

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 1 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25750169

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炎症制御法の確立

研究課題名(英文)Regulation of neuroinflammation by low-reactive level laser irradiation

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・ライフサイエンス技術基盤研究センター・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)：近赤外光は生体の透過性に優れ、炎症部位に低出力で照射することで副作用なく炎症抑制作用を示す。本研究では、ラットの頭部に体外から照射した近赤外光が脳内に到達していることを明らかにした。また本研究で脳内神経炎症を惹起させたラット頭部に近赤外レーザー照射したところ、脳内神経炎症がやや抑制されることを見出した。さらに、脳内神経炎症を引き起こしたラット脳組織のメタボローム解析を行なったところ、エネルギー代謝に関連する物質などに変化が見られた。現在、レーザー照射が脳内炎症時の代謝状態にどのような影響を及ぼしているのかに着目して解析を行なっている。

研究成果の概要(英文)：Low-level laser therapy (LLLT) has recently been used as a new anti-inflammatory clinical therapy and is associated with few, if any, side effects. In the present study, we clarified that externally directed LLLT could penetrate into brain and that LLLT slightly suppressed the expressions of inflammatory cytokines in rat brain. Next, metabolome analysis of brain showed that the changes in many metabolites related to energy production or neurotransmission were observed. Now we focus on the effect of LLLT on change of energy metabolism in the brain during neuroinflammation.

研究分野：神経科学

キーワード：近赤外レーザー 脳内神経炎症 エネルギー代謝

1. 研究開始当初の背景

近赤外波長のレーザーは、炎症部位に低出力で照射することで副作用なく炎症抑制効果を示すことからリウマチや皮膚炎治療などで用いられている。しかしながら、近赤外レーザーによる抗炎症作用はこれまでに関節や皮膚等の体表面に近い部位を対象にした研究が大多数であった。申請者らは、先行研究で近赤外光の体外からの照射が深部臓器である腎臓に達し、腎炎を抑制することを報告した(引用)。近赤外レーザーの照射は体外から部位を局限して行なうため、その効果は腎臓のみならず生体深部のさまざまな炎症反応の制御に応用できる可能性がある。そこで申請者は近年、アルツハイマー病やうつ病など、さまざまな脳疾患に関与していることがわかりつつある脳内神経炎症に着目し、体外からのレーザー照射により脳疾患を改善できないかと本研究の着想に至った。近年、脳疾患の新規治療を目的として抗炎症物質に対して再び着目がされ始めているが、脳内炎症を抑制する薬剤の開発は、血液脳関門の透過性等の問題や、長期服用による多臓器への副作用等の問題により開発が困難とされ、現在有効な物はほとんどない。

2. 研究の目的

本研究では、まず光の脳内への透過性や発熱などへの影響を調べるため、ラットの脳内にフォトセンサー、熱電対を挿入し、Ga-Al-As 半導体レーザーの脳内への透過率の確認を行なった。また、LEDを用いて様々な波長で同様の実験を行ない、波長による特性を確認した。さらに脳内神経炎症を引き起こしたラットの頭部にレーザーを照射し、炎症性サイトカインの発現の変化を確認する。また、脳内神経炎症やそれにレーザーを照射することで脳の細胞内エネルギー代謝への影響を明らかにするため、メタボローム解析を行なった。

3. 研究の方法

近赤外レーザーの頭部照射がどの程度の深さまで光が脳へ到達するのかを明らかにするため、麻酔下にラットの脳を歯科用ドリルにより脳表面の一部を露出させ、直径約1mmのフォトセンサーを脳の頭頂部より垂直に脳内へ挿入した状態で、頭上に固定したファイバーから近赤外レーザーの照射を行なった。光計測器と連結したフォトセンサーはマニピュレーターに固定し、0.5mm ずつ深度を下げ、各点でリアルタイムに計測した。ま

た、525nm、630nm、735nm、940nm にそれぞれピーク波長を持つLED光を同様の方法で照射し、波長の違いによる光の到達性の違いを計測した。また、合成二本鎖RNAである poly I:C を投与することにより脳内神経炎症を引き起こしたラットの頭部に近赤外レーザーを照射し、炎症性サイトカイン発現の変化をリアルタイム RT-PCR により計測した。また、脳内神経炎症を起こしたラットの大脳皮質における代謝物の網羅的解析を LC/MS/MS により行なった。

4. 研究成果

脳内への近赤外光の透過性は、今回用いた光源の中では830nmが最も優れていたが、どの波長の光も深くなるにつれて検出光は小さくなった。しかしながら、どの波長も大脳皮質表面から少なくとも8mm程度までは光が進達する事が分かった。このような基礎データや計測手法は今後他の深部臓器を対象にした際にも応用ができる。また、実際に脳内炎症を引き起こしたラットの頭部に麻酔下で近赤外レーザー照射を行なったところ、大脳皮質における炎症性サイトカインの発現をやや抑制することが明らかになった。今後は照射時間、照射強度など、抗炎症効果を得る事ができる照射条件の最適化を行なっていく予定である。

一方、先行研究から近赤外光による細胞機能調節作用の一つとして、エネルギー代謝を改善して細胞内ATPを増大させることが知られている。さらに申請者らはTCAサイクルを阻害してエネルギー代謝を低下させた動物モデルにおいて、脳内神経炎症が誘発されることを明らかにしている。これらのことから、近赤外レーザー照射による炎症抑制作用は細胞エネルギー代謝の調節作用が関与している可能性が考えられた。そこで、脳内神経炎症を引き起こしたラット大脳皮質のメタボローム解析を行なったところ、正常ラットの大脳皮質と比較してバリン、ロイシン、イソロイシンなどのアミノ酸、クレアチニンやカルニチン等、エネルギー産生に関連する物質が低下していることが分かった。また、グリシンやGABA、グルタミン酸、アスパラギン酸などの神経伝達に関連している物質も低下していることが分かってきた。今後は近赤外レーザーを照射することによってこれらの代謝状態がどのように変化するのか等を明らかにしていく。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 7 件)

