レーザー照射による「極興奮の法則」に対する抑制効果

小松 光昭¹, 松田 芳樹², 石井 良夫¹, 木暮 信一², 渡辺 一弘¹

¹創価大学大学院 工学研究科情報システム学専攻 (〒192-8577 東京都八王子市丹木町1-236)

²創価大学大学院 工学研究科生物工学専攻 (〒192-8577 東京都八王子市丹木町1-236)

Suppressive Effect of Laser Irradiation on the Law of Polar Excitation in Frog Sciatic Nerve

Mitsuaki KOMATSU,¹ Yoshiki MATSUDA,² Yoshio ISHII,¹

Shinichi KOGURE,² and Kazuhiro WATANABE¹

¹ Division of Information Systems Science, Graduate School of Engineering, SOKA University,
1-236 Tangi-cho, Hachioji, Tokyo 192-8577

² Division of Bioengineering, Graduate School of Engineering, SOKA University,
1-236 Tangi-cho, Hachioji, Tokyo 192-8577

(Received July 10, 2006)

We examined the effects of Ar⁺ laser (457, 488, 514 nm; 25, 50, 100 mW) irradiation on the law of polar excitation using frog sciatic nerve. The law of polar excitation is well known, as both cathode-make-excitation (CE) and anode-break-excitation (AE) are elicited when nerves are extracellularly stimulated with a longer pulse at suprathreshold intensity. Compound action potentials (CAP) were suppressed by the laser irradiation. Furthermore, the existence of irradiation conditions (power, wavelength) for greatly suppressing AE in comparison with CE was demonstrated. Ar⁺ laser irradiation did not suppress conduction but did suppress generation of CAP. It seems possible that only AE generation is suppressed by local irradiation using the Ar⁺ laser. Since the contribution of Hyperpolarization-activated channels (I_h) to AE generation had been demonstrated and I_h expression is associated with intractable epilepsy, the present results suggest a novel LLLT for intractable epilepsy as an alternative to I_h blockers.

Key Words: Laser irradiation, Ar⁺ laser, Compound Action Potential, Sciatic nerve, The law of polar excitation

1. はじめに

レーザーによる医学治療は、レーザーが発明された当初から応用分野の一つとして期待されていた。レーザーによる治療は非接触治療であるため、ウイルスなどの感染の危険性が少なく、治療による副作用が起こりにくい。ため薬物や手術に制限のある患者にも適用が可能であり、レーザースポットを絞り込むことにより治療を要する部位のみの局所的な治療が可能であるなど臨床において非常に重要な利点を有する。従来のレーザー治療はレーザーメスのような生体組織の切開、切除を行うものや網膜剥離の手術に用いる眼底凝固など高密度光パワーを利用したものが主である。

それに対し、組織やタンパク質を変性させない低出力レーザーには創傷の治癒促進、疼痛緩和、抗炎症作用など、さまざまな効果が見出されており、臨床で応用されてきた。これらの低出力レーザーによる治療はLLLT (Low reactive Level Laser Therapy: 低反応レベルレーザー治療) と呼ばれ、組織反応は生じるが、障害は起こさない治療

である。疼痛の治療を目的とするペインクリニックにおいてもレーザーが用いられており、レーザー治療は従来の薬剤による治療にみられるような合併症や副作用が少ないと言われており、他の治療法と比較して有力な治療手段となりつつある。また、レーザーは光ファイバへの導波が可能であり、臨床への応用として優れた利点を有している。

しかし、生体に対する低出力レーザーの作用メカニズムについては不明な点が多く、作用スペクトルも十分に検討されていない。また、臨床においても医師の経験などに基づく治療方法が用いられているのが現状である。そのため、安全面への考慮から中枢神経系の疾患治療には用いられず、末梢神経系の疾患治療にのみ用いられているのが現状である。

