

「精神・神経疾患の分子病態理解に基づく診断・治療へ向けた
新技術の創出」

平成 20 年度採択研究代表者

平成 20 年度
実績報告

小野寺 宏

(独) 国立病院機構西多賀病院・副院長

脊髄外傷および障害脳における神経回路構築による治療法の開発
～インテリジェント・ナノ構造物と高磁場による神経機能再生～

1. 研究実施の概要

急速に発展する幹細胞・iPS細胞技術を用いた脳脊髄疾患の移植医療に期待が集まっていますが、現行技術では阻害因子に邪魔されて移植細胞が神経線維を伸ばせず、病気で損なわれた機能を回復できません。そこで本研究では、脊髄外傷、パーキンソン病、脳卒中などの疾患を対象として、神経接着分子や栄養因子を結合したインテリジェント・ナノ磁性体を脳脊髄の目的部位に正確に配置し、それを足場に神経回路を再構築するという新しい治療技術の開発を目指します。

臨床応用を目指し、スタートにあたる 20 年度は神経組織内を正確に移動できる磁性体の改良、ワイヤに結合させる機能性分子の選定、神経組織内磁性体の位置制御装置制作(臨床応用を視野に、より精密で安全な磁場制御を目指す)を行いました。また、脊髄障害患者における神経機能の経時変化(神経の可塑性)を functional MRI と光トポグラフィを用いて解析しています。

2. 研究実施内容

1. 機能的磁性体開発

本CRESTにおける磁性体(磁性ワイヤ)需要は動物実験が本格化する 21 年度後半より増大するため、ナノワイヤ製造過程を 20 年度に見直して高品質の磁性ワイヤの大量安定生産のための設備を 20 年度に購入した。さらに磁性ワイヤ研究者を増員して磁性体制作体制を充実させた。機能的磁性体の候補分子として細胞接着分子・神経栄養因子・ウイルスベクターを選定し in vitro 実験を開始した(特許出願)。in vitro 実験の結果、磁性体の表面積を増加させることにより神経細胞への効果がさらに高まることが明らかになり、21年2月より磁性体の表面処理方法を改良して移植神経細胞の脳内移動の効率向上を目指しており、今後はこの新型ワイヤを用いていく。ウイルスベクターと磁性ワイヤとの結合には特異的なアミノ酸配列を用いた選択的結合法を用いることとした(特許出願予定)。

GFP 発現ベクタによるウイルスベクタの脳内発現効率解析が可能となるなど、ウイルスベクタ結合磁性ワイヤを動物脳内で配列させて感染効率・発現期間を定量的に検討できる体制が整った。

20 年度に磁性ワイヤ格子上で培養して神経細胞移動性と神経線維伸長度をスクリーニングできる実験系を開発し、種々の接着分子でのスクリーニングを開始した (図 1)。鉄を主成分とする磁性ワイヤを脳・脊髄移植用に作製しているが、臨床応用にむけたブレイン・マシンインターフェースの素材としては金・白金ナノワイヤが生体毒性の面で安全性が大と考えている。そこで脳内配列用の磁性ナノワイヤの開発と平行してブレイン・マシンインターフェースの素材としての金・白金磁性ワイヤの可能性を引き続き検討していく (大脳生理学者から試用希望あり)。

2. 脊髄と脳内の目的部位に磁性構造物を整列させる磁場制御技術の開発

H19 年度の CREST 課題調査研究および 20 年度の研究によりラット脳内での磁性ワイヤ位置はプラスマイナス 1 ミリメートルの精度で制御可能となっているが、マウス脊髄は直径 2 mm 弱と極めて細いためラット用装置は適用できないことが明らかになった。そこで永久磁石と電磁石を複数配置することによりマウス脊髄内での磁性ワイヤ制御を目指し、20 年度には残磁性の極めて少ないモリブデン合金を用いた磁場伝達装置を新たに設計し、直径 90 ミクロンの磁場制御針ならびに制御針結合部品を完成させた (図 2)。磁場制御装置用部品の調達に苦慮したが、極細繊維用部品製造専門メーカーに依頼することにより作成できた (特許出願予定)。この磁場伝達装置を定位脳手術装置に組み込むことにより術野を妨げない磁場制御装置を完成させた。マウスの場合は永久磁石を複数配置することにより神経組織内磁性体位置をプラスマイナス 0.5mm にて配置できる見通しである (テスラメータによるシミュレーション)。実際のヒトへの応用を考えた場合、パーキンソン病患者での移植細胞注入部位が脳の深部であるため超電導磁石による制御技術開発も平行して進める。

