

「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

H24年度 実績報告

小野寺 宏

独立行政法人国立病院機構本部北海道東北ブロック,
仙台医療センター臨床研究部・特任上席研究員

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(国立病院機構本部北海道東北ブロック・仙台医療センター臨床研究部)

- ① 研究代表者:小野寺 宏 (国立病院機構本部北海道東北ブロック・仙台医療センター臨床研究部)
- 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 (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 (東北大学医学研究科、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)

iPS細胞による脳の再生医療に期待が集まるが、現行技術では脳内の障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を再建できない。我々は神経接着分子や遺伝子発現システムを搭載した神経足場を脳に敷設して脳機能を回復するという、新しい視点での治療技術開発を進めてきた。

24年度までに開発した技術は以下の通りである。

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年度までに脳内足場の敷設位置を制御するための極細磁石線を開発し(レアアース不使用)、24年度には体外に設置した駆動用磁石で磁性体ハイブリッド型足場を脳脊髄に敷設するための技術を確立した。体外設置用磁石の先端に磁性体で作られた誘導針を結合させることにより、より正確かつ強力に足場構造体を誘導できることを見いだした。臨床応用の場合は臓器サイズがネズミに比して遙かに大きいため磁性体ハイブリッド型足場の直径を大きくとることが可能であり(より直径が大きい強力な磁性体を足場に装着)、中枢神経系の治療に加えて内視鏡手術への応用も期待される(駆動距離 10~20mm)。

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決定し、24年度に接着分子やウイルス受容体を安定的に足場構造体に結合させるための基剤を選択できた。基剤として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した。接着分子蛋白を搭載した神経用足場構造体(細胞と共に)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効果が認められた。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いわれるが、我々が開発した"脳で溶ける足場構造体ワイヤ"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。24年度は足場と共に移植する細胞をスクリーニングし、Schwann 細胞と胎児脳由来神経細胞が脊髄損傷ラットの運動機能改善効果を示すことが明らかになった。さらに足場構造体ワイヤ内部に神経細胞を充填した細胞チューブを病変部に移植することも可能になった(特許出願, 図1)。今後複数の移植細胞を組み合わせた細胞カクテル移植, iPS 細胞由来神経系細胞移植など臨床への展開が期待される。

3. ウイルスベクター搭載による、部位特異的な遺伝子発現技術の開発(ピンポイント DDS 技術)

ウイルスの臓器内注射による遺伝子治療が世界中の施設において進められている。しかし現在のウイルスベクター導入方法は単純なウイルス注射であるため、目的部位からウイルスが拡散してしまう。このため遺伝子発現効率は低く、目的外部位での遺伝子発現による副作用も懸念されている。我々は23年度、足場構造体にアデノ随伴ウイルス(AAV)を結合させる技術を確認したが、同じアイデアのものでナノビーズに AAV を搭載する技術を開発した。このナノビーズに AAV (green fluorescent protein (GFP))ベクターを結合させて動物脳に注入し、脳内にピンポイントで GFP を発現可能であることを確認した(図2)。我々が開発した足場構造体ワイヤ法ならびにナノビーズ法による遺伝子・薬剤伝達システムは(DDS), 臓器内の目的部位のみに遺伝子や薬剤を投与可能であり、あらゆる臓器の疾患治療への応用が期待される(特許出願)。

