

障害脳の神経回路再構築による治療法の開発～ナノ構造物と高磁場による神経機能再生

Reconstruction of damaged-neuronal circuits using nano-materials and very strong magnetic fields

小野寺宏^a, 中平敦^b, 八木直人^c, 上杉健太郎^c, 星野真人^c

Hiroshi Onodera^a, Atsushi Nakahira^b, Naoto Yagi^c, Kentaro Uesugi^c, Masato Hoshino^c

^a 独立行政法人国立病院機構西多賀病院, ^b 大阪府立大学工学部,

^c 財団法人高輝度光科学研究センター

^a Nishitaga National Hospital, ^b Osaka Prefecture University, ^c JASRI

微小金属ワイヤの脳内分布と脳微細構造の超高解像度かつ非破壊的な同時解析のため、放射光による三次元 CT 撮像を試みた (X-CT)。2008年度前期において問題であったアーチファクトによる撮像不良を解決し、再現性良く脳微細構造 (神経核) を描出することが可能となった。

To analyze the brain structures and the localization of metal nanowires in the brain simultaneously, we used 3-dimensional radiant light X ray CT(X-CT). Although we observed artefacts by air bubbles on the surface of the brains and tissue shrinkage in the 2008A study, we solved these problems by changing the assay buffer.

目的 :

脳内で神経線維の伸長と方向を制御する技術を開発できれば、多くの神経疾患治療に応用可能である。本研究代表者が主宰する CREST 研究においては、神経制御因子 (接着分子、栄養因子) で修飾した金属ナノワイヤを磁場で脳内に“配線”し、それを足場として神経回路を再構築し脳機能を回復することを目指している。我々は2008A期において脳内ナノワイヤの画像化に成功したが、脳組織と磁性ワイヤの密度差ならびにサンプル表面のアワによるアーチファクトのため撮像が困難な例があった。そこで撮像方法ならびにサンプル調整法を改良し、脳の特定の神経核構造の描出ならびに磁性ワイヤの脳内分布の把握、脳内移植神経細胞の画像化のための撮像条件を確立し、移植動物脳の撮像を

おこなう。

方法 :

脳障害モデルラットを用いて、磁性ワイヤ (直径 50nm~50um) を脳内に注入し、ナノワイヤを超高磁場 (1~13 テスラ) で移動させて脳内に神経線維の足場を構築する。SPring-8 の高解像度 CT (通常および位相差 CT) にて脳内のナノワイヤの 3 次元的な位置を解析し、各種磁性ワイヤに最適な撮像条件を設定する。これにより超高磁場によってナノワイヤが設定どおりに脳内を移動したかを 3 次元的に分析した。

結果 :

磁性ワイヤを注入したラット脳を CT にて観察した結果、個々の磁性ワイヤ (直径 30~50 μm)、

ワイヤ集合体(50~250nm)の描出に成功した。50 μ m 径ワイヤが密集した部位においてはダイナミックレンジを超えてしまい、臨床用 X 線 CT であるところの **streaking artefact** の混入はどうしても避けえなかったが、他のサイズのワイヤについては満足すべきデータ取得が可能となった。サンプル表面のアワについては撮像までの平衡化時間と気泡除去剤の添加により完全に予防することが可能となった。これにより通常の CT や MRI では決して描出できない大脳皮質の層構造や大脳基底核の **matrix/patch** 構造も放射光 CT により同定することが可能となった。ただし1 サンプルの撮像には6 時間程度を要したため予定したサンプルをすべて撮像することはできなかった。

考察：

本実験の結果、SPring8 の X-CT を用いると脳の微細構造（神経核）を描出可能であることが明らかになった。位相差CT が通常の病理標本連続作成からの3次元再構成という煩雑かつ不正確な方法に代わる、あたらしい3次元脳構造解析法となりうる。今後の iPS 細胞の脳脊髄移植研究において SPring8 の撮像システムはきわめて重要な役割を担えることが明らかになったので、2009 年より神経細胞とナノワイヤによる神経回路再構築システムの解析に本 CT を活用していきたい。

結論：

SPring-8 の X-CT は、非破壊的ラット脳微細構造解析および脳内磁性ワイヤの3次元配列の解析に極めて有用であることが明らかになった。2008 年 A および B 期の2 回の検討の結果、神経細胞を移植されたモデル動物脳における神経

細胞局在ならびに神経線維伸展ガイドとなる磁性ワイヤの同時解析が可能となった。

今後の課題：

1 個の脳の撮像に数時間を要するため脳組織のわずかな歪みが解像度悪化につながる。今後撮像時間短縮と組織固定条件改善を今後の採択研究のなかでめざしたい。

論文発表状況・特許状況：

今後の実験により条件最適化後に予定

キーワード：

X CT, 脳 brain, 神経核 neuronal nuclei