神経興奮に対するレーザー照射の影響に関して、様々な実験結果が報告されている。依田らは疼痛物質であるブラジキニンによる刺激応答が低出力レーザー照射 (GaAlAsレーザー 波長832 nm) によって可逆的に抑制されることを明らかにしたが、作用機構の更なる解明には分

子レベルでの研究が必要であるとしている^{1,2)}。小田・望月らの研究では、近赤外光レーザー照射によるラット脳組織内のATP含量の増加が神経活動へ影響を与える可能性を示唆している^{3,4)}。その他、作用機序は未解明であるものの、レーザー照射による神経細胞の興奮性の抑制、神経情報の伝導への影響などが議論されている⁵⁻¹³⁾。他方、低エネルギー量のレーザー照射により神経細胞の興奮性が上昇する場合や⁶⁻⁸⁾、レーザー照射による効果はない¹⁴⁾などの実験結果も報告されている。また、使用するレーザーの波長としては、生体に対して比較的高い透過性を持ち、散乱の小さい赤色から近赤外の波長が多く使用されており、紫から緑の波長帯の可視光はあまり使用されていない。

そこでレーザー照射を行うための基礎実験として、カエル坐骨神経標本の光学特性を評価したところ、吸収率は可視光領域と比較して近赤外光領域の方が高いという結果が得られた。このことから、近赤外光は吸収率が高く光浸達長が短く、神経標本に入射した近赤外光の多くは神経標本の表面近傍において吸収されるため、LLLTで用いられるパワーレベルにおいては神経標本の過度な加熱や熱蒸散を引き起こす可能性があり、神経細胞を構成するタンパク質が熱変性する可能性も考えられる。

また、神経細胞を構成するタンパク質は紫外光に対して大きな吸収特性を持っていることが知られている。紫外光は光子エネルギーが高く、生体組織を構成する分子の主要な結合の解離エネルギーを上回る(光解離蒸散)ため、紫外光レーザーの生体照射は、核の遺伝情報の損傷による発ガン性、ミトコンドリア損傷やアポトーシス発現による生体毒性も懸念されている。

よって、紫外光より光子エネルギーが低い可視光を用いることで無侵襲での実験を行うことが可能であり、赤外光より光浸達長が長いため、比較的低温による実験を行うことが可能となる。

現在、神経情報の伝達には神経線維に存在する種々のイオンチャンネルが重要な役割を果たしていることが知られており、レーザー照射がこれらイオンチャンネルに対して何らかの形で作用しているとされている。しかし、神経活動におけるイオンチャンネルの働きによって発生する「極興奮の法則」に対してレーザー照射効果の検討を行っている報告は見受けられない。これまでの筆者らの研究¹⁵⁻¹⁷⁾において、過分極性賦活電流(I_h)阻害剤であるZD7288をカエル坐骨神経標本に滴下した場合のAEに対する特異的な抑制効果は可視レーザーを照射した場合のそれと類似していることが示されている。しかしながら、その原因については形態学的変化も含めて、いまだ明確ではない。そこで、本研究では、この「極興奮の法則」に与える影響について、さらなる検討を加えるために、多波長発振のAr⁺レーザーの波長、出力に対する実験結果を再考しつつ、特に神経標本における照射部位の特異性についての実験的検討を行なっている。さらに、白色光源を導入して、単色性に関する特異性についても比較実験を行なった。これにより、神経活動へのレーザー照射効果のメカニズム解明の一助となり、また中枢神経系疾患治療への

応用が可能となると考えられる。

2. 活動電位の測定および実験方法

2.1 活動電位の発生原理

神経線維の一端に矩形パルス電圧発生装置で刺激電圧(Electrical Stimulation)を与えると、神経線維のもう一端では活動電位(Action Potential)とよばれる電位が測定される(Fig. 1)。活動電位は生体が外界からの刺激を受け、応答する際に中枢神経と末梢神経の間で伝達される電気的シグナルであり、神経内で出発点から到達点まで同じ大きさで減衰せずに伝達される。

