

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：17501
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2012～2014
課題番号：24791602
研究課題名(和文)光治療の新規メカニズムと治療法の開発

研究課題名(英文)Clarification of mechanisms for phototherapy

研究代表者
小山 淑正(Yoshimasa, Oyama)
大分大学・医学部・助教

研究者番号：40468012

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：リポポリサッカライド(LPS)投与による敗血症性ショックモデルに対する光療法の抗炎症効果を血漿中のサイトカインで検討した。特定の照度、波長の光照射により、炎症性サイトカイン産生の抑制を認めた。この研究により、光療法の抗炎症効果には特定の波長の関与が示唆され、今後、抗炎症効果のメカニズム解明につながる可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：We studied anti-inflammatory effect of a phototherapy in LPS-induced septic model. We found that specific intensity and wavelength phototherapy decreased production of proinflammatory cytokines. This results have indicated that a phototherapy have another mechanism for anti-inflammatory effect.

研究分野：麻酔・蘇生学

キーワード：光治療 抗炎症効果

1. 研究開始当初の背景

敗血症性ショックは集中治療領域において主要な致死病的病態であり、最近ではハイリスク手術、免疫機能不全患者、多剤耐性菌の増加により敗血症性ショックは増加の一途をたどっている。このため、敗血症性ショック患者の救命のために現在も多角的な治療法が提唱されているが、治療の開始時期、副作用といった問題点が多く、いまだに満足すべき状況にない。

そこで、我々はより簡便で、安全性が高く、治療効果を有した治療法の開発を目標に、光に着目した。太陽光による抗炎症効果は広く知られており、紫外線によるビタミンD産生がその主因であると考えられている。ビタミンDは免疫能と深く関わっており、その本態はリポポリサッカライド(LPS)を初めとしたリガンドがToll様受容体1,2,4を介して活性型ビタミンD3産生させる。そして、活性型ビタミンD3は免疫細胞において、Cathelicidinの産生させる。Cathelicidinは広域の抗菌作用を有する抗菌ペプチドであり、自然免疫システムの主要な構成要素である。Cathelicidin産生には十分なビタミンD3存在が必要である。一方で、敗血症ではビタミンD3濃度低下と重傷度の関連性も指摘されており、ビタミンD3の維持は重症病態における重要な介入点である。さらに、ビタミンD補充により感染症だけでなく非感染性の炎症と関連した病態である癌、心血管病、アレルギーを軽減される可能性も示唆されている。しかしながら、現在までに光治療に関して十分なメカニズムや適切な照射方法などの解明は行われておらず、さらなる研究展開により新たな生理作用や作用機序の解明が期待されている。

2. 研究の目的

我々は様々な効果を有する光を適切に強化することにより、抗炎症効果を効果的に促進できるのではないかと仮説を持つに至った。もしそうであるならば敗血症性ショックの制御も可能になるのではないかと発想に至った。

本研究ではリポポリサッカライドを用いた敗血症性ショックモデルに対し、光療法を行い、抗炎症効果を検討した。さらに、最適な照射方法や、作用機序のメカニズムを解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 光療法による抗炎症効果の検討

Wistar 系雄性ラットを用いて、下記の光照

射環境で7日間飼育し、8日目にLPS 5mg/kgを静脈内投与した。光照射はそれぞれ一般蛍光灯(演色指数84)の200,2500ルクス,自然光蛍光灯(演色指数92)の1000,2500,5000ルクスの条件で12時間毎の明暗環境で行った。LPS投与後の経時的な血清IL-6値の検討並びに,LPS投与24時間後の肺の組織学的検討を行った。LPS投与前の肝臓組織中のUCP2の発現を免疫プロット法で検討した。

(2) 光療法の最適な照射方法の検討

Balb/c マウスを12時間毎の明暗環境(7時~19時:明環境 一般蛍光灯200ルクスを使用,19時~7時:暗環境)で1週間飼育した。続いて、明環境時間において、各種波長光(365,590,620,830nm),一般蛍光灯200lx,持続暗環境0lxの環境でそれぞれ1週間飼育した。各種波長別の照射エネルギー量は365nm 蛍光灯で20,35,60 μ W/cm²の3種類,残りの590,620,830nm LEDは,50,100,200 μ W/cm²の3種類で照射した。

マウスは、各群上記手順で1週間飼育した。8日目にリポポリサッカライド(LPS)10mg/kgを腹腔内に投与し、敗血症性ショックモデルを作成した。

マウスはLPS投与12時間後にセボフルレン麻酔下に犠死させ、採血を行い。血清を採取した。

(3) 腹腔内マクロファージの炎症反応の検討

Balb/c マウスを12時間毎の明暗環境(7時~19時:明環境 一般蛍光灯200ルクスを使用,19時~7時:暗環境)で1週間飼育した。続いて、明環境時間において、620nm,一般蛍光灯200lx,持続暗環境0lxの環境でそれぞれ1週間飼育した。マウスは、各群上記手順で1週間飼育した。8日目にセボフルレン麻酔下に犠死させ、腹腔内洗浄液から腹腔内マクロファージを抽出。24時間培養後にLPSを投与し、炎症性サイトカインの産生能を検討した。

