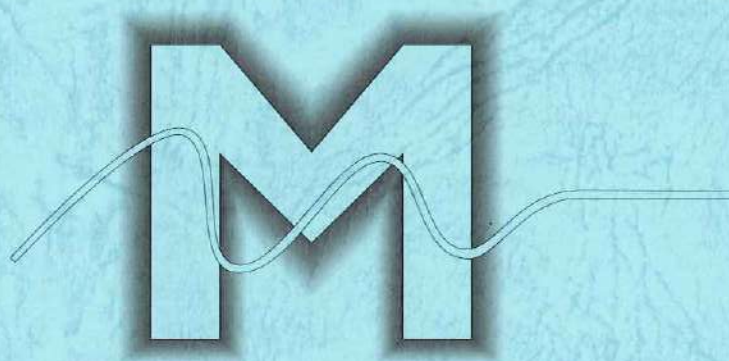


THE REPORT OF STUDY RESULT BY SUBSIDY

助成研究成果報告書

2014

平成26年度



Magnetic Health Science Foundation

公益財団法人 磁気健康科学研究振興財団

助 成 研 究 成 果 報 告 書

平成26年度

(研究期間：平成27年4月1日～平成28年3月31日)



目 次

巻頭言	1
理事長 小谷 誠	
I. 基礎研究	
I-1. 血管形成過程に及ぼす静磁界ばく露影響のin vivoイメージング法による検討	3
東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 増田 宏	
I-2. 静磁場応答性クロノシグナルを介する概日適応システムの制御	6
東邦大学 医学部 生理学講座 田丸 輝也	
I-3. MR装置の静磁場を夜間利用した再生医療に有用な骨形成促進技術の開発	8
奈良県立医科大学 健康政策医学講座 赤羽 学	
I-4. 安定同位元素集積化高分子プローブの設計・合成と革新的分子標的MRI法への利用	11
京都大学 学際融合教育研究推進センター 近藤 輝幸	
I-5. 光学磁気センサーに基づく新しい脳磁計の開発	15
東北大学 学際科学フロンティア研究所 井上 壮志	
I-6. 生体リズムへの磁気応答を探るための光受容タンパク質分子の磁気感受	17
埼玉大学 理工学研究科 前田 公憲	
II. 応用研究	
II-1. 耳鳴りの抑制: マルチインダクタアレイによる経頭蓋磁気刺激法の開発とその評価	20
北海道大学大学院 情報科学研究科 館野 高	
II-2. パーキンソン病における経頭蓋的直流電気刺激と運動学習課題を併用した 新規リハビリテーション法の開発	23
名古屋市立大学大学院 医学研究科 植木 美乃	
III. 指定テーマ研究	
III-1. 磁気を用いた破骨前駆細胞体内循環の制御: 臨床応用可能な先端的・非侵襲的骨吸収誘導法の開発	27
九州大学大学院 歯学研究院 久木田 敏夫	

巻 頭 言

公益財団法人 磁気健康科学研究振興財団

理事長 小 谷 誠

人間の身体はおよそ0.1ボルトの電圧で働いている。たとえば、私たちが右手の中指を動かすときには、左脳の中央部の表面にある運動野の中指を担当する脳細胞に0.1ボルトの電圧が発生し、その電圧に伴って発生する電流が脳から神経細胞を流れて、中指まで伝わり、中指を動かす神経細胞を刺激して中指を動かすのである。

電気理論によると、電流が流れると必ず磁気を発生する。このように電気と磁気は密接な関係がある。

一般に電気を流すためには、往きと帰りの2本の電線が必要であり、電気の流れるスピードも1秒間に30万Km、すなわち、1秒間に地球を7周半進む速さである。それに対して、人体の中では、往きだけの神経細胞で電気を流し、速度も最速の神経細胞でも1秒間に100メートルと極端に遅い。このように人体内を流れる電流が、通常の電気の流れる方法とまったく異なるのは、多分、地磁気の影響があると考えられる。

人間がこの世に登場し、立って歩き、言葉を交わすようになったのは、今から数百万年前と云われている。この間に、地磁気の大きさと方向が何度も変わっている。

このように地磁気の大きさや方向が大きく変わる環境の中で人間は進化してきたので、地磁気の影響はあまり受けないように人体はできている。

ところが、人間が電気を使うようになったのは、200年ほど前からである。そのため、人体は電気に対しては防衛能力が進化しておらず、大変敏感に反応する。例えば、心臓の表面に数ボルトの電圧を加えると心臓は正常に働かなくなる。ところが、外部から磁気を加えて心臓を止めることは大変困難である。

このような人体の特徴から電気治療器は即効性があるが、取り扱いを間違えると大変危険である。それに対して、磁気治療器は危険ではないが、時間をかけてじっくり治療する必要性があると思われる。

本財団は生体磁気現象を通して国民の医療と健康に貢献することを目的として、学術研究を助成し、講演会を開催するなど、社会に向けた活動をしている。しかし磁気的作用は、基礎的現象から始まり、体内の複雑な相互作用への関与を通して生じるものであり、短期間の実験試行ではなく、長期間腰を落着けて追求して初めて明らかにされることが多い。

いっぽう昨今の学界においては、短期間に成果を挙げ、学位や業績に結びつけようとする雰囲気が高く、原因結果の関係が明白な現象や、客観的に説明できる現象に関心が集中するように見受けられる。これに対して本財団は、性急に成果を求めようとするよりも、長期間にわたる努力を覚悟して特定の問題に取り組む学究の徒を支援したいと考えている。

この報告書は、平成26年度に助成した研究の報告書を、原文のままにまとめたものである。基礎面から実際の応用にいたる広い範囲の研究が含まれているが、いずれもこの領域に新しい道を拓くことを目指している。この報告書が契機になって、志を同じくする研究者の間に連絡が始まり、磁気健康科学の発展に貢献することを期待している。

血管形成過程に及ぼす静磁界ばく露影響の in vivo イメージング法 による検討

Intravital microscopical exploration of modulatory actions of static magnetic field exposure on in vivo angiogenesis

増田 宏
Hiroshi Masuda

東京医科歯科大学・生体材料工学研究所，〒101-0062 東京都千代田区神田駿河台 2-3-10
Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University
2-3-10 Kanda-Surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo 101-0062 Japan

Abstract

Angiogenesis is known to be an important step for bone formation and wound healing. Previous findings suggest that magnetic fields could modify the regeneration of organs/tissues via the angiogenic process. To observe dynamic changes in the angiogenic process under exposure to a static magnetic field, we improved on the traditional closed cranial window method for rodent animals. The improved method allowed for in vivo and repeated imaging of the angiogenesis in mouse brains under the exposure at 80 mT of static magnetic field for about one month. The angiogenic process at early stages seemed to be accelerated with the exposure, although further investigations were required.

Keywords: angiogenesis, static magnetic field, in vivo imaging

1. 目的

幹細胞や iPS 細胞を用いて組織・臓器構築を試みる再生医学の分野では，近年，血管新生の誘導と促進が重要視されている¹⁻³⁾。これは分化誘導された細胞が組織・臓器を形成する場合，次に必要となるのが酸素や栄養を自らに補給する血管だからである。このため血管新生を惹起する物理化学的因子の探索が多くの研究グループによって進められている。

この血管新生を誘導・促進する物理化学的因子はこれまでにいくつも報告されているが，磁界ばく露もその候補になり得ると期待されている。磁界ばく露の骨修復促進作用は 1974 年に Basset らに発見⁴⁾されて以来多数報告されている。また，磁界ばく露が皮膚の創傷治癒を促すとの知見もあ

り，これら一連の修復過程において血管新生が重要な役割を担っていると考えられる。以上の知見から，磁界ばく露による骨修復や創傷治癒の促進作用は，磁界が血管新生に対し何らかの影響を及ぼした結果生じた可能性が示唆される。したがって，もし磁界がこれら再生過程で血管新生を促しているのであれば，その作用機序を解明することで再生医学における磁界応用の有用性が期待できる。

