

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：32690

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350548

研究課題名(和文) 低出力レーザーおよびLEDによる心拍の光制御に関する基礎的研究

研究課題名(英文) A basic study on the effects of low-power laser irradiation and LED irradiation on the cardiac activity

研究代表者

木暮 信一 (Kogure, Shinichi)

創価大学・理工学部・教授

研究者番号：10133448

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：心臓の活動への低出力レーザー照射(LLI)やLED照射の影響を明らかにするため、本研究を行った。アフリカツメガエル心臓の自動性に対して、緑色LLIは一過性の頻脈化を起こし、高い心拍数を維持しながら、心停止までの時間を延長させた。緑色LED照射によっても類似の傾向性が認められた。赤色LLIは徐脈化を起こし、心停止までの時間を短縮させたが、赤色LED照射は緑色LLI/LED照射効果と似たような効果が見られた。心房細動性不整脈をもつ被験者への緑色LED照射は、心房細動の出現回数を減少させ、P波のそれを増加させた。本研究結果から、緑色LLI/LED照射は心臓の活動を活性化/正常化させると考えられた。

研究成果の概要(英文)：In this study, the effect of low-power laser irradiation (LLI) or LED irradiation on cardiac activity of frogs as well as a patient were examined. The green LLI (532 nm) or LED (532±10 nm) irradiation to the frog heart induced a transient tachycardia, made keeping relatively higher heart rate, and prolonged the time to arrest. The red LLI (808 nm) induced bradycardia and shortened the time to arrest, while red LED (660±10 nm) showed the same tendency as green LED property. In the case of human patient who has arrhythmia with atrial fibrillation (Af), green LED decreased the Af appearance and increased the P-wave appearance on his ECG. Therefore it is suggested that at least the green LLI or LED irradiation can activate or normalize the cardiac activity.

研究分野：神経生理学

キーワード：低出力レーザー LED ECG 自動性 心房細動性不整脈

1. 研究開始当初の背景

(1) 心臓の自動能に関しては、ペースメーカー細胞の存在、一連のイオンチャネルの開閉、興奮伝導系の存在によって制御されていることが明らかにされている。さらに異所性興奮源が心筋の自動能亢進や期外収縮を引き起こしたり、興奮の再入による不整脈を発生させたりする機序も一部解明されてきた。また心拍の揺らぎパターンを解析することによって心房細動などの重大な心疾患が捉えられることも報告されてきた。しかし、従来の治療法に加えて、iPS 細胞による心筋シートやレーザーを利用した新たな治療法への期待感も高まっている。

(2) 1980年代から生体組織への低出力レーザー照射(LLI, 平均出力: $10^0\sim 10^2\text{mW}$)効果が報告されるようになり、抗炎症作用・創傷治癒促進作用・神経再生促進作用・疼痛緩和作用・筋疲労遅延効果などの有効性が認められている。その作用機序は不明な点もあるが、LLIが細胞のミトコンドリアに吸収され、さまざまな細胞内シグナル伝達系に影響を与えることが支持されている。

(3) 心臓に対するLLI効果を検討した研究として以下の二つの報告がある。一つは冠状動脈疾患をもつ患者に He-Ne レーザー照射(632nm, 10mW)を胸部上から1週間に6日、1日15分間行い、それを1ヶ月続けて患者の心肺機能の有意な改善をみたというものである。もう一つは、新生仔ラットから取り出した培養心筋細胞にパルスレーザー照射(780nm, 15-30mW)を行い、細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇や同期した収縮活動を観測したというものである。

(4) 以上のように心臓に対するLLIやLED照射効果を検討した研究は少ない。その効果や機序の解明は、心疾患に対する新たな治療法の開発につながるものと考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、低出力レーザーおよびLEDを用いて心臓に照射し、その自動性への影響を明らかにすることである。そのために、アフリカツメガエルの心臓の自動性へのLLI効果を明らかにする、同様な実験系でLED照射効果を明らかにする、ヒト心房細動性不整脈へのLED照射効果を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) アフリカツメガエルの心臓の自動性へのLLIおよびLED照射効果に関する研究方法

アフリカツメガエルを低温麻酔で非動化

し脊髄・脳破壊によって安楽死させる。胸部・腹部の一部を切開し、心臓を直視下に置く。心臓の左右端に電極を配置し、心電図(ECG)を第1誘導で記録する。

心拍をLLIの場合は心停止まで、LED照射実験では90分間記録する。最初の1分間あたりの心拍数を100%として時間ごとの心拍数を基準化する。

405nm($28\text{mW}/\text{cm}^2$)、532nm($60\text{mW}/\text{cm}^2$)および808nm($60\text{mW}/\text{cm}^2$)のLLIを用いて、心臓表面から4cm離して90分間連続照射する。緑($532 \pm 10\text{nm}$; $7\text{mW}/\text{cm}^2$, $n=31$)および赤色($660 \pm 10\text{nm}$; $7\text{mW}/\text{cm}^2$, $n=31$)のクラスター型LEDで同様に照射する。

