

「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

H23 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. 研究実施体制

(1)「小野寺」グループ(国立病院機構西多賀病院)

① 研究代表者: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, インテリジェント装具・器具の開発

(2)「中平」グループ(大阪府立大学)

① 主たる共同研究者:中平 敦 (大阪府立大学大学院工学研究科、教授)

② 研究項目

・磁性ワイヤの製造ならびに機能付加足場構造体制作

(3)「今井」グループ(カン研究所)

① 主たる共同研究者: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, 培養神経細胞における評価

(4)「中村」グループ(慶応大学)

① 主たる共同研究者:中村 雅也 (慶応大学医学部整形外科、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(東北大学)

① 主たる共同研究者:上月 正博 (東北大学大学院医学系研究科、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(岡山大学)

① 主たる共同研究者:金 錫範 (岡山大学大学院自然科学研究科、准教授)

② 研究項目

・機能的ワイヤの脳脊髄内移動のための超高磁場装置の開発

§ 2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)に対応する)

神経幹細胞やiPS細胞を用いた脳の再生医療に期待が集まる. しかし現行技術では脳内の阻害因子に邪魔されて, 移植細胞は神経線維を伸ばせず神経回路は再建できない. 我々は神経接着分子や遺伝子発現システムなど複数の機能を搭載できるインテリジェントな足場を脳脊髄に敷設し, 失われた脳機能を再建するという新しい視点での治療技術開発を進めている.

23年度に開発した技術は以下の通り.

1. 磁場により, 神経線維伸長用の足場を脳脊髄内に敷設する技術

22年度に脳内足場の敷設位置を制御する極細磁石線を開発した(レアアース不使用). 23年度, 体外に設置した駆動用磁石で磁場を形成し, 足場敷設用の極細磁石線が受ける磁力と磁化を SQUID, フラックスゲート, MR センサを用いて解析した. このデータをもとに足場を脳脊髄に敷設するための磁場制御技術を開発した. さらに極細磁石線と足場構造体を安定結合する技術を完成させた. 模擬脊髄(ゼリー構造体)を用いた足場位置制御例を図1に示す. 足場敷設距離に応じた磁石の使い分けも可能になった(文献3).

2. 細胞接着・神経線維伸張効果を有する溶解型足場素材の開発

22年度までに足場結合用接着分子を選択したので(文献1), 接着分子を安定的に足場に結合させるための糊剤を開発した. 糊剤成分は臨床材料として安全性が確立された素材を転用できたため, 臨床応用にむけて大きく前進させることができた. 接着分子蛋白を結合した神経用足場構造体(胎児ラット細胞とともに)を脊髄損傷モデルラットの損傷部位に移植したところ, 移植1ヶ月後には非治療群に比して有意の運動機能改善を認めた. 中枢神経障害の場合, ホスト神経線維の伸長は殆ど望めないとされるが, 我々が開発した"脳で溶ける足場構造体"と接着分子の組み合わせは神経損傷後の再生医療に極めて有用であると期待される.

3.溶解型足場素材へのウイルスベクタ搭載による、部位特異的な遺伝子発現技術

23年度、上記の足場にアデノ随伴ウイルス(AAV)を活性維持しつつ結合させる技術を開発した。図2は足場素材に結合した green fluorescent protein (GFP)ベクタの細胞感染・発現例である。これにより、臓器の特定部位のみに遺伝子を発現させる技術を確立できた。現在のウイルスベクタ導入方法は臓器へのウイルス注射にすぎず、目的部位からウイルスが拡散するために遺伝子発現効率が低く、目的外部位での遺伝子発現による副作用を無視できないという問題を抱えている。我々が開発したウイルスベクタ感染技術は遺伝子の臓器内ピンポイント発現を可能にするので、遺伝子治療の実用化に寄与できる。

4. 放射光 CT による脳脊髄内足場の3次元解析

前年度、タルボ干渉計を用いた放射光位相差 CT による脳脊髄撮像技術を完成させたので、上記の足場を移植した脊髄における足場素材の溶解過程を定量的に解析した。足場の最小単位である直径 10 ミクロンの構造体も描出することができた。足場素材の脊髄内密度は移植1ヶ月後に60%低下し、約3か月後には足場は消失した。使命を終えた足場は設計通りに中枢神経から除去されることが確認できた。