4. 研究成果

(1) 光療法による抗炎症効果の検討

血清IL-6濃度はLPS投与6時間後で自然光蛍光灯群は照度依存性の反応を示し,2500ルクス群で一般蛍光灯200ルクス群と比較して有意な低下を認めた(Fig.1)。同じ照度の2500ルクスでも自然光蛍光灯は一般蛍光灯と比較して有意な低下を認めた(Fig.2)。肺組織検査では自然光蛍光灯2500ルクス群で肺の炎症所見の改善が認められた(Fig.3)。

肝臓中の UCP2 の発現は自然光蛍光灯 2500ルクス群で一般蛍光灯 200ルクス群と比較して有意に増加した (Fig.4)

LPS投与後の血清IL-6濃度

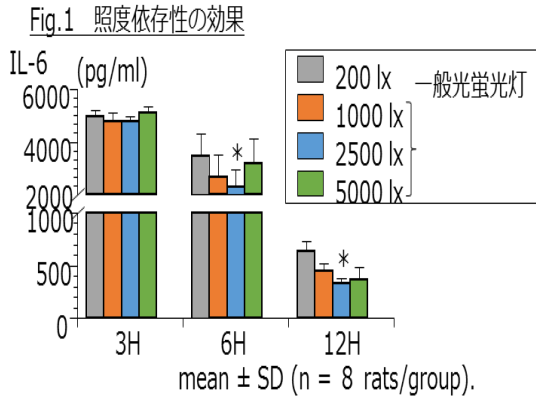


Fig. 2 光源による比較効果

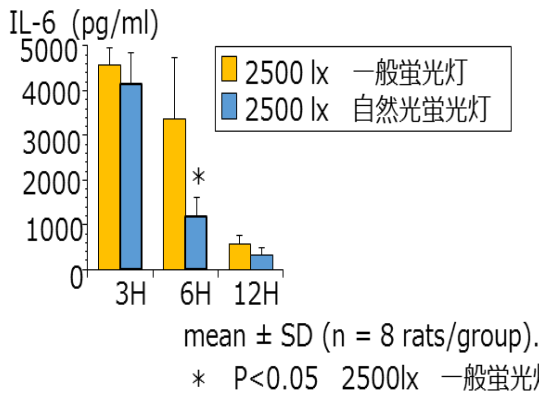


Fig. 3 肺組織の検討

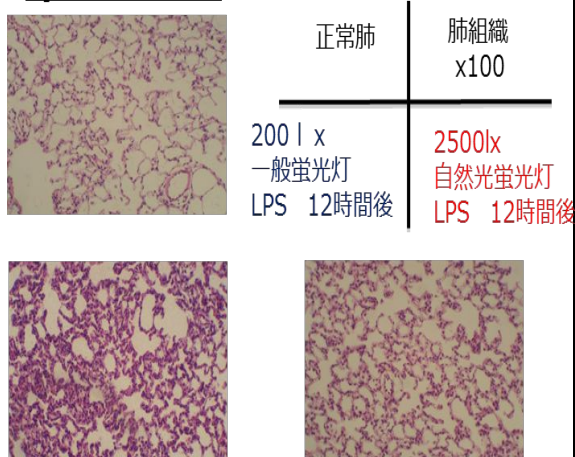
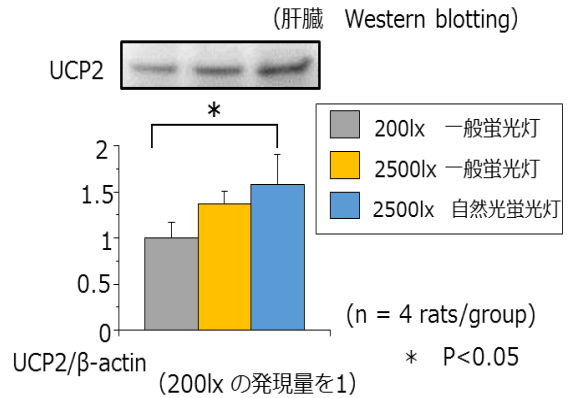


Fig. 4 光によるUCP2活性化



(2), 光療法の最適な照射方法の検討

波長 620nm 群で LPS 投与 12 時間後の血漿中の炎症性サイトカインの低下を認めた。

(3) 腹腔内マクロファージの炎症反応の検討

波長 620nm を 1 週間照射したマウスから抽出された腹腔内マクロファージは他の照射方法で光を照射された群と比較して LPS 投与による炎症性サイトカインの産生能に有意差は認めなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

現在論文を準備中

〔学会発表〕(計 1 件)

小山 淑正, 古賀 寛教ら. 自然光蛍光灯を用いた光線療法はマウス敗血症モデルの炎症反応を軽減する
Phototherapy with artificial light suppresses inflammatory response in a rat septic model. 日本麻酔科学会第 61 回学術集会. 2014 年 5 月 パシフィコ横浜 (神奈川県横浜)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小山 淑正 (YOSHIMASA OYAMA)

大分大学 医学部・助教

研究者番号：40468012

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし