低出力レーザーの胃粘膜ミトコンドリア呼吸活性に及ぼす影響の検討

林 琢也¹⁾、田尻久雄¹⁾、守本祐司²⁾、荒井恒憲²⁾、菊地 眞²⁾、丹羽寛文¹⁾

1)防衛医科大学校第二内科、2)同医用電子工学講座

THE EFFECT OF LOW POWER LASER ON THE MITOCHONDRIAL RESPIRATION

Takuya Hayashi¹⁾, Hisao Tajiri¹⁾, Yuji Morimoto²⁾, Tsunenori Arai²⁾,
Makoto Kikuchi²⁾, Hirohumi Niwa¹⁾

1)The Second Department of Internal Medicine, National Defense Medical College

2)Department of Medical Engineering, National Defense Medical College

We investigated the respiratory function of isolated mitochondria from gastric fundic mucosa under irradiation of low intensity 514.5nm and 1063nm lights. Argon laser and Nd:YAG laser of which power were 200 mW irradiated to the mitochondrial suspension of 2 ml in volume. The respiratory function was measured by the Clark-type electrode. We found that the mitochondrial respiratory function was accelerated by both laser irradiations under compensation for the temperature elevation effect.

Our results may suggest the possible kinetics for cell-photo stimulation by low-intensity light irradiations. We wish to investigate the reason why different laser lights had the same effect on the mitochondrial respiration.

1、緒言：

第12回本学会大会シンポジウム”レーザー光と生体反応”において共同演者の守本らは、モルモット肝臓より単離したミトコンドリア懸濁液に各種波長の200mWのアルゴンレーザー照射し、波長514nmのアルゴンレーザーにミトコンドリア

の呼吸活性作用があり、低出力レーザーの生体刺激効果の作用機序の一つである可能性を示唆した¹⁾。また呼吸が促進した原因として、還元型チトクロームCの最大吸収スペクトルが、この波長に近く、この酵素が活性化された可能性を示唆した。今回我々は、家兔の胃底腺粘膜

図1、呼吸調節比の算出法

より単離したミトコンドリア懸濁液に波長1063 nmのNd:YAGレーザーとアルゴンレーザーを出力200mWで照射し、呼吸活性を求め、低出力レーザーのミトコンドリア呼吸活性に及ぼす影響を検討した。

2、対象・方法

対象動物として、日本白色家兔を用い、断頭後直ちに開腹し胃を摘出し胃底腺粘膜より守本らの方法¹⁾に準じミトコンドリアを単離し、波長580nmの吸光度が、0.2になるように懸濁液を調整した。

呼吸活性の測定法

ミトコンドリアは好気的な条件下において、内膜の電子伝達系で生じるエネルギーを、ATP合成のエネルギーに変換し、細胞にATPの形でエネルギーを供給する細胞内小器官である。図1において、基質としてコハク酸を加えたAの時期は静止呼吸期(state4)であり、酸素の消費は少ない。ADPを添加したBの活動呼吸期(state3)では、ADPをリン酸化しATPを合成する際に酸素が消費されるため(酸化的リン酸化)、酸素

図2、実験装置の概要

消費量が増減する。state3における酸素消費速度(グラフの傾き)のstate4における酸素消費速度に対する比率を呼吸調節比(RC ratio)といい、state3でのATP合成能を示す。

実験装置

図2に実験装置の概要を示す。レーザーは石英ファイバーで導光して照射した。ファイバー先端の反応層に対する三次元的な位置関係は常に一定になるように調整した。ミトコンドリアの呼吸によって消費される酸素はClarke型酸素電極で測定した。反応層内の温度変化も熱電対で連続的に測定した。

測定

以下の様に条件を設定した。

対照群Ⅰ：state3でADPを180nM添加し、消費酸素量を測定しRC ratioを算出した。

対照群Ⅱ：レーザー照射により不可避免的に生じる温度上昇の影響をみるための温度対照群であり、レーザーを単なる発熱体として用いた。具体的にはファイバーの先端を金属キャップで覆い、state3において出力200mWでNd:YAGレー