すでに市販の超高解像度 X 線 CT 装置による非破壊的ナノワイヤ位置同定が可能となっている。20 年度研究において、SPring-8 の放射光を用いれば神経核 (海馬, 小脳, 視床等) の層構造の描出が可能であることを明らかにした (投稿予定)。21 年度には画像処理方法を改良して撮像時間の短縮に努めたい。尚、理化学研究所 Spring-8 より 21 年度~24 年度のバイオメディカル部門長期利用ユーザに選定していただくなど我々の移植病態脳研究に多大なご援助をいただいている。ここに謝意を表す。

超小型共焦点顕微鏡ならびに全自動蛍光顕微鏡を導入し、神経組織内神経線維分布と移植神経細胞の脳脊髄内位置を 3 次元的に把握できる体制を整えた。

3. 移植研究・神経可塑性研究

脊髄外傷モデル：分担研究者の中村は遺伝子改変動物の入手の容易なマウスを研究に利用している。しかし上述のようにマウス脊髄は極めて細いため新たにマウス脊髄用磁場制御装置を完成させた。このマウス用ワイヤ注入・磁場制御装置を 21 年度より稼働させてマウス脊髄外傷モデルにおける治療効果を判定する。脊髄周囲での磁場分布データを分担

研究者の金ら磁場制御グループに還元して磁場制御ソフトウェアを改良していく。移植細胞としては初代培養細胞あるいはES細胞を用いて、機能的ワイヤの有無での脊髄内神経線維伸長効果を比較する。

脳疾患モデル：パーキンソン病ラットモデルについては、線条体内 6-OHDA 注入モデル (unilateral partial lesion model) と黒質 MFB 注入モデル (unilateral complete lesion model) を用いて実験を開始した。21 年度より線条体内に新型磁性ワイヤを広範に配置させたうえでドパミン産生細胞を線条体に注入し、動物の運動機能改善効果およびドパミン神経細胞線維分布への影響を検討していく。

