

同志社大学

2015年度 個人研究費研究経過・成果報告書

2016年 4月 27日提出

所 属	職 名	氏 名
生命医科学部	教授	仲町英治
研 究 題 目	生体適合圧電材料 MgSiO ₃ を用いた神経再生用力学・電磁場創生デバイスの開発	
研 究 成 果 の 概 要	<p>本研究では、生体適合圧電材料 MgSiO₃ (MSO と略記) を用いた神経再生のための力学・電磁場創生デバイスの開発を目指している。MSO ダイアフラムによる力学・電位場に加え、ポールピースを用いた交流電磁場を重合した細胞周辺環境創生により、疑似神経細胞 PC12 の軸索伸展の加速を可能にする Bio-MEMS デバイスの創製を目指す。本デバイスにより抹消・中枢神経組織再生の重要因子である軸索伸展速度の増大が可能となると考える。</p> <p>以下に示す主要5課題を対象として研究を遂行する。研究の流れと担当を図2に示す。</p> <p>(1) コンピュータシミュレーションによる軸索伸展に対する細胞周辺環境の影響を検討する (担当：仲町・森田・博士前期課程学生1名)：新たに、セルラーオートマトン法に基づく軸索伸展シミュレーションプログラムの開発を開始した。細胞成長因子 (NGF) およびラミニンの効果、および損傷部位の再生を阻害する因子 CSPG の拮抗を数理モデル化することで、神経ネットワークの再構築可能かどうかを判断するためのプログラム開発・検証実験を行うことにした。</p> <p>(2) ラット由来疑似神経細胞 PC12 の軸索伸展の基本メカニズム解明用 Bio-MEMS デバイスの開発 (担当：仲町・森田・博士前後期課程学生各1名、協力：南アフリカ Stellenbosch 大学 Dawie van den Heever 博士)：2014年度に引き続き MEMS 技術を用いた PC12 細胞トラップ用マイクロピラーアレイの創製を行い、単、双、多細胞の捕捉・パターンングが可能であることを確認した。軸索伸展の顕微鏡観察が可能な Bio-MEMS デバイスの開発を行い、神経軸索伸展の基本メカニズムの解明を行い、影響因子として細胞間距離および相対角度が軸索伸展に及ぼす影響を調査した。</p> <p>(3) 生体適合圧電材料 MSO 多層膜ダイアフラムによる2次元応力・静電磁場負荷装置の作製と PC12 による軸索伸展観察 (担当：仲町・森田・博士前後期学生各1名、協力：南アフリカ Stellenbosch 大学 Dawie van den Heever 博士) 申請</p>	

者らが発見、開発した生体適合圧電材料 MSO 多層膜を円形ダイヤフラムの上層に成膜し、ユニモルフ型アクチュエータを作製することで、交流電圧負荷による繰返し応力・ひずみと電位場刺激が可能なデバイスを創生する。その膜上に PC12 を播種し軸索伸展の状態を観察する。顕微鏡下の観察が可能となるように、MEMS 技術を用いて板薄膜構造の設計・製作を行った。

(4) ポールピースによる交流電磁場創生デバイス開発と細胞活性実験 (担当: 仲町・森田・博士前後期学生各 1 名, 協力: 同志社大学理工学部高橋博士) Blackman らのヘルムホルツ磁場発生装置による研究および申請者らのポールピース構造による交流磁場を用いた先行研究により、 $4.2 \mu\text{T}$ の磁場刺激により神経軸索伸展が増大することが確認された。本研究では、任意の磁場勾配を持つ交流電磁場環境を創生することで、電磁場の平均値および勾配値が PC12 細胞の軸索伸展の加速およびの伸展方向の制御を可能とすることを実験検証することを旨とした。2016 年度に継続することとなった。

(5) 力学・電磁場細胞周辺環境創生デバイスの開発と PLA・PGA ナノファイバー 2 層構造神経チューブによる PC12 軸索伸展最大化探索: 本課題は最終段階の研究課題であり、平成 26 年度で完結すると考えていない。神経再生用足場として、森田・仲町および博士前期課程学生らの先行研究で開発した PLA ナノファイバーによる 2 層構造チューブに加えてコーラゲン塗布の複合構造の設計・製作を行う。また、課題 (3)、(4) の成果を踏まえて、図 7 に示す力学・電位場および交流電磁場の重合による細胞周辺環境の創生のためのデバイス設計と製作を行う。本デバイスによる軸索伸展速度の増加と伸展方向制御の可能性を確認する。細胞周辺環境のシミュレーションについては有限要素法の権威であるスペイン・カタロニア工科大の Onate 博士による検証を受ける。

平成 28 年度以降の研究計画・方法

27 年度以降には、課題 (1) では、課題 (3) - (4) の力学・電磁場細胞周辺環境の神経軸索進展への影響の観察結果を踏まえて、細胞周辺環境の影響を考慮した神経軸索伸展解析用のフェーズフィールド数理モデルの構築を目指す。課題 (2) のマイクロピラー-Bio-MEMS デバイスによる軸索伸展実験観察では、多細胞の条件において細胞の配置が軸索伸展に及ぼす影響の定量的評価とその結果を基に数理モデルの開発を行う。課題 (3)、(4) では負荷するひずみ・電位場および交流磁場の精密な計測結果を基に定量的な評価を行う。特に 3 次元交流電磁場創生のためのポールピースの設計と PC12 を用いた実験検証を継続して行う。実験結果の統計的処理により、伸展に最も効果のある再生環境を高精度で予測することが可能になると考える。28 年度以降は、平成 27 年度の研究を踏まえて、課題 (5) を研究の中心とする。力学・電磁場を重合した再生デバイスの再設計・再試作および 3 次元 2 層構造ガイドチューブによる in-vitro 実験、最終段階としてラットおよびビーグル犬の神経再生実験を行う。