神経線維は原形質膜と呼ばれる膜で覆われており、この原形質膜の内外では、外側の基準電極に対して内側がマイナスになるような電位差(約-80~-70 mV)が測定される。この電位は膜電位(Membrane Potential)と呼ばれ、神経線維が刺激を受けない限りこの電位差は変化しないので、静止電位(Resting Potential)と呼ばれる。神経線維に対して矩形パルス電圧発生装置により刺激を与えると静止電位は変化する。このとき内外の電位差が減少して静止電位からゼロに近づく方向(プラス方向)に動くことを脱分極(Depolarization)といい、逆に電位差がさらに増加しゼロから遠ざかる方向(マイナス方向)に動くことを過分極(Hyperpolarization)という。

Fig. 1は刺激の大きさに応じて膜電位が変化する様子を表したものである。ここで、Fig. 1 (a)から(b)のように刺激電圧の大きさを増加させると、脱分極のシグナルが起り、シグナルの大きさは電圧の大きさに原則として比例する。しかし、Fig. 1 (c)のように刺激電圧の大きさをさらに大きくした場合、膜電位がある一定の値に達すると膜電位は急激に上昇し、ゼロを超えてプラス側へ突き抜け(オーバershoot)、電位差が約40 mVにまで上昇する。その後は緩やかな経過で再び元の静止電位のレベル

Fig. 1 Waveform of action potential. (a), (b) The membrane potential changes in proportion to stimulus intensity. (c) The membrane potential rapidly rises when it reaches and over the threshold, and gently returns to resting potential afterwards.

にまで戻る。このような膜電位の応答シグナルが活動電位である。このように活動電位はニューロンの一部が脱分極されて一定の値に達することにより発生する。この一定の脱分極レベルのことをしきい値(Threshold)と呼ぶ。神経線維の内外には Na^+ や K^+ などのイオンが存在し、電荷をもったイオンがイオンチャネルと呼ばれる孔を出入りすることによって膜電位が変化し、活動電位が発生する。膜電位がしきい値を越えると Na^+ チャネルが開孔し細胞内に Na^+ が流入(内向き電流, Na^+ 電流)する。その後、 K^+ チャネルが開孔し、 K^+ が外部へ流出(外向き電流, K^+ 電流)し静止電位へと戻る。

実験に用いた神経標本は神経線維の束になっており、実際に測定される電位は個々の活動電位の合計であり、これを複合活動電位(Compound Action Potential: CAP)と呼ぶ。全ての神経線維が活動電位を発生する刺激を極大刺激と呼び、極大刺激を越える大きさの刺激電圧を与えてもCAPの大きさは変化しない。本研究では、このCAPがレーザー照射によってどのように変化するかを検討するため、極大刺激条件下でのCAPを測定した。

2.2 極興奮の法則

神経標本に長い持続(> 3 msec)のパルス刺激を与えると、刺激入力時には刺激電極の陰極側で脱分極が起こり、活動電位発生の原理から興奮性が高まりCAPが発生する。一方陽極側はパルス刺激の間過分極が起こり、パルス刺激切断時は脱分極し、CAPが発生する。このとき陰極側、陽極側で発生する神経の興奮をそれぞれ陰極閉回路興奮(cathode make excitation: CE)、陽極開放興奮(anode break excitation: AE)と呼ぶ。 Na^+ チャネルには不活性化過程があり、脱分極を与える前に過分極をあらかじめ与えておくこと(パルス刺激の間の過分極)により、脱分極(パルス刺激切断)による Na^+ 電流が大きくなる。それは Na^+ チャネルの中には静止時でも既に不活性化された状態にあるものが何%もあり、そのチャネルは脱分極を与える前の過分極によって解除され活性化準備状態に戻り、脱分極により開き得るチャネルの数が増えることによる。しかしFig. 2 (a)のような短いパルス刺激では、陰極側では神経の興奮性が高まり、CEが発生するが、陽極側では過分極が充分でないため、AEは発生しない。そのため、Fig. 2 (b)のように充分長いパルス刺激を与えることにより、陰極側だけでなく陽極側も興奮性が高まり、CAPが発生する。