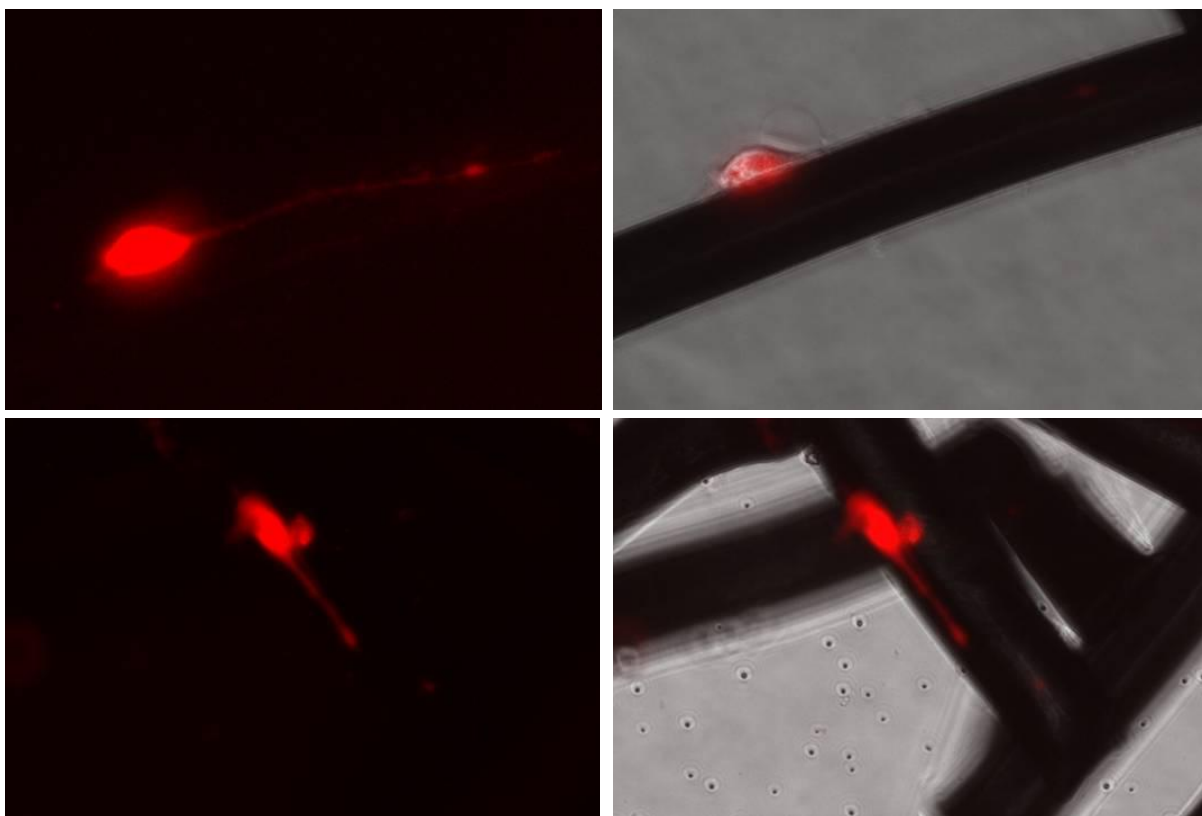


図 1

細胞接着因子結合磁性ワイヤ（直径 50 ミクロン）に結合した神経系細胞 NG108-15. (1) 接着分子 type A（上段），(2)接着分子 type B（下段）. 接着分子種により突起伸長効果が異なる（特許出願）

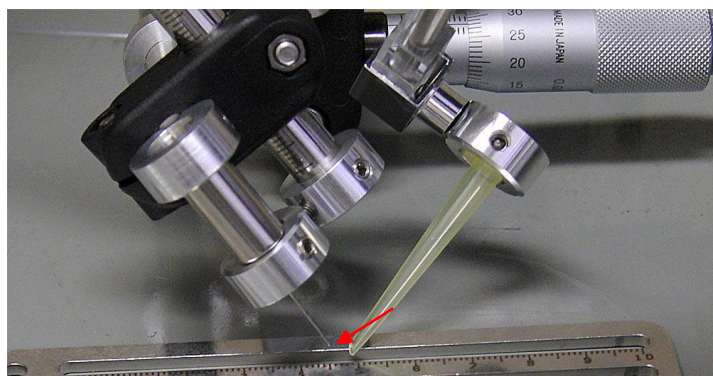


図 2

マウス脊髄用磁場制御装置. ラット脳での研究にも本装置を使用. 写真では見えないが誘導部品の先端（矢印）に直径 90 ミクロンのモリブデン合金製誘導針が接着されている.

4. 機能的ワイヤ臨床応用時の移植効果評価方法確立と神経回路再構築ルート決定法の開発

脊髄外傷とパーキンソン病への臨床応用のため運動障害患者における機能をキネマティクスと functional MRI により検討し、神経回路敷設最適化のためのデータを蓄積した。脊髄障害患者（主に脊椎管狭窄症）の術前および術後の経時的運動機能変化を functional MRI を用いて解析している（現在 4 例エントリー）。重症の脊髄症患者では、上肢運動課題における運動関連領域賦活が健常者に比して著明に低下していたが、術後の機能改善とともに賦活パターンが大きく変化していくことが明らかになった。とくに術後に手指巧緻動作が著明に改善してきた症例では、運動野（一次感覚野）のみならず補足運動野や前頭前野などの関連領域が広範囲かつ両側性に賦活されてくることが明らかになった。軽度障害患者では術後の運動機能改善にあわせて異常賦活パターンが消失していき、健常者のパターンとなることを見出した（投稿予定）。

3. 研究実施体制

(1)「小野寺」グループ

①研究分担グループ長:小野寺 宏 ((独)国立病院機構西多賀病院、副院長)

②研究項目

機能的ワイヤの脳障害モデル動物への適用による神経回路再構築の検討、および患者における運動機能解析

(2)「中平」グループ

①研究分担グループ長:中平 敦(大阪府立大学、教授)

②研究項目

磁性ワイヤの製造ならびに機能付加ワイヤの開発と制作

(3)「今井」グループ

①研究分担グループ長:今井 俊夫((株)カン研究所、所長)

②研究項目

神経線維伸展因子効果を有する機能的ワイヤの開発

(4)「中村」グループ

①研究分担グループ長:中村 雅也(慶應義塾大学、講師)

②研究項目

外傷性脊髄障害における機能的ワイヤによる神経機能回復の評価

(5)「上月」グループ

①研究分担グループ長:上月 正博(東北大学、教授)

②研究項目

脳移植動物における機能的ワイヤによる神経機能回復の評価

(6)「金」グループ

①研究分担グループ長: 金 錫範(岡山大学、准教授)

②研究項目

神経組織内の磁性ワイヤ位置を制御する技術の開発

4. 研究成果の発表等

特許出願

平成 20 年度 国内特許出願件数 : 1 件 (CREST 研究期間累積件数 : 1 件)