

審査の結果の要旨

氏名 江口 和

本研究は強磁場という新たな物理刺激を用いて神経組織機能再建への医療応用を図ることを目的として、8 T (テスラ) 超伝導マグネットを用いて神経再生に対する効果および神経機能に対する安全性を検討するために試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 生後2日目の新生児ラット坐骨神経より採取したシュワン細胞の磁場配向について検討したところ、シュワン細胞が約60時間の8 T 磁場曝露により磁場と平行に配向することが示された。また細胞骨格 actin 染色において、ストレスファイバーが磁場方向に配向することが示された。さらに低分子量 G タンパク質の1つであり、アクチン細胞骨格を制御している Rho のエフェクターである ROCK /Rho キナーゼの阻害剤である Y27632 を加えることにより、細胞体の円形化、ストレスファイバーの形成低下、細胞突起の伸張などの形態変化が現れ、8 T 磁場曝露による磁場配向が抑制された。シュワン細胞の磁場配向メカニズムとして、磁気トルクなどの外部刺激情報が ROCK/Rho キナーゼを介して細胞内部に伝わりストレスファイバーなど細胞骨格の応答および細胞配向が起こることが示された。
2. I 型コラーゲンの重合過程に 8 T 強磁場を約2時間印加することにより、約 100 nm のコラーゲン線維が約数~数十 μm の線維束を形成しながら磁場と垂直方向に配向することが示された。磁場配向コラーゲンとシュワン細胞の共存培養において、配向コラーゲンを足場として、シュワン細胞が配向することが示された。またニワトリ後根神経節の配向コラーゲン上培養において、磁場配向したコラーゲン線維がコンタクトガイダンスとして指向性のある軸索伸張を誘導することが示された。
3. ラット坐骨神経架橋モデルを用いた *in vivo* 実験にて配向性を有するコラーゲンおよびシュワン細胞が人工神経として神経再生に有効かを検討したところ、術後 12 週における組織学的、機能的評価から磁場配向コラーゲンは再生神経を誘導することが示された。一方、術後 8 週における肉眼的評価からシュワン細胞を移植した群とシュワン細胞を移植しない群との間に再生組織に有意な差は認められず、シュワン細胞移植の有用性は認められなかった。磁場配向コラーゲンが坐骨神経再生および神経機能回復を促進することが示され、磁場配向コラーゲンは神経再生足場として神経架橋材料として有用であることが示された。

4. 神経伝導に対する磁場安全性について、ウシガエル (*Rana catesbeiana*) 坐骨神経標本を用いた *in vitro* 実験にて検討したところ、8 T 磁場に 3 時間曝露することによって、A α 線維、A δ 線維、C 線維の各成分の神経伝導速度は変化しないことが示された。また連発刺激による A α 線維神経疲労に対する磁場影響を検討したが、磁場影響は認められなかった。一方、相対不応期における作用として、磁場曝露により運動神経 A α 線維の活動電位ピークが徐々に上昇し、1.0~1.1ms という相対不応期の早期に臨界値が存在することが示された。絶対不応期に Na チャネルが不活性化した直後の膜興奮回復期に磁場影響を受けやすいことが示唆された。
5. ラット坐骨神経を用いた *in vivo* 実験にて神経伝導に対する影響を検討したところ、A δ -fiber、C-fiber など閾値が高く伝導速度が遅い痛覚成分の活動電位は磁場強度に依存して興奮膜の閾値が低下し、可逆的に振幅が増大することが示された。一方、伝導速度の速い A α / β 成分の伝導速度および振幅は磁場曝露により有意な変化を認めなかった。リン脂質 2 重層が反磁性作用を受け神経興奮膜の Na、K チャネル機能変化により神経興奮性が増大した可能性がある。

以上、本研究結果は、神経再生・機能再建に対する強磁場の作用の解明と応用に関する先駆的な研究として、今後の強磁場の神経再生など医療応用に貢献するものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。