そこで本研究では，血管新生過程のダイナミックな変化を静磁界ばく露下で観察することを目指し，埋込型クラニアルウィンドウ法^{5,6)}の改良を試み適用した。

2. 方法

実験動物

本研究では8週齢の雄性SDラットおよび8週齢の雄性C57BL/6NCrSlcマウス(Sankyo Labo Service Co. Inc., Japan)を用いた。実験動物は、室温 $23\pm1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $50\pm20\%$ 、明暗が12時間ごとに制御されたクリーンルーム内にて飼育し、固形飼料は自由給餌、水は自由給水にて与えた。実験動物には手術および観察の間、吸入麻酔を施した。麻酔薬としてイソフルランと酸素の混合麻酔ガスを用いた。濃度約80%の酸素をキャリアーガスとし、処置に応じて2~3%のイソフルランを流量 500 mL/min で吸入させた。麻酔した実験動物はアクリル製脳定位固定治具に保定した。さらに深部体温を一定に保つためにプレート型ヒーターを下腹部に配置した。なお、本動物実験は東京医科歯科大学動物実験委員会の承認を得て実施されたものである。

クラニアルウィンドウ法

クラニアルウィンドウ法は我々がラット脳軟膜微小循環観察用に以前開発した手法^{5,6)}をマウス用に一部改良した。麻酔下の実験動物頭頂部皮膚を切開し、結合組織および骨膜、頭頂部頭蓋骨を取り除いた。頭頂骨の円形穴にガラス window をかぶせてシアノアクリレート系接着剤にて固定した。

静磁界ばく露

静磁界ばく露は実験動物頭頂部にネオジウム永久磁石を埋め込み施した。磁石は形状およびサイズ、重量の異なったものを何種類か用意し、動物の頭頂部に埋め込んだ。パイロットスタディで用いた磁石の表面およびクラニアルウィンドウ内の最大磁束密度はそれぞれ 360 mT および 80 mT であった。なお、偽ばく露を施す実験動物には磁気を帯びていないダミー磁石を用いた。

血管の in vivo イメージング

静磁界ばく露中のクラニアルウィンドウ内の血管新生過程は生体顕微鏡的に観察した。イソフルラン麻酔下の実験動物頭部を脳定位固定装置に固定し、実体顕微鏡(MVX10, Olympus Optical Co. Ltd., Japan)下に配置した。実態顕微鏡により観

察された血管像はCCDカメラ(DP70, MVX10, Olympus Optical Co. Ltd., Japan)により撮影し、オフラインで解析した。

3. 結果・考察

本研究では、クラニアルウィンドウおよび永久磁石の埋め込み法を改良し、これをラットおよびマウス頭頂部に適用することで、静磁界ばく露下での血管新生過程を観察した。

まず、クラニアルウィンドウおよび磁石の埋め込みに関する検討を行った。その結果、当初予定していたラットに比べマウスへの導入が、埋め込み後の経過観察を実施する上で利便性が高いことが分かった。クラニアルウィンドウについては、従前の手法を改良することによりラットだけでなくマウスへの導入も可能となり、ラットおよびマウスのそれぞれにおいてウィンドウ内を支障なく経日的に観察できるようになった。一方、磁石の埋め込みについてはマウスへの適用が優位であった。それぞれの動物に対しいくつかの形状、サイズ、重量の磁石を用意したが、ラットへの埋め込みに対してはサイズや取り回しなど複数の点で不都合が生じた。これに対しマウスについては、埋め込みが施術的に容易であること、また、その後も埋め込み状態が安定していることなどから、目的とする経過観察、すなわちクラニアルウィンドウ内の反復観察に適していると考えられた。以上の結果に基づき、観察対象動物を当初のラットからマウスに変更し、一連の in vivo イメージングを実施することとした。

次に、磁石を埋め込んだマウスのクラニアルウィンドウ内の観察可能期間を調査した。その結果、同一部位の血管形成過程を約ひと月にわたり経日的に観察可能であることを確認できた。図1の(a)および(b)は、それぞれ磁石埋め込み後1日目および28日目のクラニアルウィンドウ内観察像である。埋め込み後1日目では既存の脳軟膜血管網だけが観察されており、その他の血管は認められない。これに対し埋め込み28日後のウィンドウ内では新生された血管が網状構造を構築し、さらに静止画では示せないが微小循環動態も確認できた。以上の結果は、血管形成および血管網の3次元構築を静磁界ばく露環境下においても経日

的に観察できることを示している。しかも、血管運動をはじめとする微小循環動態パラメータに対する静磁界ばく露影響を評価できる有用性も併せ持つことが示せた。

前述の結果を受け、本手法を用いて血管新生過程への静磁界ばく露影響についてのパイロットスタディを実施した。マウスに対する静磁界ばく露処置および偽ばく露処置はそれぞれ永久磁石とダミー磁石の埋め込みにより行った。その結果、血管新生過程の初期段階において静磁界ばく露マウスの血管新生過程が偽ばく露マウスのそれに対して促進されていた。ただし、その後ばく露 35 日目まで観察を続けたところ、双方の差異は認められなくなった。以上の結果から、静磁界ばく露は血管新生過程の早期段階にのみ影響を及ぼすという可能性が示唆された。今後、観察インターバルを変えた評価など、更なる調査が必要である。

謝辞

本研究は平成 26 年度磁気健康科学財団より研究助成を頂き実施したものであり、発展的初期知見を得られたことに深く感謝いたします。

参考文献

- 1) Takebe, T. et al. J. Clin. Invest. (2014).
- 2) Takebe, T. et al. Nature 499, 481–484 (2013).
- 3) Takahashi, Y. et al. Transplant. proc. 46, 1166–1168 (2014).
- 4) Bassett, C. et al. Science 184, 575–577 (1974).
- 5) Masuda, H. et al. In Vivo 21, 471–479 (2007).
- 6) Masuda, H. et al. In Vivo 21, 555–562 (2007).



図 1 クラニアルウィンドウ内所見 クラニアルウィンドウ内を生体顕微鏡的に観察し撮影した。磁石埋め込み 1 日目(a)のウィンドウ内には既存の脳軟膜微小血管網だけが見られる。これに対し磁石埋め込み 28 日目(b)では血管が新生し、それらは 3 次元的な血管網を構築していた。また、これら血管網では血液循環も観察された。Bar: 250 μ m

静磁場応答性クロノシグナルを介する概日適応システムの制御
Regulation of circadian adaptive system
by static magnetic field-responsive Chrono-signal

田丸 輝也
Teruya Tamaru

東邦大学 医学部 生理学講座 細胞生理学分野, 〒143-8540 東京都大田区大森西 5-21-16
Department of Physiology, Toho University, School of Medicine
5-21-16 Ohmori-nishi Ohta-ku Tokyo 143-8540 Japan

Abstract

Mammalian intracellular signaling responsive to static magnetic field remains obscure. Circadian (clock) system orchestrates various physiological timings. So far, applicant found; i) Control of circadian system by circadian (Chrono-) signal via protein phosphorylation, ii) Alternations of circadian rhythm patterns by static magnetic field stimulus. In this project, I tried to elucidate the regulatory mechanism of static magnetic field-responsive circadian adaptive system, by investigating the molecular basis for Chrono-signal- controlled cross-talk between circadian system and magnetic field-responsive system. Here, I found that short time (30min) exposure to static magnetic field (below 1mT) temporally potentiated cAMP-mediated clock-synchronization in mammalian cells.

