion in the epidermis, and accelerates skin barrier recovery after barrier disruption. *J. Invest. Dermatol.* **118**, 65-72 (2002).
11. Yem, V., Okazaki, R. & Kajimoto, H. FinGAR. in *ACM SIGGRAPH 2016 Emerging Technologies on - SIGGRAPH '16* 1-2 (ACM Press, 2016). doi:10.1145/2929464.2929474
12. Barker, A. T., Jaffe, L. F. & Vanable Jr., J. W. The glabrous epidermis of cavies contains a powerful battery. *Am. J. Physiol.* **242**, R358-R366 (1982).
13. Nuccitelli, R. A Role for Endogenous Electric Fields in Wound Healing. *Curr. Top. Dev. Biol.* **58**, 1-26 (2003).
14. Dubé, J. *et al.* Restoration of the transepithelial potential within tissue-engineered human skin in vitro and during the wound healing process in vivo. *Tissue Eng. Part A* **16**, 3055-3063 (2010).
15. Denda, M., Ashida, Y., Inoue, K. & Kumazawa, N. Skin surface electric potential induced by ion-flux through epidermal cell layers. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **284**, 112-117 (2001).
16. Kawai, E., Nakanishi, J., Kumazawa, N., Ozawa, K. & Denda, M. Skin surface electric potential

- as an indicator of skin condition : a new, non-invasive method to evaluate epidermal condition. *Exp. Dermatol.* **17**, 688-692 (2008).
17. Vardaxis, N. J., Brans, T. A., Boon, M. E., Kreis, R. W. & Marres, L. M. Confocal laser scanning microscopy of porcine skin: Implications for human wound healing studies. *J. Anat.* **190**, 601-611 (1997).
 18. Silvestre, M. A., Saeed, A. M., Cervera, R. P., Escribá, M. J. & García-Ximénez, F. Rabbit and pig ear skin sample cryobanking: Effects of storage time and temperature of the whole ear extirpated immediately after death. *Theriogenology* **59**, 1469-1477 (2003).
 19. **Abe, Y.** *et al.* Minimally-invasive transepidermal potentiometry with microneedle salt bridge. *Biomed. Microdevices* **18**, 55 (2016).
 20. Grubauer, G., Elias, P. M. & Feingold, K. R. Transepidermal water loss: the signal for recovery of barrier structure and function. *J. Lipid Res.* **30**, 323-333 (1989).
 21. **Abe, Y.** *et al.* Red light-promoted skin barrier recovery: Spatiotemporal evaluation by transepidermal potential. *PLoS One* **14**, e0219198 (2019).
 22. Nouri, K., Vidulich, K. & Rivas, M. P. Lasers for scars: A review. *J. Cosmet. Dermatol.* **5**, 14-22 (2006).
 23. Peplow, P. V., Chung, T.-Y. & Baxter, G. D. Laser Photobiomodulation of Wound Healing: A Review of Experimental Studies in Mouse and Rat Animal Models. *Photomed. Laser Surg.* **28**, 291-325 (2009).
 24. Barolet, D. Light-Emitting Diodes (LEDs) in Dermatology. *Semin. Cutan. Med. Surg.* **27**, 227-238 (2008).
 25. Chabert, R. *et al.* Evaluation of light-emitting diodes (LED) effect on skin biology (in vitro study). *Ski. Res. Technol.* **21**, 426-436 (2015).
 26. Tsutsumi, M. *et al.* Expressions of rod and cone photoreceptor-like proteins in human epidermis. *Exp. Dermatol.* **18**, 567-570 (2009).