Yamato M, Kataoka Y Fatigue sensation following peripheral viral infection is triggered by neuroinflammation: who will answer these questions? Neural Regeneration Research, 査読あり, 10:pp203-204, 2015

Kume S, Yamato M, Tamura Y, Jin GH, Nakano M, Miyashige Y, Eguchi A, Ogata Y, Goda N, Iwai K, Yamano E, Watanabe Y, Soga T, Kataoka Y Potential Biomarkers of Fatigue Identified by Plasma Metabolome Analysis in Rats, PLOS ONE, 査読あり, 10:e0120106, 2015
片岡洋祐、大和正典、金田明 生体への近赤外レーザー照射と抗炎症効果, 光アライアンス, 査読なし, 25:pp13-17, 2014

大和正典、金田明、片岡洋祐 近赤外レベルレーザーによる腎炎抑制効果, 日本レーザー医学会誌, 査読あり, 34:pp402-405, 2014

Yamato M, Tamura Y, Eguchi A, Kume S, Miyashige Y, Nakano M, Watanabe Y, Kataoka Y. Brain Interleukin-1beta and the Intrinsic Receptor Antagonist Control Peripheral Toll-like Receptor3-mMediated Suppression of Spontaneous Activity in Rats, PLOS ONE, 査読あり, 9(3):e90950, 2014

Yamato M, Kaneda Y, Kataoka Y. Low-level laser therapy improves crescentic glomerulonephritis in rats, Lasers in Medical Science, 査読あり, 28(4):pp1189-96, 2013

Kataoka Y, Yamato M, Miyashige Y, Tamura Y, Cui YL. Neuroinflammation in Animal Model of Fatigue, Advances in Neuroimmune Biology, 査読あり, 4(4):pp237-244, 2013

〔学会発表〕(計 9 件)

大和正典、久米慧嗣、中野真行、江口麻美、高田孔美、田村泰久、片岡洋祐 エネルギー代謝を低下させた疲労動物モデルにおける脳内神経炎症の惹起、第12回日本疲労学会、2016年5月20-21日、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

Yamato M, Kume S, Miyashige Y, Nakano

M, Tamura Y, Eguchi A, Kataoka Y. The relationship between neuroinflammation and changes in brain energy metabolism in prolonged suppression of spontaneous activity induced by monofluoroacetate, an inhibitor for TCA cycle, 第38回日本神経科学大会、2015年7月28-31日、神戸国際会議場(兵庫県神戸市)

大和正典、久米慧嗣、金光華、中野真行、江口麻美、田村泰久、片岡洋祐 エネルギー代謝の低下に着目した疲労動物モデルに置ける脳内神経炎症の惹起、第11回日本疲労学会、2015年5月15-16日、山口県総合保険会館(山口県山口市)

大和正典、金田明、片岡洋祐 近赤外低反応レベルレーザー照射による腎炎抑制効果、レーザー学会学術講演会第35回年次大会、2015年1月11-12日、東海大学(東京都港区)

Yamato M, Kume S, Miyashige Y, Nakano M, Tamura Y, Eguchi A, Kataoka Y. Neuroinflammation is possibly involved in prolonged suppression of rat spontaneous activity induced by monofluoroacetate, an inhibitor for TCA cycle, Neuroscience 2014, 2014年11月15-19日、Walter E. Washington Convention Center (Washington DC)

Yamato M, Kume S, Jin GH, Miyashige Y, Nakano M, Tamura Y, Kataoka Y Possible involvement of neuroinflammation in prolonged suppression of rat spontaneous activity by monofluoroacetate, an inhibitor for TCA cycle, 第37回日本神経科学大会、2014年9月11-13日、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

大和正典、金田明、片岡洋祐 近赤外低反応レベルレーザー照射による腎炎抑制効果、第26回日本レーザー治療学会、2014年6月28-29日、ステーションコンファレンス万世橋(東京都千代田区)

大和正典、久米慧嗣、金光華、宮繁志治、中野真行、江口麻美、田村泰久、片岡洋祐 エネルギー代謝の低下に着目した疲労動物モデルの作成と評価、第10回日本疲労学会、2014年5月30-31日、コングレコンベンションセンター(大阪府大阪市)

Yamato M, Tamura Y, Maki K, Riquimaroux H, Kataoka Y Regulation of various

cellular functions by low-reactive level near-infrared laser irradiation, The 2013 International Conference on Brain and Health Informatics, October 29-31, 2013, Maebashi Terrsa (Maebashi, Gunma, Japan)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 2 件)

名称：疲労のバイオマーカーおよびその利用
発明者：片岡洋祐、久米慧嗣、大和正典、他
6名

権利者：同上

種類：特許

番号：PCT/IB2011/00197

出願年月日：2014年8月29日

国内外の別：国内

名称：炎症抑制方法、および炎症抑制用照射装置

発明者：片岡洋祐、大和正典、竹田昂司、西口英二

権利者：同上

種類：特許

番号：2014-112544

出願年月日：2014年5月30日

国内外の別：国内

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大和 正典 (Masanori Yamato)

国立研究開発法人理化学研究所・ライフサイエンス技術基盤研究センター・研究員

研究者番号：50565778

(2) 研究分担者

研究者番号：

(3) 連携研究者