実験終了後、心臓を取り出し凍結させる。ATP測定キットを用いて、発光輝度に基づいてATP含有量を測定する。

(2) ヒト心房細動性不整脈へのLED照射効果に関する研究方法

被験者は心房細動性不整脈をもっている研究代表者とする。簡易ベッドに仰向けで横たわり、左右の手首および左足首に電極を装着させる。生体電気増幅器を用いて、第1誘導でECGを30分間記録する。隔日に週3回、非照射で2週間、照射下で6週間行った。

緑色のクラスター型LED装置($532 \pm 10\text{nm}$; $7.2\text{mW}/\text{cm}^2$, $n=36$)を心臓上部の胸部皮膚上にゴムバンドで固定し、30分間連続照射する。

測定日のECGから適当に1分間データを5箇所選び、心房細動(Af)およびP波の1分間当たり出現回数を測定する。

基本的な統計解析を行い、有意差検定にはt-test(両側検定、対応なし、等分散)を用いる。

4. 研究成果

最初にアフリカツメガエル心臓の自動性への影響について、次いでヒト不整脈への影響について簡条的に述べる。

(1) カエル心臓の自動性へのLLI効果

図1に1時間後との平均心拍数の変化が示してある。緑LLIの場合、心拍減少が最も緩やかであった。心停止までの時間も約20時

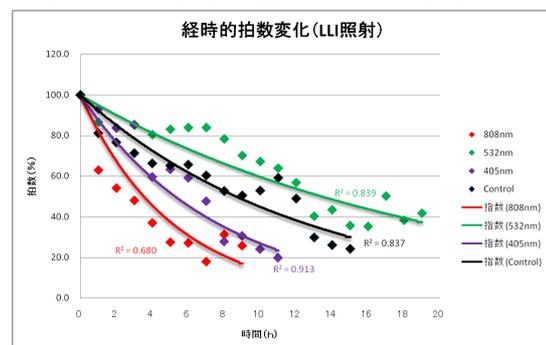


図1. LLIによる心拍数変化

間で、非照射群と比較して有意に長かった。赤 LLI は急激に徐脈化させ、心停止までの時間も約 9 時間であった。また自律系の伝達物質による滴下効果と比較した場合、緑 LLI がノルアドレナリンと、赤 LLI がアセチルコリン効果と似ていた。緑 LLI と赤 LLI 効果の相反性が明らかとなった。

(2) カエル心臓の自動性への LED 照射効果

LED 照射の場合、90 分間 ECG を記録し、10 分間隔で基準化された心拍数を解析した。30 分、60 分、90 分後の平均心拍数が図 2 に示してある。非照射群が 72%、63%、56%と急激に徐脈化していることが認められる。緑 LED 群は 98%、94%、92%であり、有意に高い心拍数を維持した。赤 LED 群も 89%、83%、71%で非照射群と比較して有意に高い心拍数を維持した。

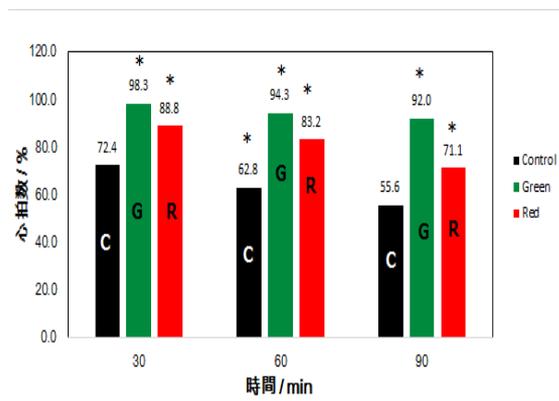


図 2. LED 照射による心拍数変化

(3) LED 照射後の ATP 測定結果

90 分の ECG 記録のあと、心臓を取り出し凍結させた。ATP 測定キットを用いて ATP 含有量(ATP/タンパク質量)を測定した。非照射群では 3089 ± 1277 (n=6)、緑 LED 群では 62 ± 22 (n=8)、赤 LED 群(n=8)では 1672 ± 632 であった。

