

【助成 41-03】

末梢の生物時計をマイクロ電流刺激することで「認知機能障害」の予防・治療を目指す

研究者 九州大学大学院薬学研究院 教授 松永 直哉

〔研究の概要〕

「体内時計の破綻は様々な疾患の誘発に影響している」。人間社会は多様化し、光にあふれ眠らない世界となっている。体内時計が生体機能にとって重要な役割をはたし、病気の程度や薬物治療効果に影響を及ぼすことが世界中の研究者より証明されつつある。つまり、体内時計機構を整えることは、健康増進、病の治療につながることを示す。しかし多様性を増す現代社会に応用できる体内時計を調節する簡便な方法は存在していない状況であった。そこで数年かけ私たちは、偶然にもマイクロ電流が細胞の時計遺伝子発現リズムを変容させる作用を有することを明らかにし、さらにこの作用を応用した新規の体内時計調整機器を開発した。すなわち時計の乱れにより障害される様々な生理機能が、マイクロ電流刺激により改善する機構を探求することで、新たな疾患の予防や治療法に応用できる可能性を秘めている。そこで本研究ではマイクロ電流刺激が及ぼす様々な影響について調査し、神経変性疾患や様々な病気に関わる免疫機能に関して報告する。

〔研究経過および成果〕

これまでに、神経伝達等に起因する生体内電位変化 (500 μ A 以下) を超えない電気刺激であるマイクロ電流刺激が、概日時計機構に影響を与えることを明らかにしている (Matsunaga et al., 2019)。この条件においては膜電位への影響や熱エネルギーの発生が殆ど認められないため、マイクロ電流刺激は基本的に痛みを伴わない侵襲性の極めて低い刺激条件である。このマイクロ電流刺激は創傷治療効果や疼痛緩和効果を有することが広く知られており、既に安全性が確立された医療機器として頻用されている。本研究では偶然にも発見したマイクロ電流刺激による末梢の免疫細胞の機能強化作用に着目し、様々な病態に影響する免疫機能の側面より研究を行った。本編では本邦で 2 人に 1 人が罹患するリスクの高いがんに焦点をあて報告する。

末梢の免疫機構における主要な細胞の一つにマクロファージがある。その細胞の機能のひとつが、食食による異物の除去である。この異物の食食機能は、病原菌や死細胞、またがん細胞、神経変性疾患の原因

分子である異常タンパク質の除去に重要とされている。

そこでまずは、マイクロ電流刺激がマクロファージの食食能に及ぼす影響を明らかにするため、マウスマクロファージ様細胞 RAW264.7 にマイクロ電流刺激を行い、オプソニン化蛍光ビーズに対する食食能に及ぼす影響を評価した。その結果、マイクロ電流刺激後 12 時間の細胞生存率は、対照群に類似していた。その一方で、培地に食食用にオプソニン化した蛍光ビーズを添加して測定し、細胞あたりの食食率および食食されたビーズ数の増加が認められた。以上の結果より、マイクロ電流刺激は RAW264.7 の食食活性を有意に高めることを明らかにした。

次にこの食食能の活性化機構について検討を行った。一般的に免疫細胞の食食機能は、アクチン重合の促進により引き起こされることが知られている。そこで、マイクロ電流刺激による食食能上昇の要因としてアクチンの重合に着目し解析した。RAW264.7 において、マイクロ電流刺激が誘発したアクチン重合は、ファロイジン染色によって観察された。さらに、アクチノマイシン D を用いたアクチン重合の阻害は、マイクロ電

流刺激によるRAW264.7の食食活性を抑制した。これらの所見から、マイクロ電流刺激は炎症活性や分化誘導とは独立した経路でアクチン重合を促進することにより、マクロファージの食食を増強することが示唆された。

次により詳細な分子機構を明らかにするためにRNA-seq解析を行いマイクロ電流刺激の影響を受ける遺伝子を同定した。その結果、概日時計機構に関連する複数の用語が有意に検出されていることがわかった。この結果は、マイクロ電流刺激が時計遺伝子、特に転写因子をコードする遺伝子の発現に影響を与えることが示唆された。そこでマイクロ電流刺激によって発現が初期に変化した時計遺伝子を同定するために、マイクロ電流刺激終了から15m後の時計遺伝子の発現を評価した。その結果、時計遺伝子の一つであるPer1 mRNAが有意に発現変化した。またPer1をノックダウンした細胞では、マイクロ電流刺激による食食活性化が抑制されたことから、Per1の発現変化が重要であることが示唆された。

CD47阻害剤等のマクロファージ食食能を標的とした処置は抗腫瘍効果を示すことが報告されている。そこで、マイクロ電流刺激によるマクロファージの食食能上昇はがん細胞の増殖抑制に影響するのではないかと仮説を立て次の研究を行った。まず初めに、マイクロ電流刺激によるマクロファージの食食能の上昇が、がん細胞に対しても認められるかについて検討した。マイクロ電流刺激処置を行ったRAW264.7細胞と、EGFPあるいはGFPを発現させた様々ながん細胞を共培養し、食食能の変化を評価した。RAW264.7中のEGFP/GFP蛍光を指標に各がん細胞を食食した

RAW264.7の細胞数を測定した結果、マイクロ電流刺激非処置RAW264.7と比較し、マイクロ電流刺激処置RAW264.7は、乳がん4T1、メラノーマB16、肝がんHepa1-6、大腸がんColon26細胞に対して有意に高い食食細胞数を示した。また同様の実験を、ヒトのマクロファージ細胞を用いて、ヒトのがん細胞の食食に及ぼす影響を検証した結果、マウスの実験と同様の結果を得られた。

そこで、マウスにがん細胞を移植し抗がん効果を検証した結果、Control群と比較しマイクロ電流刺激群において有意に抗がん活性が認められた。

さらに、マウス乳がん細胞4T1をマウス尾静脈から注入し、肺や骨髄への転移能に及ぼすマイクロ電流刺激の影響を検証した。4T1細胞を注入し、マイクロ電流刺激に曝露したマウスは、Control群と比較して、門脈、肺、および骨髄周辺のがん細胞のコロニー形成を抑制した。これらの結果は、マイクロ電流刺激が腫瘍の生着、増殖、転移を抑制し予後を改善することを示唆した。

本研究結果より、マイクロ電流刺激が免疫細胞の一種であるマクロファージの食食機能を活性化し、がん細胞などの異物を効率よく除去する新たな治療方法の開発に応用できる成果につながった。今後も継続し、様々な疾患の発症や症状に関連する免疫細胞の機能をマイクロ電流刺激で制御し、新たな治療方法の開発を行っていきたいと考えている。

〔発表論文〕

1.Yoshida Y.,etal (Matsunaga N:corresponding authors). Theranostics 2025; 15(2):340-361.