Keywords: circadian clock, static magnetic field, bioluminescence

1. 目的

生命は、如何にして、時空環境に適応する為のプログラムを獲得したのか？日周期時間や環境・ストレスへの適応系として、概日リズム現象を司る概日（時計）システムが解明されつつある¹⁻⁸⁾。概日システムの中核は、時計遺伝子（蛋白質）*Bmal1*, *Clock*, *Cry*, *Per* などが構成する転写・翻訳・翻訳後修飾等の過程をもつ細胞単位の分子時計である。分子時計は、環境への可塑的応答性として同調性を持ち、出力として、ゲノムワイドな遺伝子発現の日周性を支配し、全身の多様な生理機能のタイミングを統御している。

一方、生物には、位置情報をナビゲートする為の適応プログラムが必要である。その候補は、コンパス機能を担うとされる磁場応答系である。この場合の磁場は、地磁気のような静磁場である。しかし、哺乳類において静磁場が惹起する細胞内

化学反応・シグナル伝達カスケードについては体系的な解明がほとんど成されていない。

本研究の目的は、静磁場に応答するクロノ（概日時計）シグナルを介する哺乳類概日適応システムの制御機序を解明することである。

2. 方法

哺乳類培養細胞モデルとして、マウス繊維芽細胞株 NIH-3T3 に時計遺伝子レポータとして mPer2 プロモータ制御下に、PEST 配列を C 末端にふかして不安定化したホタル・ルシフェラーゼ (Per2-dLuc) を安定化発現した細胞 (NIH-3T3:Per2-dLuc) を用いた。NIH-3T3:Per2-dLuc を 35mm 培養ディッシュにコンフルエントな状態まで培養した。NIH-3T3:Per2-dLuc の生細胞における概日リズムは、Per2-dLuc 活性に相当する発光値として、クロノス（アトー）を用いて、数日間測定した。静

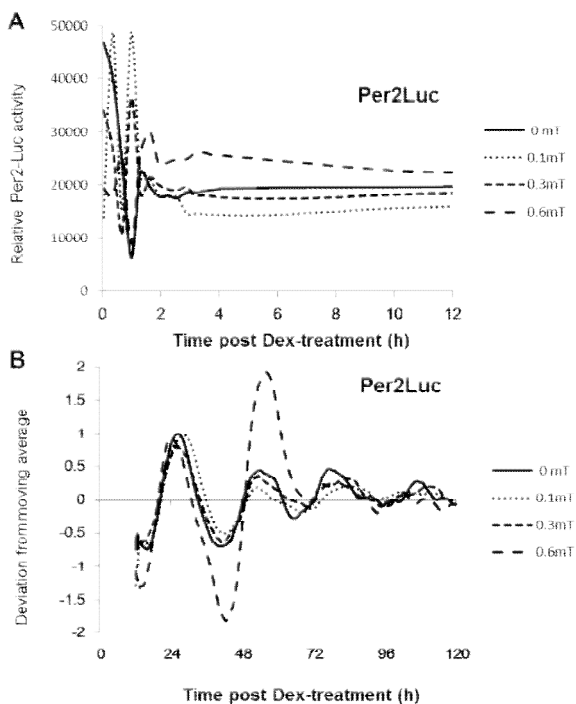


図1 静磁場によるcAMP-時計同調作用の増強

磁場刺激は、ヘルムホルツコイル（東洋磁気工業）を用いた。

3. 結果

この時計モデル細胞 NIH-3T3:Per2-dLuc に短時間の静磁場を与えたところ、環境磁場の 50 倍程度以内の強度でも、時計同調を起こさせることができなかった。ところが、個々の細胞の時計を同期させる為のセカンドメッセンジャーである細胞内cAMPを増加させるフォルスコリンを静磁場(0.6mT)と同時に短時間与えると、cAMPの時計同期作用を一過的に増強することが判った(図1B)。また、初期応答過程では、Per2-dLuc活性を一過的に抑制(0.6mT)、攪乱(0.1-0.3mT)した(図1A)。

4. 考察

静磁場応答性クロノシグナルの一部は、cAMPによる時計同期パスウェイに連なることが示唆された。今後、時計遺伝子レポータを発現したマウスのスライス培養(ex vivo)、生体内(in vivo)でも同様の現象が起きるか検討して、静磁場応答性クロノシグナルの発現部位を同定し、さらに、オミクス解析などで、静磁場応答性クロノシグナルの分子構成を解明したい。

謝辞

この研究は公益財団法人磁気健康科学研究振興財団の補助を受けて実施したものである。

参考文献

- 1) Tamaru T, Isojima Y, van der Horst GTJ, Takei K, Nagai K, Takamatsu K: Nucleocytoplasmic shuttling and phosphorylation of BMAL1 are regulated by circadian clock in cultured fibroblasts. *Genes Cells* 8: 973-983, 2003
- 2) Tamaru T, Hirayama J, Isojima Y, Nagai K, Norioka S, Takamatsu K, Sassone-Corsi P: CK2 α phosphorylates BMAL1 to regulate the mammalian clock. *Nat Struct Mol Biol* 16: 446-448, 2009
- 3) Tamaru T, Hattori M, Honda K, Benjamin I, Ozawa T, Takamatsu K: Synchronization of circadian Per2 rhythms and HSF1-BMAL1:CLOCK interaction in mouse fibroblasts after short-term heat shock pulse. *PLoS One* 6: e24521, 2011
- 4) Tamaru T, Hattori M, Ninomiya Y, Kawamura G, Varès G, Honda K, Mishra DP, Wang B, Benjamin I, Ozawa T, Takamatsu K: ROS stress resets circadian clocks to coordinate pro-survival signals. *PLoS One* 8: e82006, 2013
- 5) Tamaru T, Hattori M, Honda K, Nakahata Y, Sassone-Corsi P, van der Horst GTJ, Ozawa T, Takamatsu K: CRY drives cyclic CK2-mediated BMAL1 phosphorylation to control the mammalian circadian clock. *PLoS Biol* 13: e1002293, 2015
- 6) Tamaru T, Ikeda M: Circadian adaptation to cell injury stresses: a crucial interplay of BMAL1 and HSF1. *J Physiol Sci*: DOI 10.1007/s12576-016-0436-5, 2016
- 7) 田丸輝也: 中枢時計と末梢時計: 時計遺伝子研究の最前線 B.7. Bmal1 遺伝子と概日リズム形成. *Clinical Neuroscience* 25: 1116-1117, 2007
- 8) 田丸輝也: 周期性の生命科学—時計分子医療に向けて「日周性シグナルによる生理機能制御. *東邦医会誌* 60: 289-291, 2013.

MR装置の静磁場を夜間利用した再生医療に有用な 骨形成促進技術の開発

Exposure of MSCs constructs to static magnetic fields from MRI

赤羽 学*

Manabu Akahane*

*奈良県立医科大学健康政策医学講座, 〒634-8521 奈良県橿原市四条町 840

*Department of Public Health, Health Management and Policy, Nara Medical University
840 Shijo-cho, Kashihara, Nara 634-8521 Japan

Abstract

To evaluate the effects of SMFs, exposure of TCP construct combined with rat mesenchymal stem cells to 7 T SMFs from MRI system for 3 hours was carried out in this study. Influences on expressions of biological markers and *in vivo* bone formation were examined. No significant influences on expression on biological markers and *in vivo* bone formation were detected to rat MSCs. The results of this study would be useful as a safety information for MRI system users.

Keywords: static magnetic field, bone formation, mesenchymal stem cell, MRI

1. 目的

磁気共鳴画像検査（MR 検査）は、出血や梗塞、軟部組織の検出に優れる画像診断手法であるため、我が国では広く普及してきた医療機器の一つである。近年の傾向として、撮像上の利点（S/N 比向上等）があることから装置の高磁場化が顕著であり、高磁場装置である 3 テスラ（T）磁気共鳴画像検査装置（MR 装置）の臨床への導入が急速に進んでいる。MR 装置からは常に磁界が発生しているが、基幹病院を除き夜間は検査を休止しており、装置稼働率は必ずしも高くはなく、夜間に MR 装置から発生する磁界が無駄になっている。

本研究では、MR 装置の静磁場を夜間利用し再生医療に有用な骨形成促進技術を開発することを目的とする。本申請課題では、静磁場による骨形成促進に関する基礎的技術の開発を目的に、ラットの培養骨髄細胞を用いて静磁場が骨形成に与える骨形成促進効果を評価するとともに、培養骨

髄細胞に対する静磁場の負の影響の有無を確認するための研究を行った。

2. 方法

2. 1. 骨髄間葉系幹細胞の採取と培養

7 週齢、雄の F344 ラット両大腿骨より骨髄細胞を採取し、T75 フラスコ（75cm² culture flask）で初期培養を行った¹。細胞培養は、Earle's minimal essential medium に 15% 牛胎児血清と抗生剤（100U/mL penicillin と 100 μg/mL streptomycin; ナカライテスク）を加えたものを標準培地として行った。2 週間後、0.25% トリプシン/EDTA（Gibco, Invitrogen, USA）で処理後、骨髄間葉系幹細胞を細胞浮遊液として採取した。

