

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K13025

研究課題名(和文)近赤外低反応レベルレーザーによる脳内神経炎症の制御とエネルギー代謝調節との関連

研究課題名(英文)Low-level laser irradiation improves neuroinflammation via regulation of energy metabolism in rats

研究代表者

大和 正典(Yamato, Masanori)

国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・研究員

研究者番号：50565778

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：脳内神経炎症モデルラットに対し、生体過性に優れ、エネルギー代謝調節や抗炎症作用が期待される近赤外レーザーを体外から頭部へ照射すると、脳内における炎症性サイトカイン発現の上昇を軽減することがわかった。神経炎症を引き起こしたラットの大脳皮質では、エネルギー代謝に関連する代謝物や、GABAやグルタミン酸などの神経伝達に関連する代謝物が変動していることを明らかにしてきた。また、がんや創傷治療などへの治療効果が期待される大気圧プラズマを脳へ直接照射したところ、炎症や細胞の分化増殖に対して大きな影響を及ぼした。現在、それらの変化とエネルギー代謝変化の関係を網羅的に捉えるためオミックス解析を行っている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年PETなどのイメージング技術の発達により、うつ病、慢性疲労症候群など多くの神経疾患に脳内の慢性的な炎症が関係していることがわかってきた。しかしながら、脳内の慢性炎症を効率的に抑制するためにはよい薬剤がなく、困難である。生体透過性に優れた近赤外光や多くの分野で医療応用が期待される安全な大気圧プラズマなどの工学系を用いた基礎研究からそれらを抑制する手法の確立に近づくことができれば治療の一助となるものと期待される。

研究成果の概要(英文)：Near-infrared laser light has a relatively high penetrability in biological tissues and showed anti-inflammatory effect and improvement of energy metabolism, and so on. However, the effect of the light in the brain has not been elucidated. We have reported that the irradiation of low-level laser to rat brain reduced neuroinflammation. Such a brain showed alterations of energy metabolism and neurotransmitters including GABA and glutamate, revealed by metabolome analysis. On the other hand, nonequilibrium atmospheric pressure plasma has the potential for a wide range of medical applications, including wound healing, and malignant cell apoptosis, and so on. We confirmed that the irradiation of the plasma to the brain affected the inflammatory response and cell proliferation. To investigate the relationship between their effects and alterations of energy metabolism, we currently perform global analysis of gene expression

研究分野：神経科学

キーワード：近赤外低反応レベルレーザー 脳内神経炎症 エネルギー代謝 大気圧プラズマ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 生体への透過性に優れる近赤外レーザーは、炎症部位に低出力で照射することで副作用なく抗炎症作用を示し、日本においてもリウマチの治療など臨床現場で用いられている。申請者らは急性腎炎を発症したラットを用い、腎臓に向けて背部から近赤外レーザーを照射することで深部臓器である腎臓の炎症反応を抑制できることを初めて報告した。(引用文献)。また、近赤外レーザーは、組織中 ATP の産生を増加させることが知られている。

(2) 申請者らが疲労ストレスを負荷した動物の肝臓においてメタボローム解析を行なったところ、エネルギー産生の低下とともに疲労時に特異的に活性化される代謝回路が存在することを見出し、この回路の活性化により組織炎症が引き起こされていることを明らかにした。

(3) PET などのイメージング技術の発達により、アルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患のみならず、うつ病や慢性疲労症候群においても脳内の慢性的な炎症が関与していることが明らかになっている。このことから抗炎症物質に着目され始めているが、脳内炎症を抑制する薬剤の開発は、血液脳関門の透過性や長期の服用による多臓器への副作用の問題などから困難である。

2. 研究の目的

脳内神経炎症を引き起こした動物を作成し、頭部に近赤外光を照射して抗炎症作用を示すかどうかを明らかにする。また、脳内の代謝状態への影響について検証し、抗炎症作用との関連を明らかにする。また、培養細胞を用いたオミックス解析を行い、血流などの影響を排除した条件下で近赤外光の影響を明らかにする。

3. 研究の方法

ラットにクエン酸回路を阻害する薬剤であるモノフルオロ酢酸、または合成 2 本鎖 RNA である Poly I:C を投与することにより脳内神経炎症モデル動物を作成する。イソフルラン麻酔下にラットに近赤外レーザーをパルス波で 250 秒間照射し、投与 5 時間後および 24 時間後に脳組織を摘出し、炎症性サイトカインの遺伝子発現解析やメタボローム解析を行った。また、現在 THP-1 細胞をマクロファージに分化させ、LPS 刺激を行った直後に培養ディッシュ下部より近赤外レーザーを照射した後、細胞を回収しメタボローム解析を行なう予定である。

