

論文審査の結果の要旨

氏名 齋藤 淳史

本論文は 6 章からなり、第 1 章では研究背景並びに関連分野の動向に関する考察に基づき、目的と具体的な課題が提示されている。すなわち、電磁界の生体作用につき、安全性と技術的な利用の可能性の両面から理解するのが本研究の目的であり、特にマイクロ加工技術を積極的に利用して細胞レベルの現象を可視化することが特徴であることが述べられている。具体的な検討課題として、以下の 3 項目を設定している：(1) 安全性の視点から、生物が周囲環境に最も高い感受性を有すると考えられる発生・細胞分化段階の試料に対する低周波磁界の作用について、その強度依存性を明らかにする、(2) 反復経頭蓋磁気刺激 (Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation, rTMS) に付随する現象として知られている神経活動変調を細胞レベルの作用として観測する、(3) 技術的な利用の可能性として、磁性ナノ粒子を用いた 3 次元培養神経回路網の作製手法を開発する。

研究対象である脳神経系の電気現象、発生・発達過程に関する既存研究の状況を第 2 章にまとめた後、第 3 章では、低周波磁界が細胞分化・神経回路網形成能に与える影響の長期的評価につき記述している。神経分化誘導中の P19 胚性腫瘍細胞に対して 50 Hz 正弦波の低周波磁界を 4 日間恒常的に印加した結果、10 mT 印加群について、(1) 胚様体サイズと神経突起伸長速度の低下、(2) 神経分化効率の増加、を確認したことが報告されている。さらにその後形成される神経回路の自発活動において、分化誘導後 2-3 週目でのスパイク発火頻度の増加が認められ、1 mT 印加群ではこのような変化が見られないとの結果になった。この観察結果を受けて、培養容器内に Polydimethylsiloxane (PDMS) によってコンパートメント構造を作製し、印加電磁界強度依存性を系統的に調べる実験を行った。その結果、胚様体のサイズおよび神経突起伸長の誘導電流密度依存性は確認できたが、磁界印加時に細胞内 Ca イオン濃度が直接変化する現象は観測されず、誘導電流による脱分極、電位感受性イオンチャネルを介した細胞内代謝過程への作用という通常の

シグナル伝達経路以外を考慮する必要があることがわかった。今回の実験で電磁界の作用が認められた 10 mT という磁界強度は現行の防護指針の 10 倍であり、この結果は安全性確保の現行制度の妥当性を示すものである。

第 4 章では、rTMS による神経活動変調現象につき記述している。細胞培養容器中に Mu-metal を利用して 20 A/m^2 の強い誘導電流を発生、収束させる装置を作製し、複数の PDMS 製マイクロチャンバを組み合わせ、1 つの培養系で刺激印加群と非印加群の活動を同時計測できるシステムを構築した。刺激印加群と非印加群の間はマイクロトンネルを介して連絡があり、神経回路としての結合は形成されているため、刺激印加群に誘導される変調は神経回路活動を介して非印加群に伝搬する系となっている。刺激印加群では、低頻度 (0.5 Hz) および高頻度 (5 Hz) の 2 種類の双極性パルス磁界による刺激に対して、それぞれ rTMS による神経活動変調現象として知られている抑制効果と増強効果が誘起されることが確認された。誘導された活動変化が神経連絡を介して非印加群の活動も変調することが確かめられ、同様な効果が薬理実験でも再現されたことから、この現象が rTMS による神経活動変調現象の細胞レベルでの実態であることが示唆された。

第 5 章は、磁性ナノ粒子を用いた 3 次元培養神経回路網の作製とその活動観測結果である。細胞内に磁性ナノ粒子を導入し、形成された神経回路を磁石により培養皿底面から剥離、別の培養神経回路上に 3 次元的に堆積させるという発想である。剥離・移動時のダメージを指標に手法としての評価を行い、磁性ナノ粒子を導入したアストロサイトのみでの培養細胞塊を形成、これを単層培養神経回路網上に静置して 24 時間培養後に単層培養神経回路網の回収・移動を行う手法を確立した。この手法で複数の細胞層を積層した試料を作成、層間の結合形成によると考えられる電気活動変化の検出に成功した。

以上、設定した 3 つの課題に対して得られた研究結果に基づき、第 6 章で結論と今後の展望について総括している。なお、本論文第 3 章、第 4 章、第 5 章は、神保泰彦、小谷潔、森口裕之、高山祐三、斎藤亜希、との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験及び解析を行ったものであり、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

従って、博士 (科学) の学位を授与できると認める。