骨形成能が異なる細胞を準備するため、得られた細胞をさらに継代培養して P1 細胞と P2 細胞を準備して、以下の実験に用いた。

2. 2. 培養人工骨作製

P1細胞とP2細胞を 1×10^6 cells/mlの密度に骨髓間葉系幹細胞浮遊液を調整し、人工骨（ β -リン酸三カルシウム：TCP、5mm径・2mm厚）に骨髓間葉系幹細胞を含浸させた後、2次培養を標準培地にデキサメサゾン（10 nM）、アスコルビン酸（0.28 mM）、 β -グルセロリン酸（ β -GP：10 mM）を添加し14日間行い「培養人工骨」を作製した²。

2. 3. 培養人工骨の磁界ばく露

実験装置として、外部利用が可能な大学・研究機関のMR装置を利用し、MR対応（非磁性）CO₂インキュベータを用いて培養人工骨の磁界ばく露を行った。ばく露磁界強度は、7T動物MR装置を用いて行った。ばく露時期は、我々のこれまでの研究結果を参考に2次培養期間の後半（7～14日）で行った。ばく露時間は細菌のコンタミネーションのリスクを考慮し、一日3時間とした。非ばく露群も同インキュベータを用いて培養を行い、対照とする。ばく露期間中の培地をサンプリングし、オステオカルシン定量を行った³。

2. 4. 培養人工骨の移植

磁界ばく露後の培養人工骨をF344ラットの背部皮下に移植し（ばく露群・非ばく露群を準備し移植）³、4週間後に摘出して骨形成を評価した。

2. 5. 骨形成の評価

2. 5. 1. 骨分化度の評価と安全性評価

in vitro評価で骨分化度の評価と骨髓間葉系幹細胞に対する高磁場の安全性評価を行った。人工骨の培養開始後の磁界ばく露期間（5～14日）において、培地交換時に培地サンプリングを行い、培養液中に含まれる分泌オステオカルシン量をエライザ法を用いて測定した³。ばく露群と対照群の分泌オステオカルシン量を比較することで移植後の骨形成が予測できる。

2. 5. 2. 移植後の骨形成能評価

in vivo評価で移植後の人工骨内における骨形成を評価した。磁界ばく露後の培養人工骨をラットに移植して骨形成を対照群と比較した。

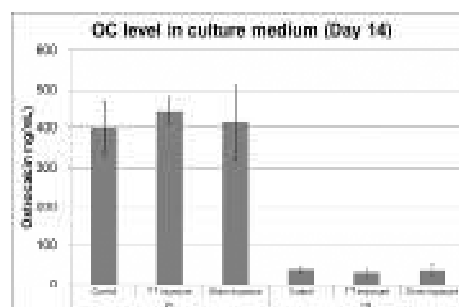
移植4週後に摘出し、10%ホルマリン固定を行

った後、K-CX液（Falma Co. Tokyo, Japan）で脱灰処理を行い、H-E染色切片で組織学的に骨形成を評価した。生化学的評価として、アルカリフォスファターゼ活性を測定した³。

3. 結果

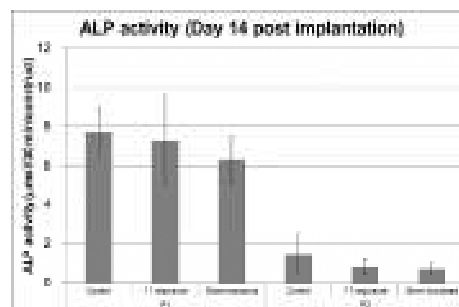
3. 1. 培地中のオステオカルシン量

人工骨培養最終日の培地に含まれる分泌オステオカルシンをエライザキットを用いて定量した結果を図に示す（平均±S.D、n=6）。



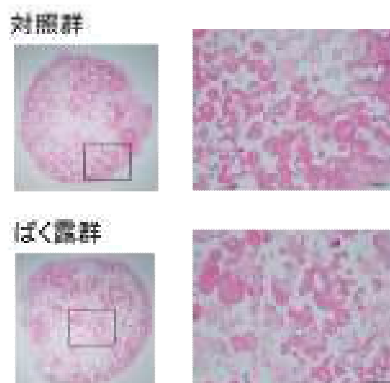
3. 2. 摘出した人工骨のアルカリフォスファターゼ活性

4週後に摘出した培養人工骨のアルカリフォスファターゼ活性を定量した結果を図に示す。



3. 3. 組織像

4週後のH-E染色を図に示す。対照群とほぼ同程度の骨形成がばく露群でも認められた。



4. 考察

幹細胞を用いた再生医療に関する研究は急速な発展を遂げ、心不全治療等に臨床応用が開始されている。我々は骨髓間葉系幹細胞を用いた骨再生医療研究を行い、骨形成能を持たない人工骨に幹細胞浮遊液を含浸して骨形成能を付与した「培養人工骨」を開発し、大腿骨頭壊死に対して臨床応用し、良好な骨再生を得た。しかし、外傷や腫瘍切除術等に伴う広範囲骨欠損治療等に応用するには、さらに強力な骨形成能が求められている。幹細胞の骨形成能を高める方法として、BMP (bone morphogenetic protein) が強力な骨分化誘導能をもつため有望であると考えられてきたが、臨床で利用する際の骨形成量のコントロールの難しさや費用対効果から、わが国では未だ臨床応用はされていない。超音波を用いた骨形成促進技術も臨床応用されているが、必ずしも期待通りの効果が得られるものではなく、これらを「培養人工骨」への骨形成能付与に応用することは難しい。

高磁場による骨への影響を観察する基礎研究が行われ、骨芽細胞の磁界への応答性が *in vitro* 及び *in vivo* で確認され、骨形成が促進されると報告されている。そこで本研究では、MR 装置中で細胞培養を行い、非稼働時の MR 装置の均一性の高い静磁界を再生医療分野に応用することを最終目標として、実験を行ったが明らかな骨形成促進効果は得られなかった。今後は本研究結果に基づいて骨形成を刺激できる磁場の条件を詳しく検討する必要がある。

一方で MR 装置の高磁界化は、患者や MR 装置のオペレーター (MR 検査業務従事者) への生体影響に高い関心が持たれている。静磁界ばく露の人体防護指針については、2009 年 4 月に公表された ICNIRP (国際非電離放射線防護委員会) で職業ばく露で 8T まで引き上げられているが、人体防護指針の適切なレバイスのためには基礎研究の継続が重要である。骨芽細胞は静磁界に対し応答性が高く細胞機能変化がもたらされることが知られている。本研究のもう一つの側面として、安全性における基礎知見を獲得する意味があったが、対照群と比較し分泌オステオカルシン量の差や移植後の骨形成に明らかな差が見られなかったため、高磁場による骨細胞への負の影響は少ない

ものと考えられる。

発表

1. 山口さち子、吉良務、関野正樹、赤羽学 医療機器から発生する電磁界の骨組織への作用評価 第8回医用生体電磁気学シンポジウム 東京 2016 年 1 月 25 日

謝辞

この研究は公益財団法人磁気健康科学研究振興財団の補助を受けて実施したものである。

参考文献

- 1) T Kira, M Akahane, et al. Effectiveness of bone marrow stromal cell sheets in maintaining random pattern skin flaps in an experimental animal model. Plastic Reconstructive Surgery. 2015;136:624e-32e.
- 2) A Nakamura, M Akahane, et al. Osteocalcin secretion as an early marker for *in vitro* osteogenic differentiation of rat mesenchymal stem cells. Tissue Eng. Part C Methods. 2009;15:169-80.
- 3) M. Akahane, A Nakamura, et al., Secretory osteocalcin as a nondestructive osteogenic marker of tissue-engineered bone, Journal of Orthopaedic Science. 2011;16. 622-28.