このように一度の刺激によりCEとAEの二つのCAPが発生する現象を「極興奮の法則」(law of polar excitation)と呼ぶ¹⁸⁻²⁰⁾。本研究では、この「極興奮の法則」におけるCEおよびAEに対するレーザー照射効果について実験を行った。

2.3 実験装置および実験方法

実験装置の概要をFig. 3に示す。実験標本として体重55~80 gのアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)を使用した。アフリカツメガエルは水中に生息し、飼育しやすく年間を通じて産卵させることができるため多くの分野で研究

Fig. 2 Schematic diagram of the law of polar excitation. When the sciatic nerve is stimulated by a longer pulse (> 3 msec) with supramaximal intensity, CAPs are induced from not only the cathode but also the anode.

Fig. 3 Schematic diagram of laser and white light irradiation system, including the nerve specimen and CAP measurement system.

材料として使用されている。あらかじめ氷水を用いた低温麻酔でカエルを非動化し、脊髄および脳を破壊し致死させる。その後リンガー液(生理食塩水)を適宜注ぎながら解剖を行い、坐骨神経を脊椎レベルから膝関節部分まで摘出した。摘出した神経標本を実験装置にセットする。パルス幅10 msecの極大刺激強の電気刺激を発生させ、神経標本を刺激することにより「極興奮の法則」が誘発され、CEとAEそれぞれのCAPが神経標本上を伝導し、記録電極を介してメモリオシロスコープ上にCAPの波形が映し出される。オシロスコープに映し出された波形はX-Yレコーダにより記録され、CAP振幅を測定する。CAP振幅は個体により異なるため、この時のCAP振幅を100%(Control)として標準化し、レーザー照射時間に伴うCAP振幅の変化を測定した。神経標本をアクリル製の箱により保護することでレーザー照射実験中の神経標本の乾燥を防いだ。

実験には水冷式Ar⁺レーザー(NEC社製GLG3600E、波長457~514 nm、連続発振(CW)、最大出力2 W)を用い、照射パワー、照射波長をさまざまに変化させ実験を行い、CAP振幅に対するレーザー照射効果について検討を行った。

同様の条件で実験を数回繰り返し、標準化されたCAP振幅の平均(mean)、標準誤差(Standard error of the mean: SEM)を求めた。また、「極興奮の法則」におけるCEとAEの変化の有意差を検討するため、2群の平均値の差の検定を行なうStudentのt検定を用いた。これはCEとAEの変化に差がないと仮定し(帰無仮説)、帰無仮説が起これる確率

(有意確率：P値)を求めるものである。P値が有意水準 α を下回った場合に帰無仮説は棄却され、CEとAEの変化には有意差があるとみなすことができる。有意水準 α は5 % (0.05)に設定するのが一般的である。(後述するが)我々の研究によりAEはてんかん発作波の発現に深く関与していることがわかり、CEとAEの変化を比較することにより、レーザーによる効果的なてんかん治療を行なう照射条件を見出すことを目的とする。

3. レーザーおよび白色光源照射によるCAPの変化

はじめに、レーザー照射効果の実験と比較するための初期条件としてレーザー照射を行わない状態でCAP振幅を5 minごとに30 minまで測定する。その結果、30 min経過後のCEのCAP振幅は 106.6 ± 3.1 % (mean $\pm$ SEM)、AEのCAP振幅は 105.9 ± 3.2 %であり、時間経過におけるCAP振幅に変化は見られなかった。このことから、摘出した神経標本は30 minの実験において正常な神経活動を保っていることが確認された。また、両者間に有意差は認められず、CEとAEの変化に差異はみられなかった。