図3、活動呼吸期 (state3) における反応槽の温度変化
レーザー光を照射し、光のエネルギーを熱に変換し
RCratioを求めた。

対照群Ⅲ：同様の目的でアルゴンレーザー照射に対する、温度対照群として、state3において出力200mWでアルゴンレーザーを遮光して照射し、RCratioを求めた。

実験群Ⅰ：state3で出力200mWのNd:YAGレーザーを90秒照射し、RCratioを算出した。

実験群Ⅱ：state3で出力200mWのアルゴンレーザーを90秒照射し、RCratioを算出した。

3、結果

図3の如く、対照群Ⅱ及び実験群Ⅰ、Ⅱにおいて、0.1℃程度の極くわずかながら有意な温度上昇を、対照群Ⅰに対して認めた。対照群Ⅱと両実験群間には有意な温度差はなかった。

呼吸調節比の変化

図4の如くNd:YAGレーザー照射の実験群Ⅰでは対照群Ⅰ、Ⅱに比較し、有意なRCratioの上昇を認めた ($P < 0.05$)。図では対照群ⅢのRCratioは記していないが、アルゴンレーザー照射の実験群Ⅱも対照群に比べ、RCratioの上昇を認めた。実験群ⅠとⅡの間には、有意なRCratioの

図4、低出力レーザー照射による家兔胃体部粘膜
ミトコンドリア呼吸調節比 (RCratio) の比較

差は認めなかった。

4、考察

低出力のNd:YAGレーザーとアルゴンレーザーの両レーザー照射によりミトコンドリアの呼吸調節比の促進が見られた。ミトコンドリアは生体のエネルギー代謝に最も重要な役割を果す細胞内小器官であり、ミトコンドリアの呼吸活性の促進は、低出力レーザーの生体活性効果の作用機序の一つである可能性が示唆される。

本効果が波長1063nmのNd:YAGレーザーにも認められたことから、呼吸促進効果が可視域波長のレーザーのみに特異的なものではないと思われる。今後は低出力レーザー治療に汎用されている半導体レーザーを含め、さらに多くの波長のレーザーを用いた検討が必要であろう。また、異なる波長のレーザー光がミトコンドリア呼吸活性に対し同様の効果をもたらした機序については今後の検討を要する。

光の作用として光熱作用、光化学的作用、電磁気的作用などが考えられるが、今回導光ファイバー先端を金属キャップで遮光し、光が直接

ミトコンドリアに当たらないようにした温度対照群では、有意な温度の上昇が認められるにもかかわらず呼吸調節比は促進されなかった。これらの事実からレーザー照射による呼吸促進効果は温度上昇による熱作用ではないことが示唆される。今回の実験では、反応槽の懸濁液の温度を測定しており、ミトコンドリア自体の温度は不明である。ミトコンドリアは光吸収体であるので局所的に温度がより上昇している可能性がある。これらの可能性を証明するためには、ミトコンドリア単体の光吸収特性や熱環境について検討する必要があると思われる。

4、結語

波長514nmと1063nmのレーザーの低出力での照射により両者ともミトコンドリアの呼吸活性が促進されたが、単に温度上昇作用のみでは説明できないことがわかった。この作用は低出力レーザーの生体刺激作用の一機序にである可能性があるが、波長の異なる光に同様の効果がみられた機序については、さらに今後の検討が必要である。

参考文献

- 1) 守本祐司、荒井恒憲：Arレーザーのミトコンドリア呼吸活性に及ぼす影響。第12回日本レーザー医学会大会 大会論文集：103-106, 1991
- 2) Hogeboom GH, Schneider WC, Pallade GE: Cytochemical studies of mammalian tissue. J. Biochem : 619-624, 1948.