安定同位元素集積化高分子プローブの設計・合成と 革新的分子標的 MRI 法への利用

Probe-Targeted Focal Magnetic Resonance Imaging with a ^1H - ^{13}C - ^{15}N -Labeled Polymer Nanoprobe

近藤 輝幸

Teruyuki Kondo

京都大学学際融合教育研究推進センター先端医工学研究ユニット

〒615-8510 京都市西京区京都大学桂

Advanced Biomedical Engineering Research Unit

Center for the Promotion of Interdisciplinary Education and Research, Kyoto University

Katsura, Nishikyo-ku, Kyoto 615-8510, Japan

Abstract

A $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -labeled phosphorylcholine polymer (PMPC) was designed, synthesized, and functionally evaluated as a concentration-amplified, spectroscopically well-behaved, size-controlled and highly biocompatible molecular probe. EPR effect enables accumulation of a probe in the tumor in tumor-bearing mice, selectively, thus rendering the tumor a focus that is clearly visualized by focal ^1H - $\{^{13}\text{C}$ - $^{15}\text{N}\}$ MRI without staining normal organs and with the complete suppression of noise from water and endogenous lipids. Conjugation of ^{13}C -PMPC with scFv gave ^{13}C -PMPC/scFv probe with active targeting ability toward HER2(+) tumor, efficiently. Metabolic/pharmacokinetic analysis of $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ L-Dopa/ $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ Dopamine in brain was traced by a triple-resonance NMR technique. The present study causes innovation in the area of MRI.

Keywords: MRI, Multiple-resonance NMR, Stable isotope-enriched, MPC, PMPC, Active targeting, Passive targeting, EPR effect, L-Dopa, Dopamine

1. はじめに

腫瘍（がん）の早期診断と治療を実現する“医療分野の科学技術イノベーション”は、世界の人々に健康な暮らしと生活の質（Quality of Life, QOL）の飛躍的向上を約束する。同時に、医療診断分野での新産業の勃興を促し、大きな経済効果をもたらすとともに、将来的に医療費の大幅な削減が期待される。本助成研究では、被曝ゼロで腫瘍の早期診断を実現することを目的として、“安定同位元素ラベル化磁気共鳴イ

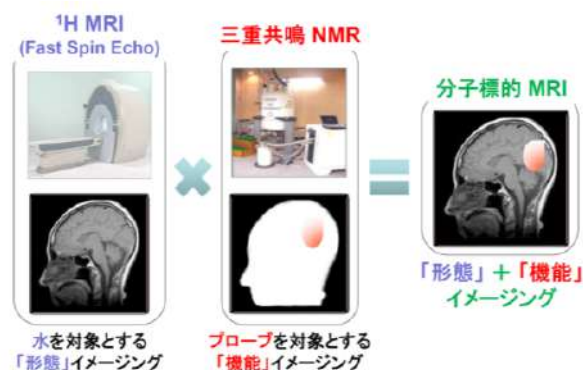


Figure 1. Concept of Probe-targeted MRI.

メージング (MRI : Magnetic Resonance Imaging) プローブ” の創製と、多重共鳴 NMR (Nuclear Magnetic Resonance) 法との融合による新原理の“分子標的 MRI 法”の開発に取り組んだ (図 1)

多重共鳴 NMR 法とは、異なる Larmor 周波数を有する隣接した NMR 活性な核 (^1H , ^{13}C , ^{15}N 核など) の間で磁化コヒーレンスを移動させる手法であり、これまでタンパク質や核酸の高次構造解析の有効な手法として利用されてきた (図 2) ¹⁾。

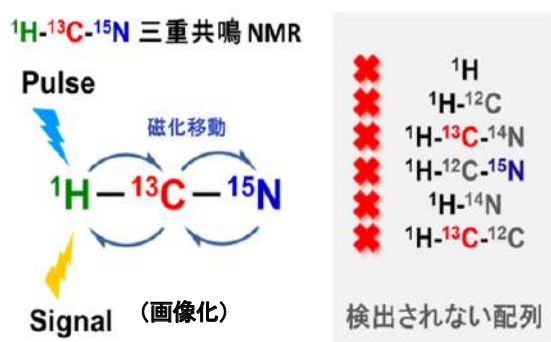


Figure 2. Principle of Triple-resonance NMR.

そこで本助成研究では、生体適合性に優れた“安定同位元素ラベル化高分子プローブ”を新規に合成し、三重共鳴 NMR 法と MRI の測定法の一つである Fast Spin Echo 法との融合による新原理の“分子標的 MRI 法”の開発に成功した。

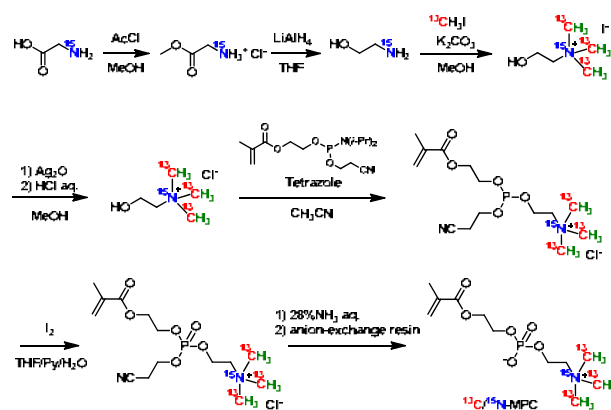
2. 安定同位元素集積化高分子プローブの設計・合成と革新的“分子標的 MRI 法”への応用²⁾

2-1. 安定同位元素集積化高分子プローブ $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -PMPC の合成

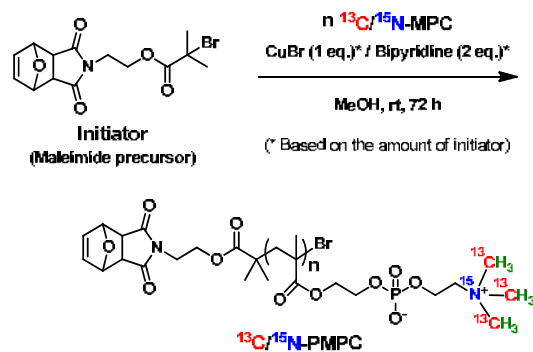
細胞膜脂質の一部であるホスホリルコリン骨格を、安定同位元素である ^{13}C 核および ^{15}N 核で二重ラベル化した生体適合性ポリ 2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン ($^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -MPC) を ^{15}N グリシンを出発原料とし、 ^{13}C -ヨウ化メチルを用いて合成した (スキーム 1)。

続いて、末端のマレイミド基をフランで保護

した開始剤、および銅/2,2'-ビピリジン触媒系を用い、 $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -MPC モノマーの原子移動ラジカル重合 (ATRP : Atom Transfer Radical Polymerization) を行い、安定同位元素の集積化を実現した $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ 二重ラベル化ポリ 2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリンプローブ ($^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -PMPC) の合成に成功した (スキーム 2, $M_w = 18,000, 60,000$)。



Scheme 1. Synthesis of $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -MPC from ^{15}N -glycine



Scheme 2. ATRP of $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -MPC to $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -PMPC

2-2. 溶液中における $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -PMPC の MRI 画像化 (in vitro)

20% H_2O (80% D_2O)、脂肪のモデルとしてオレイン酸 (neat, 1.1% ^{13}C -オレイン酸), ^{13}C -ラベル化 PMPC, $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -ラベル化 PMPC の全 4 種類のサンプルを並べ、従来の一般的な ^1H MRI, 非選択的 ^1H - $\{^{13}\text{C}\}$ 二重共鳴 MRI, および PMPC 選択的 ^1H - $\{^{13}\text{C}\}$ 二重共鳴 MRI, ^1H - $\{^{13}\text{C}$ - $^{15}\text{N}\}$ 三重共鳴 MRI 画像化について検討を行った (図 3)。

その結果、従来の一般的な ^1H MRI では、全てのサンプル中の ^1H シグナルが画像化されたが、非選択的 $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\}$ 二重共鳴 MRI では、オレイン酸、 ^{13}C ーラベル化 PMPC、および $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ ーラベル化 PMPC が画像化され(天然に存在する 1% の ^{13}C に由来。), 水の ^1H 画像シグナルが消失した。一方、ケミカルシフトで差別化した PMPC 選択的 $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\}$ 二重共鳴 MRI では、オレイン酸由来の ^1H 画像シグナルが消失し、 ^{13}C ーラベル化 PMPC、および $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ ーラベル化 PMPC のみが画像化された。さらに、 $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\}$ 三重共鳴 MRI では、 $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ ーラベル化 PMPC のみの画像化が可能であり、本ラベル化高分子プローブ ($^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ ーラベル化 PMPC) の“分子標的 MRI 法”への有効性が明らかとなった。