本章では、レーザーの照射パワー、波長、照射位置を様々に変化させた実験および白色光源照射実験を行い、この実験結果との比較・検討を行った。

3.1 CAP発生部位へのレーザー照射

3.1.1 照射パワー変化

実験では、光学ミラーを用いて神経標本に対し垂直にレーザーを照射する。神経標本の太さは個体により異なるため、光学レンズを用いてビーム径を適宜調整する(約1.4 mm)。電極径は約1 mmであり、陽極と陰極の間隔は約5 mmである。刺激電極の陰極側から約20 mmの距離に記録電極の陰極を設置し、さらに間隔5 mmの位置に記録電極の陽極を設置した。刺激電極の陽極側と陰極側の中間に照射位置を設定する。照射波長を514 nmに設定し、照射パワーを25 mW、50 mW、100 mWのそれぞれの場合においてレーザー照射によるCE、AEのCAP振幅の経時変化を測定した。

実験結果をFig. 4に示す。レーザー照射前のCAP振幅を

100 %とし、照射時間に対するCAPの変化をCE、AEそれぞれについてプロットした。Fig. 4 (a), (b), (c)はそれぞれ25 mW、50 mW、100 mW照射時の結果を表している。照射30 minの時点でのCEとAEのCAP振幅の平均は25 mW照射においてそれぞれ 88.4 ± 19.7 %, 76.3 ± 8.3 %, 50 mW照射において 82.3 ± 4.3 %, 72.1 ± 6.5 %, 100 mW照射において 84.7 ± 12.7 %, 75.2 ± 8.9 %であり、全ての場合においてレーザー非照射時と比較してCAP振幅の減少が確認された($P < 0.05$)。照射パワーによらずほぼ同程度の抑制効果が確認された。レーザーによる疼痛緩和効果は、発痛刺激の減弱、刺激伝達の抑制、下行性抑制系の賦活により得られるとされており⁵⁾、レーザー照射によってCAPが抑制されるということから、痛みなどの神経情報の伝達がレーザー照射によって抑制されており、本手法においても疼痛緩和と同様の効果が得られると考えられる。

レーザー照射30 minまでの各時間においてCEとAEの有意差検定を行ったところ、25 mWにおいては照射後20 minから両者間に有意差が認められ($P < 0.05$)、CEと比較してAEのCAP振幅の減少が大きかった。50 mWにおいては照射後30 minにおいて有意差が認められ($P < 0.05$)、25 mWの時と同様にAEのCAP振幅が抑制されていることがわかった。100 mWにおいては両者間に有意差が認められなかった。

これらの結果より、レーザー照射による神経活動の抑制効果は照射パワーに依らず、ほぼ同程度であることが確認された。また、「極興奮の法則」におけるCEとAEの抑制効果に対して有意差が認められ、AEが大きく抑制されていることがわかったが、照射パワーが大きい場合には有意差が認められなかった。

3.1.2 照射波長変化

3.1.1の実験と同様の実験装置を用いて、波長変化によるレーザー照射効果について実験を行った。照射パワーは50 mW、波長は457 nm、488 nmに設定し、レーザー照射方法、照射位置などは3.1.1と同様の条件で行った。それらの結果を3.1.1の波長514 nm、照射パワー50 mWの実験結果と比較してFig. 5に示す。Fig. 5 (a), (b), (c)はそれぞれ457 nm、488 nm、514 nm照射時の結果を表す。

Fig. 4 Results of laser irradiation at 25, 50 and 100 mW using laser at 514 nm wavelength. Differences between averaged amplitudes of CE and AE at 30 min were significant at 25 mW and 50 mW.

Fig. 5 Results of laser irradiation at 50 mW using laser at 457, 488, and 514 nm wavelengths. Differences between averaged amplitudes of CE and AE at 30 min were significant at 488 nm wavelength.