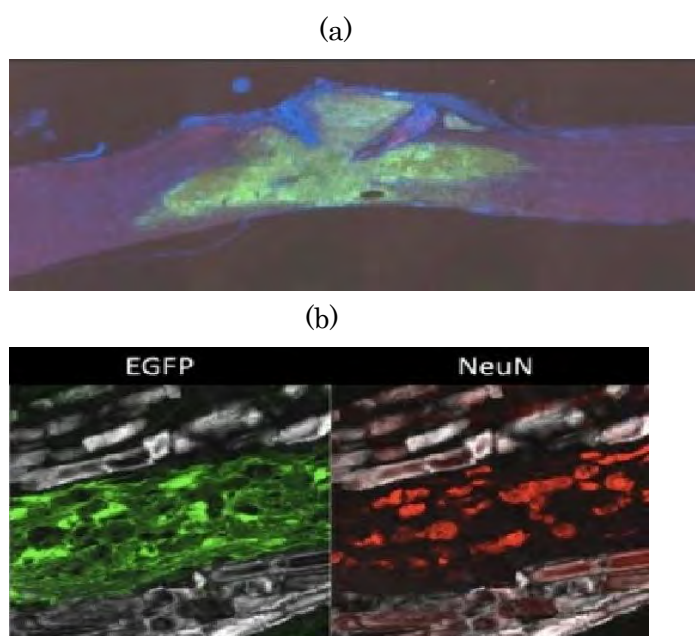


図1 足場構造体で細胞チューブを形成

体内で溶解する糸状高分子ポリマーを立体的に編み込み(内径 100 ミクロンの空洞作成), ラット脳由来神経細胞(EGFPで標識)と同時に脊髄損傷モデルラットの病変部に移植した。4週間後,

移植神経細胞は病巣全体に広がると共に(a), 足場構造体内部でも神経線維は伸長し (b), 未治療動物に比して有意の運動機能回復が確認できた。

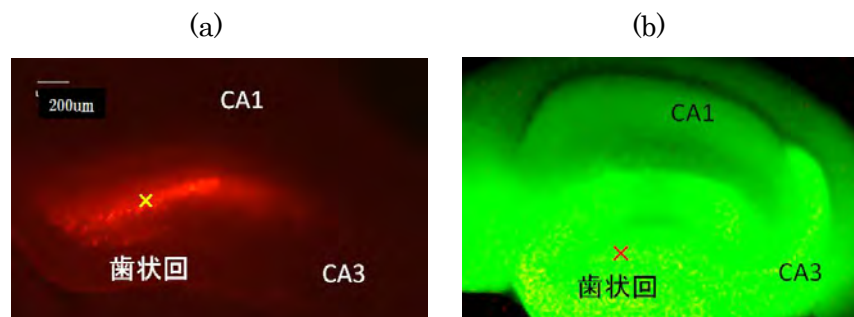


図2 ウイルスベクター搭載型ナノビーズによる脳内ピンポイント遺伝子発現(ラット海馬の例)

ナノビーズ法では注入部位(×)を通過する神経線維(神経細胞)のみ遺伝子を発現するが(a), 単純なウイルス注入の場合は海馬全体の神経細胞が遺伝子を発現してしまう(b).

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

1. Yamaguchi T, Yano M, Onodera H, Hokkirigawa K. "Kinematics of center of mass and center of pressure predict friction requirement at shoe-floor interface during walking." *Gait Posture*. 2012 Dec 5. (doi:pii: S0966-6362(12)00408-0. 10.1016)
2. Yamaguchi T, Yano M, Onodera H, Hokkirigawa K. "Effect of turning angle on falls caused by induced slips during turning." *J Biomech*. 2012 Oct 11;45(15):2624-9. (doi: 10.1016/)
3. 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*, 7, 3 (2012) 159-164.
4. S.B. Kim, J. Matsunaga, A. Doi, T. Ikegami and H. Onodera, "Study on the characteristics of magnetic levitation for permanent magnets and ferromagnetic materials with various sizes using stacked HTS bulk annuli", *Physica C*, 2012 [http://dx. \(doi.org/10.1016/j.physc.2012.02.030\)](http://dx.doi.org/10.1016/j.physc.2012.02.030)
5. Takeshi Yamaguchi, Masaru Yano, Hiroshi Onodera and Kazuo Hokkirigawa, Kinematics of center of mass and center of pressure predict friction requirement at shoe-floor interface during walking, *Gait & Posture*, (2013) (in press)

(3-2) 知財出願

- ① 平成 24 年度特許出願件数(国内 3 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 7 件)