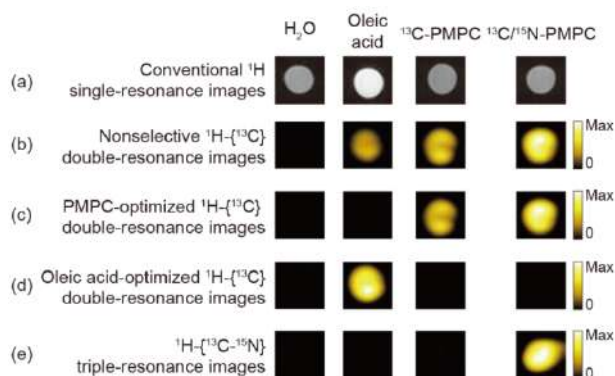


Figure 3. (a) ^1H single-resonance MR images. (b) $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\}$ double-resonance MR images under nonselective conditions using block pulses. (c) $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\}$ double-resonance MR images under selective conditions using Gaussian-shaped pulses optimized for PMPC ($\delta_c = 55.0$ ppm). (d) $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\}$ double-resonance MR images under selective conditions using Gaussian-shaped pulses optimized for oleic acid ($\delta_c = 30.0$ ppm). (e) $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\}$ triple-resonance MR images.

2-3. $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ ーPMPC の粒径に依存した EPR 効果による腫瘍集積性の検討

動的光散乱法 (DLS : Dynamic Light Scattering Method) と GPC (Gel Permeation Chromatography) とを用い、 $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ ーPMPC の粒子径とマウス体内動態との関係について詳細な検討を行った。腫瘍組織抽出液、および採取した尿を GPC で測定した結果、10 nm より小さい粒子は腎臓から尿排泄され、10 ~ 100 nm の粒子が EPR 効果 (Enhanced Permeability and Retention

Effect) により腫瘍に集積し、100 nm より大きい粒子は肝臓から胆汁排泄されていることが明らかとなった。

2-4. マウス個体の腫瘍部位に集積した $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ ーPMPC の分子標的 MRI 法による画像化 (in vivo)

担癌後 11 日目の上記マウスに、 $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ ーPMPC を尾静脈投与し、投与 30 分、1 日、2 日後の $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ ーPMPC のマウス体内動態を $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\}$ 三重共鳴 MRI 撮像により評価した。その結果、投与 2 日後には、 $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ ーPMPC が腫瘍組織に高選択的に集積している様子を、in vivo のマウス個体で観察することに成功した (図 4)。

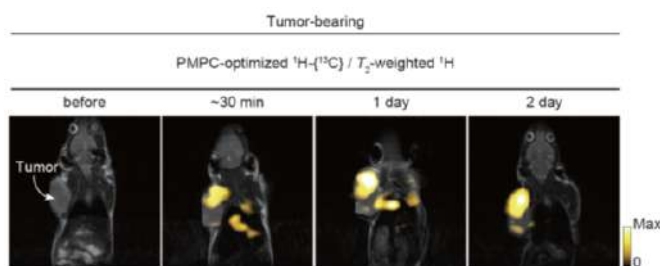


Figure 4. Probe-targeted MR images. Time-course of the change in merged images for a tumor-bearing mouse administered $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -PMPC_{63,000}.

以上の結果から、本研究で開発した ^{13}C 核と ^{15}N 核で二重ラベル化した高分子プローブ $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ ーPMPC は、受動的ターゲティング能を有し、その分子サイズに依存した EPR 効果により腫瘍部位に高選択的に集積することを、 $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ ーPMPC プローブを標的とした“分子標的 MRI 法”により可視化できることを明らかにした。

一方、腫瘍への能動的ターゲティング能を有する「乳癌特異的抗 HER2 人工抗体 scFv ($M = ca. 27$ kDa) を導入した ^{13}C ーPMPC/scFv プローブの設計・合成」にも成功した。すなわち、右肩に HER2 抗原を高発現している N87 ヒト胃癌細胞 (HER2(+)), 左肩に HER2 抗原を発現していない SUI2 ヒト膀胱癌細胞 (HER2(-)) を担癌したマウスに、この ^{13}C ーPMPC/scFv プローブを尾静脈投与し、22 時間後に T_2 強調

MRI 画像を撮像した結果, ^{13}C -PMPC/scFv プローブが HER2 (+) の N87 ヒト胃癌細胞にのみ集積しており, HER2 (-) の SUI2 ヒト膀胱癌細胞には集積しないことを明らかにした³⁾.

さらに, 神経伝達物質代謝過程の可視化を目指し, 「安定同位元素ラベル化 L-Dopa プローブの設計・合成」にも成功している. すなわち, $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ L-Dopa プローブと阻害剤とを共投与することにより, マウス脳内における $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ L-Dopa から $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ Dopamine への脱炭酸代謝過程を ^1H - $\{^{13}\text{C}$ - $^{15}\text{N}\}$ 分子標的 NMR 法により高選択的に追跡できること, およびモノアミン酸化酵素阻害剤の薬剤効果を直接評価できることを明らかにしている⁴⁾.

謝辞

以上の研究は, 公益財団法人 磁気健康科学研究振興財団の第 21 回 磁気健康科学研究助成を受けて実施したものである.

参考文献

- 1). Fan, T. W.-M.; Lane, A. N. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **2008**, 52, 69–117.
- 2) Yamada, H.; Hasegawa, Y.; Imai, H.; Takayama, Y.; Sugihara, F.; Matsuda, T.; Tochio, H.; Shirakawa, S.; Sando, S.; Kimura, Y.; Toshimitsu, A.; Aoyama, Y.; Kondo, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, 137, 799-806.
- 3) Yamada, H.; Hasegawa, Y.; Suzuki, Y.; Imai, H.; Matsuda, T.; Kimura, Y.; Toshimitsu, A.; Aoyama, Y.; Kondo, T.. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, 25, 2675- 2678.
- 4) Yamada, H.; Kameda, T.; Kimura, Y.; Imai, H.; Matsuda, T.; Sando, S.; Toshimitsu, A.; Aoyama, Y.; Kondo, T. *ChemistryOpen* **2016**, 5, 125-128.

光学磁気センサーに基づく新しい脳磁計の開発

Development of new magnetoencephalography based on optical magnetometer

井上 壮志*

Takeshi Inoue*

*東北大学学際科学フロンティア研究所/サイクロトロン・ラジオアイソトープセンター,
〒980-8578 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 6-3

*Frontier Research Institute of Interdisciplinary Sciences/Cyclotron and Radioisotope Center,
Tohoku University
6-3 Aoba, Aramaki, Aoba-ku, Sendai, Miyagi, 980-8578, Japan

Abstract

The optical magnetometer based on the nonlinear magneto-optical rotation was developed toward the new magnetometer of the magnetoencephalography. The operation conditions of the magnetometer, such as the frequency modulation width and the laser light power were optimized. We performed the measurement of the pulsed magnetic field by the optical magnetometer with the optimized conditions and detected the change of the magnetic field which was the order of 100 pT.