実験結果より、457 nm照射における照射30 minでのCEとAEのCAP振幅の平均はそれぞれ $46.8 \pm 17.9\%$ 、 $43.4 \pm 14.0\%$ 、488 nm照射において $79.8 \pm 7.9\%$ 、 $54.4 \pm 13.2\%$ 、514 nm照射において $82.3 \pm 4.3\%$ 、 $72.1 \pm 6.5\%$ であった。このことから同一の照射パワーであっても、照射波長を短波長にすることで神経活動の大きな抑制効果が得られることがわかった。

また、CEとAEのCAP振幅の変化を比較したところ、波長457 nmにおいて有意差は認められなかったが、488 nmの場合において照射10 minから両者間に有意差が認められ ($P < 0.01$)、AEのCAP振幅が大きく抑制されていることがわかった。514 nm照射において有意差が確認されたのは照射30 minであり、このことからAEのCAP振幅に対し、より大きな抑制効果を与える波長は488 nmであることが示唆された。2.2で述べたように、「極興奮の法則」においてCEとAEは異なるメカニズムによって発生しており、AEのCAPの発生に参与するイオンチャネルの活動に対し、選択的に抑制効果を与えるレーザー照射条件が存在することが考えられる。

3.2 神経標本全体へのレーザー照射

前項までの実験では、神経標本に対し電気刺激を付与している部位、即ちCAPの“発生”部位へのレーザー照射効果について実験を行った。ここでは、シリンドリカルレンズ等の光学系を用いて、神経標本全体(刺激と記録の両電極間)にレーザーが照射される実験系を構築した。摘出

した神経標本の太さは個体により異なるため、ビーム径をレンズによって調整し、神経標本全体にレーザーを照射した。

CAPの測定は前項までの実験と同様の実験系で行った。レーザー照射は波長488 nmにおいて100 mW、514 nmにおいて25 mWと100 mWの3通りについて行った。

実験結果をFig. 6に示す。Fig. 6(a), (b)より514 nm, 100 mWの場合の照射30 minにおけるCEとAEのCAP振幅の平均はそれぞれ $62.1 \pm 17.2\%$ 、 $73.8 \pm 20.1\%$ 、488 nm, 100 mWの場合の照射30 minにおけるCEとAEのCAP振幅の平均はそれぞれ $54.1 \pm 18.3\%$ 、 52.5 ± 7.5 であり、CAP発生部位への照射と同様に波長488 nmの場合の方が大きい抑制効果が得られた。

また、Fig. 6(b), (c)より、514 nm, 100 mWの場合の照射30 minにおけるCEとAEのCAP振幅の平均はそれぞれ $62.1 \pm 17.2\%$ 、 $73.8 \pm 20.1\%$ 、514 nm, 25 mWの場合の照射30 minにおけるCEとAEのCAP振幅の平均はそれぞれ $68.0 \pm 25.4\%$ 、 $63.6 \pm 34.8\%$ であり、前項までの実験結果と同様に、照射パワーの変化において抑制効果に差異はみられなかった。

しかし、いずれの場合においても前項での実験結果にみられたようなCEとAEの抑制効果の有意差は認められなかった ($P > 0.05$)。2.2で述べたようにCEとAEは異なるメカニズムによって“発生”しているが、発生したCAPの“伝導”に関してはCEとAEは同様のメカニズムによって伝導される。神経標本全体へのレーザー照射を行っているた

Fig. 6 Results of wide laser irradiation of the nerve specimen. 100 mW at 488 nm wavelength and 25 mW, and 100 mW at 514 nm wavelength. No significant differences in alterations were identified.