(4) ヒト心房細動性不整脈への緑 LED 照射効果

カエル心臓の自動性への LLI/LED 照射効果の研究から、緑色の LLI や LED には心臓の活動を増強させる効果があるとわかったので、ヒトへの実験には緑 LED を用いることにした。実験日の照射開始前にコントロールとして ECG を 5 分間記録し、1 分間あたりの Af および P 波の平均出現数を計測した。同様に、照射開始後の ECG 記録から 5 箇所選び、1 分間あたりの Af および P 波の平均出現数を計測した。

その結果を図 3 に示した。非照射時の Af の平均出現数は 4.6 ± 1.0 、P 波は 4.8 ± 1.6 であった。照射時の Af は 3.5 ± 0.3 と、有意差はないものの(p=0.1260)、減少傾向を示した。

P 波出現回数は 7.7 ± 1.1 で、有意に上昇した(p=0.0455<0.05)。

実験開始前には被験者 ECG には期外収縮も認められていたが、今回の実験中においては全く認められなかった。

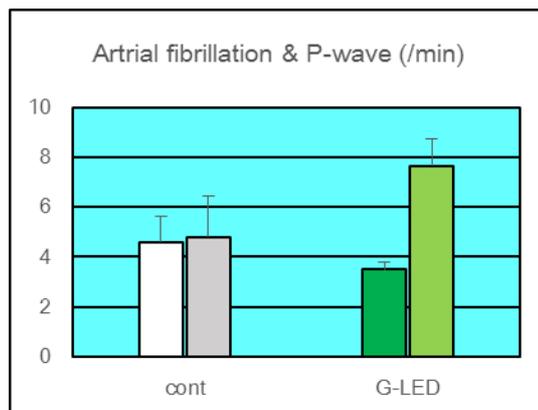


図 3. ヒト心電図への LED 照射効果

(5) 結果のまとめと考察

本研究の結果を以下のようにまとめることができる。

カエル心臓の自動性に対して、緑 LLI は一過性の頻脈化と心停止までの時間延長を引き起こし、赤 LLI は徐脈化とともに心停止までの時間を短縮させる効果をもつ。

カエル心臓の自動性に対して、緑 LED 照射は心拍数の増加とその維持をもたらす、赤 LED 照射も同様な効果をもたらした。

カエル心臓の自動性に対する緑および赤 LLI の相反的效果は、LED 照射では認められなかった。

ヒト心房細動性不整脈に対する緑 LED 照射は Af の減少および P 波出現の上昇をもたらすところから、心疾患治療への適用の可能性が考えられた。

以上の結果から、LLI や LED 照射は心臓の機能へ影響を与えることができると考えられる。ただし、波長依存性やパワー依存性、照射時間依存性などを詳細に検討する必要がある。

培養細胞レベルの研究で、光がミトコンドリアの呼吸鎖の複合体に吸収されることがわかってきている。確認されたわけではないが、青は複合体 I、緑は複合体 III、赤は複合体 IV に吸収される。その違いによって青は活性酸素を産生し、緑および赤は ATP 産生を促進する。またミトコンドリアの形態観測から、緑は顆粒型のミトコンドリアを増やし活性化をもたらす、赤は融合型のミトコンドリアを増やして不活性化をもたらすという。

こうした観点から本研究の結果を考えると、緑色の LLI および LED 照射は心筋のミトコンドリアを活性化させ、心筋細胞内シグナル伝達系を介して心臓の自動性を適切に制御するのではないかと考えられる。

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3件)

飯塚夏海, 石井美咲, 福崎由美, 木暮信一. ミトコンドリア電子伝達系のシトクローム c オキシダーゼに対する 405/532/660 nm 低出力レーザー照射効果. レーザー学会誌, 査読有, RTM-14-41, p.7-10, 2014.

木暮信一. 「低反応レベルレーザー治療の現状」の特集へ向けて. 日本レーザー医学会誌, 査読有, 34(4), p.382-383, 2014.

Y. Fukuzaki, H. Shin, H. D. Kawai, B. Yamanoha, S. Kogure. 532 nm low-power laser irradiation facilitates the migration of GABAergic neural stem/progenitor cells in mouse neocortex. PLOS ONE, 査読有, Apr 28;10(4):e0123833. 2015.
doi: 10.1371/journal.pone.0123833.

[学会発表](計17件)

木暮信一, 菅原はるな, 福崎由美, 山之端万里. ヒト由来脳腫瘍細胞のミトコンドリアへの低出力レーザー照射効果. 第26回日本レーザー治療学会, 2014, 6/28-19, 京王プラザホテル(新宿).

K. Tsuchiya, Y. Sato, A. Kobayashi, S. Kogure. Effects of Guanfacine on acute kindling-induced afterdischarges in the rabbit hippocampus CA1. 10th AOEC, 2014, 8/7-10, Singapore.