Keywords: magnetoencephalography, optical magnetometer

1. 目的

脳機能を調査するうえで重要な要因の1つが測定方法の非侵襲性である。非侵襲な測定法の1つに脳磁計がある。脳磁計は大腦皮質のニューロンから発生する微弱な磁場を計測し、脳の神経活動を調べる測定方法である。脳磁計は、その時空間的な分解能の高さから、脳の機能を非侵襲的に調べる手法の中で重要な役割を果たしている¹⁾。脳磁計で測定される磁場は、1 pT オーダー以下と10 μ T オーダーの地磁気と比較して何桁も小さい。このような極微な磁場を検出するために現在の脳磁計では、磁気センサーに超伝導量子干渉計(SQUID)を用いている²⁾。SQUIDは高感度磁気センサーであるが、超伝導状態を利用した計測機構であるため、液体ヘリウムによる冷却システムを必要とし、運転・維持に多大なコストを要する。また、冷却に必要なヘリウムが数十年以内に枯渇する可能性がある。そこで、本研究ではSQUIDに代わる新たな磁気センサーとして、安価に動作が

可能な非線形磁気光学回転(NMOR)効果³⁾に基づく光学磁気センサーの開発を行った。

2. 方法

光学磁気センサーのプロトタイプを構築し(図1)、最適な動作条件を調べた。NMOR効果とは、原子に共鳴する直線偏光を連続的に入射することで生成される原子のアライメント状態が磁場中で時間発展した後、再度入射した直線偏光と相互作用することで、直線偏光の偏光面が回転する効果である。この偏光面の回転角度がゼロ磁場付近では、磁場に線形に比例するため、回転角度を測定することで、磁場を求めることが可能になる。典型的なNMORスペクトルを図2に示す。対象となるRb原子を封じ込めたガラスセルを、環境磁場の影響を抑制するために磁気シールド中に設置し、DFBレーザーを用いて直径2 mmの直線偏光を照射して、NMOR効果を測定した。本研究では、回転角度を精密に測定す

るために、レーザー光周波数に 2 kHz の変調をかけて位相敏感検波を行った。そして、磁場感度に直結する NMOR 信号のゼロ磁場周辺の回転角度 ϕ の磁場 B に対する傾き $\Delta\phi/\Delta B$ の変調周波数幅依存性、及びレーザー光強度依存性を調べた。また、傾きが最大となる条件で、パルス磁場を印加し、実際の磁力計の応答を確認した。

3. 結果

NMOR 信号のゼロ磁場周辺の傾きの変調周波数幅依存性を図 3 (a) に、レーザー光パワー依存性を図 3 (b) に示す。変調周波数幅は周波数の上限値を ^{85}Rb 原子の D1 線 ($F=3$) のクロスオーバー遷移に固定して、下限値を変化させることで測定した。レーザー光パワー依存性は、レーザー光のサイズは変えずに全パワーを変化させて測定した。その結果、変調幅が 1.2 GHz、及びパワーが 500 μW のときに、傾きが最大となった。これらの条件下で、幅 25 ms、周期 125 ms のパルス磁場を印加したところ、図 4 に示す通りパルス磁場に同期する NMOR 信号が得られた。

4. 考察

傾きの周波数変調幅依存性は、Rb 原子吸収線幅のドップラー広がり $\Delta\nu$ によって決まる。吸収断面積が半値となる半幅 $\Delta\nu$ は室温で約 $\Delta\nu = 250$ MHz であるので、 $\Delta\nu$ の 5 倍程度変調することで傾きが最大となった。本研究では、回転角度を感度よく検出するために、位相敏感検波法を用いているため、2 kHz の変調間に直線偏光の吸収量の変化が大きいほど、信号が大きくなる。その為、 $\Delta\nu$ より大きく変調することが必要となる。一方、変調幅が大きすぎると NMOR 効果に関係しない時間が増えるため、信号が減少する。これらのバランスから室温の条件では、1.2 GHz が最適な変調幅となった。一方、レーザー光パワーに関しては、パワーが大きくなるほど、原子のアライメント状態の生成確率は上がっていくため、パワーの上昇に伴って、傾きが大きくなっていくが、パワーを上げすぎるとアライメント状態の緩和割合も大きくなる。傾きは NMOR 信号強度と線幅によって決まるが、線幅は緩和割合に反比例する。よって、アライメント生成確率と緩和割合のバラ

ンスにより、現状のセルでは 500 μW が最適なレーザー光パワーとなった。またパルス磁場印加の結果から、現状で最低でも 100 pT 程度の磁場変化が検出可能なことを示し、脳磁計用の磁力計としての基礎を築いた。

参考文献

- 1) 武田 常広, 内田 公, 遠藤 博史 : MEG と脳磁気イメージング, Med. Imag. Tech. 17, 43 (1999).
- 2) G. Uehara et al., : Multi-Channel SQUID systems for Biomagnetic Measurement, IEICE Trans. Electron, 86, 43 (2003).
- 3) D. Budker et al., : Sensitive magnetometry based on nonlinear magneto-optical rotation, Phys. Rev. A 62, 043403 (2000).

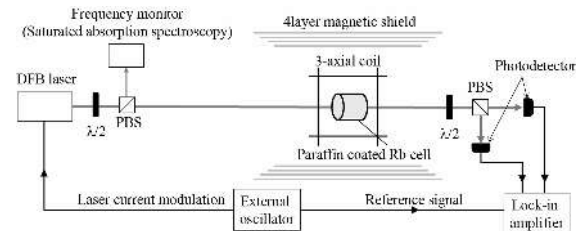


図 1. 光学磁気センサーの概要。

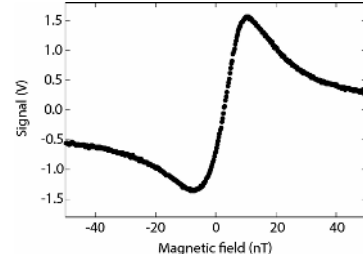


図 2. NMOR スペクトルの 1 例。ゼロ磁場付近で出力が磁場に比例している。

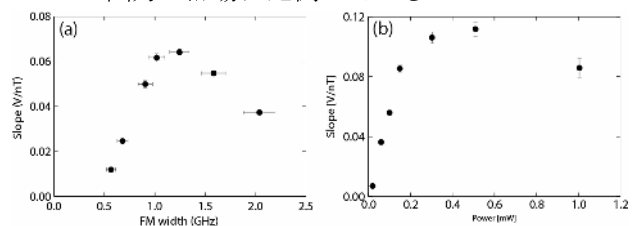


図 3. NMOR 信号の傾き $\Delta\phi/\Delta B$ の(a)周波数変調幅依存性、(b) レーザー光パワー依存性。

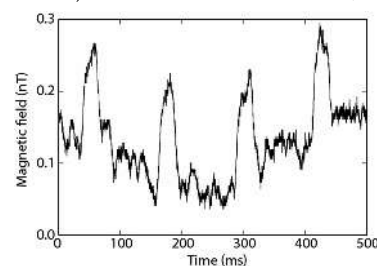


図 4. 光学磁力計のパルス磁場に対する応答。

生体リズムへの磁気応答を探るための光受容タンパク質分子の磁気感受

Magnetoreception of the photoreceptor protein investigated for the magnetic response for the biological rhythm.

前田公憲

Kiminori Maeda

*埼玉大学化学系, 〒338-8570 埼玉県さいたま市桜区下大久保 255

*Faculty of Science and Engineering, Saitama University

255 Shimo-Okubo Sakura ward, Saitama City, 102-0073 Saitama Pref. Japan

Abstract

Many magnetic field effects on the behaviour and the circadian response of creatures were reported. However, the mechanisms of them are still unclear. For the understanding of the problems, we had been targeting the photochemical reaction process of blue light receptor proteins: cryptochrome family molecules in vitro and discovered the MFEs on the electron transfer reactions by conventional transient absorption technique. In the present study, we improved the spectroscopic techniques. The cavity based spectroscopy and the newly developed MFE measurement improve the sensitivity and allow us to start measurement of the MFE in quasi-vivo conditions.

Keywords: magnetic field effect; cryptochrome; blue light receptor protein

1. 目的(purpose)

近年, 別々のグループにより, ショウジョウバエの行動¹⁾や, 概日リズム²⁾(人や動物の生体の24時間周期のリズム)に対する磁場効果が観測され, どちらも, ミュータント(遺伝子を操作した動物)を用いた実験との比較から, 青色受容体タンパク質クリプトクロムとの関係が指摘されている. さらに, 人間のクリプトクロム部分の遺伝子をハエに組み込んだ実験から, 人のクリプトクロムも磁場の影響を受ける可能性が示唆されている. 一方で, クリプトクロムは渡り鳥の磁気コンパスの最大候補と考えられており³⁾, この分子に対する興味が日に日に高まってきている. このような状況下において, 応募者らは, 植物におけるクリプトクロムや大腸菌由来の類似分子であるフォトリアーゼにおいて, ラジカル対機構

により良く説明される電子移動反応に対する磁場効果の存在を明らかにして報告してきた⁴⁾. また, 動物のクリプトクロム(ハエ, カエル)においても, 顕著な磁場効果が存在することを国際学会等で発表してきた. しかしながら, ここまでの成果を超えて, 磁場効果の詳細およびその磁場効果の信号の伝達プロセスを研究するには従来型の *in-vitro* な測定から一歩進み *in-vivo* に近い組織全体におけるラジカル対の生成と磁場の効果を観測する必要がある. そのためには, 感度, 空間分解能の飛躍的増大が必要不可欠である.