め, “発生”への影響は少なく, “伝導”への影響が大きいと考えられ, レーザー照射はAEの“発生”に対して選択的に抑制効果を与えていることが考えられる。

3.3 CAP発生部位への白色光源照射

レーザーの特長である単一波長の優位性を検討するため, 幅広い波長帯をもつ白色光源を使用し実験を行った。実験にはDolan-Jenner社製ファイバ光源Fiber-Lite170-Dを使用した。光源ランプにはハロゲンランプ(モデルEKE, 150 W, 21 V)を使用しており, 紫外(350 nm)から赤外(1800 nm)までの波長を有し, 照射パワーは最大で約28 mWの光源である。実験には約7 mWの照射パワーを用いた。

3.1の実験方法と同様に, 光学系を用いてファイバ光源を神経標本の太さに合わせて調節し(約1.4 mm), 神経標本のCAP発生部位に照射し, CAP振幅の測定を同様に行った。

実験結果をFig. 7に示す。照射後30 minにおいてCEのCAP振幅の平均は $93.0 \pm 5.5\%$ であり, AEのCAP振幅の平均は $67.2 \pm 11.5\%$ であった。両者間には統計的有意差は認められなかった($P > 0.05$)が, 今回使用した光源には3.2の結果で述べたようなAEに対して選択的に作用する波長も含んでおり, そのためにCEとAEのCAP振幅の変化に差がみられたのではないかと考えられる。

以上のことから, AEのみを選択的に制御するためには, 最適な波長を局所的に照射することが必要であり, そのための光源としてレーザーが最適であると結論づけられる。

4. おわりに

神経活動における「極興奮の法則」に対するレーザー照射効果についてカエル坐骨神経標本を用いて, レーザー照射条件を様々に変化させて実験を行い検討した。

CAP発生部位への照射において, 照射波長を514 nmに設定し, 25 mW, 50 mW, 100 mWの照射パワーで実験を行った結果から, いずれの照射パワーにおいてもCAPの減弱が確認され, 特に25 mW, 50 mW照射においてCEの

Fig. 7 Results of local white light irradiation using fiber. No significant differences in alterations were identified.

CAP振幅と比較してAEのCAP振幅の減弱が大きく, その効果に有意差が認められた。同様に, 照射波長457 nm, 488 nm, 514 nmにおいて照射パワーを50 mWに設定し実験を行った結果から, 波長488 nmの場合にCEとAEの減弱に有意差が認められた。このことからAEに対して選択的に抑制効果を与えるレーザー照射条件が存在することが示唆された。

また, 神経標本全体へのレーザー照射実験の結果からCAPの抑制効果は得られるものの, CEのCAP振幅とAEのCAP振幅には有意差が認められなかった。よってAEの発生部位に対してレーザーを照射することにより選択的な抑制効果が得られる, 即ちAEの“発生”のメカニズムに影響を与えていることがわかった。

神経標本のCAP発生部位への白色光源照射による実験においてもCAPの抑制効果は得られたが, CEとAEの有意差は認められずAEへの選択的な抑制効果は得られなかった。

以上のことから「極興奮の法則」におけるAEに対して選択的に作用する照射条件が存在し, その作用はCAPの“発生”に対して顕著であるということがわかった。よって最適な照射波長を用いて, 局所的にレーザーをCAP“発生”部位に対し照射することにより, AEのみの選択的な制御の可能性が示唆された。

神経活動に対するレーザー照射効果についてはイオンチャネルへの影響などさまざま議論されている。「極興奮の法則」におけるCEとAEの興奮性はそれぞれ異なるイオンチャネルの働きにより発生する。CEは通常のCAPと同様に Na^+ チャネルや K^+ チャネルにより神経細胞の内外へイオンが出入りすることにより電位が発生する。しかし, AEは持続的な過分極によって引き起こされるCAPであることからIhチャネルの関係性が考えられている¹⁵⁻¹⁷⁾。Ihチャネルは, 心筋細胞で発見され洞房結節のペースメーカー電位発生を担うチャネルとして知られてきたが, 近年の研究において脳内の広い領域で神経細胞膜にも存在することが明らかになった。また, てんかん脳においてこのIhチャネルのはたらきが長期にわたり増強されていることが報告され²¹⁾, てんかん様発作波の発現に関与していると考えられている。