4. 研究成果

(1) 先行研究では、正常のラットの大脳皮質と比較して、モノフルオロ酢酸および Poly I:C を投与し 24 時間後の大脳皮質ではバリン、ロイシン、イソロイシンやクレアチニンやなど、エネルギー代謝に関連する物質が低下していることを見出したが、それらの低下はモノフルオロ酢酸および Poly I:C 投与 5 時間後(筋力低下および発熱がピークになる時間)ですでに起こっており、24 時間後も継続していることがわかった。Poly I:C 投与による脳内神経炎症は、近赤外レーザーの 250 秒間の照射により 5 時間後脳内の炎症性サイトカインの発現上昇が軽減されたため、現在 THP-1 細胞を用いた *in vitro* の実験系と合わせてレーザー照射の有無でメタボローム、マイクロアレイによる解析のための実験を進行している。

(2) 近赤外レーザーとは別の工学系で、大気圧プラズマを用いた生物実験を行なった。プラズマとは固体、液体、気体に次ぐ第 4 の状態のことで、光、イオン、ラジカル、電子などから成る複合的な状態である。大気圧プラズマは照射部位において免疫系を活性化させることで癒や創傷治療、再生医療などに応用されようとしており、近赤外光と共通した免疫機能への作用メカニズムが期待された。ラットをイソフルラン麻酔下に脳定位装置に固定し、歯科用ドリルで頭蓋骨上に直径 1.5mm 程度の穴を開けて大脳皮質表面を露出させ脳表から 2.5cm 上部から大気圧プラズマを 1 分間照射した。照射 1 日後から大脳皮質において特徴的な層構造が確認され、3 日目ではさらに顕著となり、明確に 3 つの層に分かれ、層に添うように増殖マーカーで陽性となる細胞集団を確認することができた。なお、negative control としてヘリウムガスの照射を行なったがそのような現象は観察されなかった。それらの増殖細胞は 2 重免疫染色による評価により、ペリサイトおよびオリゴデンドロサイト前駆細胞のマーカーである NG2 の陽性細胞が増殖細胞全体の半数以上を占めることが明らかとなった。これらのことから、大気圧プラズマの照射により細胞増殖を含む細胞・組織構造の再構成を引き起こせる可能性を示した(引用文献)。今後近赤外光と共通する抗炎症作用のメカニズム解明や、大気圧プラズマ照射による脳梗塞などの病態モデルに対する神経新生などへの効果の検討が期待される。

<引用文献>

Yamato M, Kaneda A, Kataoka Y. Low-level laser therapy improves crescentic glomerulonephritis in rats. *Lasers Med Sci* 28(4):1189-96. 2013

Yamato M, Tamura Y, Tanaka H, Ishikawa K, Ikehara Y, Hori M, Kataoka Y. Brain cell proliferation in adult rats after irradiation with nonequilibrium atmospheric pressure plasma. *Appl. Phys. Express* 14, 067002 (2021)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yamato Masanori, Tamura Yasuhisa, Tanaka Hiromasa, Ishikawa Kenji, Ikehara Yuzuru, Hori Masaru, Kataoka Yosky	4. 巻 14
2. 論文標題 Brain cell proliferation in adult rats after irradiation with nonequilibrium atmospheric pressure plasma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Applied Physics Express	6. 最初と最後の頁 067002 ~ 067002
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.35848/1882-0786/ac03c1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Masanori Yamato, et al
2. 発表標題 Large-scale electron microscopic analysis of temporal changes in tissue ultra-microstructure of adult rat cerebral cortex following atmospheric-pressure plasma irradiation
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大和正典、久米慧嗣、田村泰久、江口麻美、高田孔美、坊垣隆之、片岡洋祐
2. 発表標題 疲労動物モデルに対する酒粕および酒粕発酵エキス類の抗炎症作用
3. 学会等名 日本疲労学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 IL-1bおよび/IL-6の発現抑制剤とその利用	発明者 大和正典、片岡洋祐、田村泰久、久米慧嗣、他	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2017-226305	出願年 2017年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------