5. アンプー一体型超小型マルチチャンネル脳電極の完成(CREST 異分野チーム共同研究, 奈良先端大 太田研究室)

アンプー一体型の脳用フレキシブル電極のパターンやサイズをレーザー照射により使用目的に応じて自由にデザインできる技術を確立した。動物(サル, ラット)での中枢神経活動記録に成功した。

22年度末までに CREST 研究の骨格をなす基本技術開発を終え、いよいよ臨床応用を目指した本格実験に進もうとした矢先、東日本大震災に襲われた。実験中の全ての動物の処分やむなきに至り、また解析を待つ脳脊髄サンプルのほとんどを失った。実験装置については低層階に保管していたことが幸いして大きな被害は免れたが、冷蔵庫の転倒・停電により試薬の多くが使用不能となった。23年夏になって実験を再開できたが、現在でも動物実験にあたっては多くの制約がある。幸い足場開発は順調に進んでおり、脳脊髄疾患に苦しむ患者さんの治療を目指して研究をスピードアップしたい。

地震被害からの復旧にあたり、科学技術振興機構をはじめ多くの皆様からご支援を賜りました。ここに深謝します。

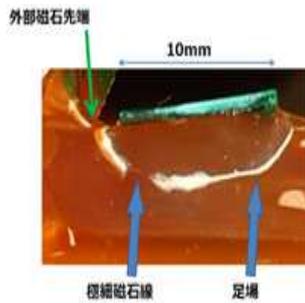


図1 模倣脊髄(ゼリー)内への磁場による足場敷設.

足場素材先端部に装着した極細磁石はゼリー内を移動して外部磁石先端部に吸着している. 磁石の後方(右側)に足場が認められる.

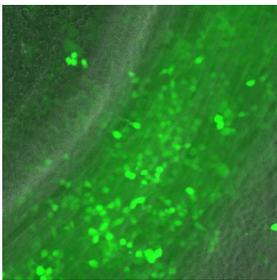
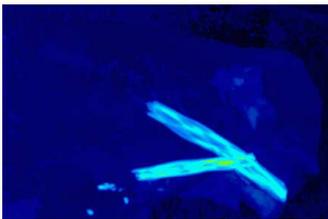


図2 アデノ随伴ウイルス(AAV)の足場素材への結合

AAVの活性を維持しつつ溶解型足場素材に結合させ, 細胞に感染させた. AAVに組み込んだベクタ(GFP 組み込み)が発現した細胞は緑色蛍光を発している(足場は AAV 結合能のみならず細胞接着機能も有することに注目).

移植1日後



80日後

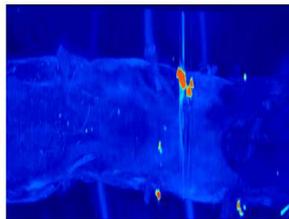


図3 脊髄に移植した神経線維足場素材の放射光CT画像(3D再構築).

移植80日後, 足場素材はほとんど溶解し脊髄内に残存していない.

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

1. Eri Fusaoka-Nishioka, Chisei Shimono, Yukimasa Taniguchi, Aki Togawa, Akio Yamada, Eiji Inoue, Hiroshi Onodera, Kiyotoshi Sekiguchi, Toshio Imai, “Differential effects of laminin isoforms on axon and dendrite development in hippocampal neurons.” *Neuroscience Research* 71,421-426,2011 (doi 10,1016)
2. Takamasa Onoki, Shin'ya Yamamoto, Hiroshi Onodera, Atsushi Nakahira. New technique for bonding hydroxyapatite ceramics and magnesium alloy by hydrothermal hot-pressing method *Materials Science and Engineering C*, 31, 499-502, 2011. ISSN: 09284931
3. S.B. Kim, J. Matsunaga, A. Doi, T. Ikegami, H. Onodera. Study on the characteristics of the magnetic levitation for ferromagnetic materials with various sizes using HTS bulk levitation system *Physica C*, (in press)
4. Takeshi Yamaguchi, Masaru Yano, Shinya Fukuzawa, Hiroshi Onodera and Kazuo Hokkirigawa, Preliminary study on wide base-of-support footwear in preventing falls caused by lateral slip during walking, *Tribology Online*, 3(in press)

(3-2) 知財出願

- ① 平成 23 年度特許出願件数(国内 0件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 4件)