AEに対して大きな抑制効果を示すレーザー照射条件が存在することは, レーザー照射がIhチャネルに作用している可能性を示すものである。今後, さらに研究を進めて, CEには影響を与えずAEのみを効果的に抑制する照射条件を見出すことができれば, レーザー照射によるてんかん治療にさらに一歩近づくとと言える。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり様々な助言を頂いた櫻田典世博士に深く感謝いたします。また, 実験・解析において協力を頂いた岩井博正氏, 本城 信行氏をはじめ研究室の皆様に感謝の意を表します。

参考文献

- 1) 依田 賢太郎：レーザー学会第23回年次大会講演予稿集 (2003) p.220.
- 2) K. Jimbo, K. Noda, K. Suzuki, and K. Yoda: *Neurosci. Lett.* **240** (1998) 93.
- 3) 小田-望月 紀子, 片岡 洋佑, 崔 翼龍, 田村 泰久, 山田 久夫, 部谷 学, 栗津 邦男：レーザー研究 **30** (2002) 542.
- 4) 片岡 洋佑：生物物理 **41** (2001) 247.
- 5) 飯島 一彦, 下山 直人, 下山 恵美, 田村 勝弘：ペインクリニック **15** (1994) 827.
- 6) 河谷 正仁, 土屋 喜由：ペインクリニック **16** (1995) 533.
- 7) 亀井 達哉：日本口腔外科学会雑誌 **34** (1988) 1584.
- 8) H. Matsushita, K. Kakami, A. Ito, M. Kaneko, A. Ishihara, K. Yoshida, and M. Fukaya: *Aichi-Gakukin Dent Sci.* **2** (1989) 19 (in Japanese).
- 9) 前多 一雄：歯科放射線 **12** (1972) 20.
- 10) Y. Tokita, M. Sunakawa, and H. Suda: *Lasers in Surg. Med.* **26** (2000) 398.
- 11) D. W. Ebert and C. Roberts: *Lasers in Surg. Med.* **21** (1997) 32.
- 12) R. Orchardson, J. M. Peacock, and C. J. Whitters: *J. Dentistry.* **26** (1998) 421.
- 13) U. Wesselmann, S. F. Lin, and W. Z. Rymer: *Physiol. Chem. Phys. & Med. NMR.* **23** (1991) 81.
- 14) U. Comelekoglu, S. Bagis, B. Buyukakilli, G. Sahin, and C. Erdogan: *Lasers in Surg. Med.* **30** (2002) 221.
- 15) M. Komatsu, H. Iwai, Y. Ishii, S. Kogure, and K. Watanabe: *Proc. The Third Asian Pacific Laser Symposium*, (2002). Laser Society of Japan, OSAKA, (2003) p. 638.
- 16) H. Iwai, M. Komatsu, G. Shiota, N. Honjoe, Y. Kubota, Y. Ishii, K. Watanabe, and S. Kogure: *Epilepsia.* **46** (2005) 92.
- 17) Y. Matsuda, M. Niwa, H. Iwai, S. Kogure, N. Honjoe, M. Komatsu, Y. Ishii, and K. Watanabe: *Lasers in Surg. Med.* **38** (2006) 608.
- 18) A. L. Hodgkin and A. F. Huxley: *J. Physiol.* **116** (1952) 497.
- 19) A. L. Hodgkin and A. F. Huxley: *J. Physiol.* **117** (1952) 500.
- 20) B. Frankenhaeuser and L. Widen: *J. Physiol.* **131** (1956) 243.
- 21) M. Kitayama, H. Miyata, M. Yano, N. Saito, Y. Matsuda, T. Yamauchi, and S. Kogure: *Epilepsia* **44** (2003) 20.