池脇和彦, 伊藤綾香, 木暮信一. カエル心臓の自動性に対する LED 照射効果: 波長依存性・照度依存性・照射時間依存性の検討. 第3回ニューロフォトニクス研究会. 2014, 11/7, 北海道大学(札幌).

飯塚夏海, 石井美咲, 福崎由美, 木暮信一. ミトコンドリア電子伝達系のシトクローム c オキシダーゼに対する 405/532/660 nm 低出力レーザー照射効果. 第3回ニューロフォトニクス研究会, 2014, 11/7, 北海道大学(札幌).

木暮信一, 池脇和彦, 伊藤綾香. カエル心臓の自動性に対する LED 照射効果. 第35回日本レーザー医学会, 2014, 11/29-30, 京王プラザホテル(新宿).

木暮信一, 池脇和彦, 伊藤綾香. 心筋の活動に対する LLI/LED 照射効果およびその作用機序の考察. 第18回日本レーザー・スポーツ

医科学会. 2014, 12/13, 慶応大学(日吉).

松島恵子, 野瀬将吾, 稲垣雄大, 上田彩華, 井上尚也, 福崎由美, 木暮信一. カエル腓腹筋の筋収縮に対する LED 照射効果と ATP 測定. 第19回日本レーザー・スポーツ医科学学会, 2015, 12/12, 持田製薬本社(四谷).

諸井玲奈, 沖見伸一, 條大地, 福崎由美, 木暮信一. ヒト由来皮膚細胞への LED 照射効果. 第19回日本レーザー・スポーツ医科学学会, 2015, 12/12, 持田製薬本社(四谷).

N. Inoue, K. Tsuchiya, M. Inagaki, A. Ueda, S. Kogure. Alpha-2A adrenergic agonist guanfacine hydrochloride suppress acute kindling-induced afterdischarges in a dose dependent manner. 69th American Epilepsy Society, 2015, 12/4-8, Philadelphia(USA).

堀本美菜, 井上尚也, 木暮信一. カエル心臓の自動性への LED 照射効果. 第36回日本レーザー医学会, 2015, 10/24-25, 栃木総合情報文化センター(宇都宮).

野瀬将吾, 松島恵子, 木暮信一. カエル腓腹筋の筋収縮への LED 照射効果. 第36回日本レーザー医学会, 2015, 10/24-25, 栃木総合情報文化センター(宇都宮).

木暮信一, 福崎由美, 諸井玲奈. ヒト由来脳腫瘍細胞への低出力レーザー照射効果とヒト由来皮膚線維芽細胞への LED 照射効果. 第28回日本レーザー治療学会, 2016, 6/25-26, 横浜情報文化センター(横浜).
特別シンポジウム「培養細胞への低出力レーザー / LED 照射効果」

木暮信一, 井上尚也, 野瀬将吾, 松島恵子. 骨格筋の単一収縮曲線および ATP 含有量への LED 照射効果. 第28回日本レーザー治療学会, 2016, 6/25-26, 横浜情報文化センター(横浜).
シンポジウム: 整形外科「運動器に対する光線治療法の効果」

井上尚也, 木暮信一, 堀本美奈, 上田彩華, 松島恵子. カエル心臓の自動性および ATP 含有量への LED 照射効果. 第28回日本レーザー治療学会, 2016, 6/25-26, 横浜情報文化センター(横浜).

條大地, 一藤木広一, 金松孝司, 池田護, 井上尚也, 福崎由美, 木暮信一. ヒト由来皮膚線維芽細胞への LED 照射効果. 第37回日本レーザー医学会, 2016, 10/21-22, 旭川グランドホテル(旭川).

播磨勇希, 條大地, 井上尚也, 福崎由美, 木

暮信一. iPS 細胞への LED 照射効果. 第 37 回日本レーザー医学会, 2016, 10/21-22, 旭川グランドホテル(旭川).

(4)研究協力者
()

播磨勇希, 根本正史, 川井秀樹, 木暮信一. ウェラブルカメラを用いたラット感覚野における光学的脳活動イメージング. 第 94 回日本生理学会, 2017, 3/28-30, 浜松アクトシティコンgresセンター(浜松).

〔図書〕(計 2 件)

木暮信一. 『生命科学』(通信教育学部「生命科学」教科書), 精興社, 2014. 227 ページ.

木暮信一. 『ミトコンドリアはミドリが好き! - 究極のヒューマン・パワー・プラント』, 東京図書出版, 2015. 218 ページ.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

取得状況 (計 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

木暮 信一 (KOGURE, Shinichi)
創価大学・大学院工学研究科・教授
研究者番号 : 10133448

(2)研究分担者

()

研究者番号 :

(3)連携研究者

()

研究者番号 :