本研究では, これらの結果を踏まえて, より *in-vivo* (生体の状態により近い) な条件下での, 青色受容体(フラビン酵素)の分子磁気感受のメカニズムを探り, その後磁場の情報がどのようにシグナルとして伝搬していくのかという問題を

明らかにする為に、分光法を飛躍的に改良し、動物の網膜や大腸菌で発現するクリプトクロム類など、希少なサンプルでの光化学反応を的確に捉え、それに対する磁場の影響を観測する。

2. 方法 (method)

従来の過渡吸収法では、光励起による非常に小さな過渡吸収変化を観測するのは困難で、一般に磁場効果を有効に観測するには 10^{-1} から 10^{-2} 程度の過渡吸収が必要であった。しかし、生体分子は多くの場合サンプルが希少かつ濃度が低い、さらに光反応によりサンプルを消費する場合、光によりサンプルが劣化するため、長時間のデータ測定による S/N 比の向上が難しい。特に磁場効果の測定においては、磁場下と参照用のゼロ磁場下での測定をほぼ同じコンディションで行う必要があり、条件の安定性が求められる。そのため、光照射を小さく抑えて、小さな過渡吸収信号を高感度で測定する必要がある。

この目的から次のような測定法の改良を行った、

- 1) ダイオード励起パルスレーザによる、過渡吸収信号の発生を安定化させて、ショットごとのふらつきを軽減させる。
- 2) ダイオードレーザ光をプローブ光として用いて、バランス型検出器を利用することにより、参照光のバックグラウンド信号の問題を解決し、 10^{-3} オーダーの過渡吸収およびその磁場効果 (10^{-4} オーダー) を有効に検出可能にした。
- 3) キャビティを用いたラジカル過渡種の吸収測定のクリプトクロム系への応用。青色レーザにより生成した光反応中間体および生成物の吸収を、1 対のミラーによって作られたキャビティの中に閉じ込めた弱い光を用いてサンプルと強く相互作用させ、小さな吸収変化を観測する⁵⁾。
- 4) ナノ秒磁場スイッチング装置と、1)-3)の測定を組み合わせる事により、時定数などの問題から測定が困難であった、生体分子ラジカル対の寿命の観測にいくつも成功した。紙面の都合で、詳細は省略する。

3. 結果と考察 (Results and Discussion)

方法 1), 2) による改良により、これまで測定の困難であった磁場効果の精密な測定に成功した。図 1 はクリプトクロム等の青色受容体の補酵素である、FAD 水溶液における分子内電子移動反応に伴う磁場効果の測定である。これまで、FAD 水溶液においても、磁場効果を精密に測定するのは、その信号の弱さやレーザのふらつきから困難であった⁹⁾。本改良により図 1 のような磁場効果測定を、時間、磁場の両方に対して多角的に測定することに成功した。

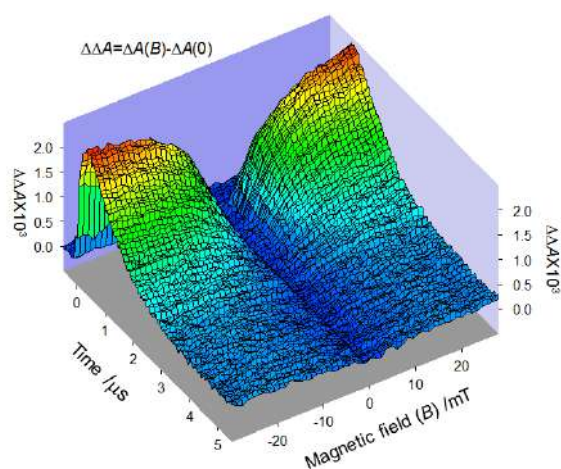


図 1: ダイオードパンプ YAG レーザ (355nm) を用いて得られた、 10^{-3} オーダーの過渡吸収信号の時間分解磁場効果。磁場は負から正に両極にスキャンしている。

クリプトクロム類における磁場効果の測定にも、新たな進展があった。それまで過渡吸収測定による磁場効果測定がなされてきたが、そのサンプルの濃度や希少さ、さらにはサンプルの再酸化が遅いことから、レーザ照射の繰り返しやその強度を抑えた測定が必要になり、苦労していたが、方法 3) のキャビティリングダウン測定によりシヨウジョウバエのクリプトクロム、*DmCRY* の過渡吸収測定に成功した。図 2 に *DmCRY* においてキャビティリングダウン法を用いて観測した、過渡吸収の時間変化スペクトルを示す。キャビティを用いて得られた磁場効果については現在、投稿準備中である。

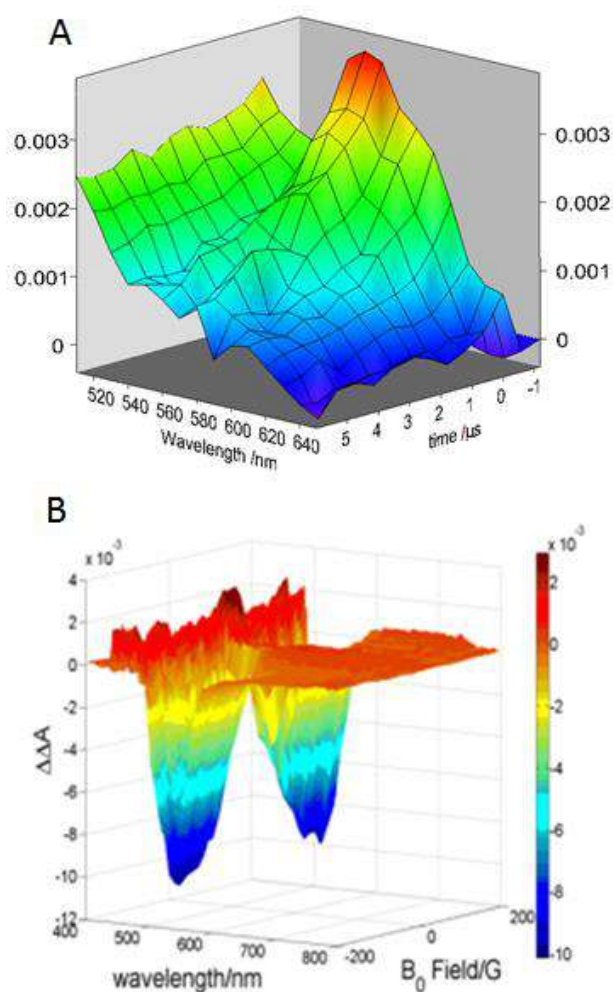


図2：キャビティリングダウン法を用いて測定した *DmCRY* の過渡吸収信号。10⁻³ オーダーの過渡吸収信号。定常光照射とスーパーコンテニウム光源を用いて測定した、波長分解磁場効果測定。10⁻⁵ オーダーの磁場効果の磁場依存性と波長依存性を同時に観測した。(磁場は正負両方にスキャンしている)

4. 学会・シンポジウム報告の場合

本論文の内容は3月8日に仙台で開催された『マグネティックス研究会』で報告したもの"ラジカル対機構と動物の磁気感受"である。

謝辞

この研究は公益財団法人磁気健康科学研究振興財団にの助成に加えて、科学研究費、スタートアップ、挑戦的萌芽研究の助成により行われた。さらに本研究は一部Oxford大学, P. J. Hore 教授, C. R. Timmel 教授, S. Mackenzie 教授らとの共同研究として行われた。

参考文献

- 1) R. J. Gegear, A. Casselman, S. Waddell, and S. M. Reppert, *Nature* **454** (7207), 1014-U1061 (2008); R. J. Gegear, L. E. Foley, A. Casselman, and S. M. Reppert, *Nature* **463** (7282), 804-U114 (2010).
- 2) T. Yoshii, M. Ahmad, and C. Helfrich-Forster, *Plos Biol* **7** (4), 813-819 (2009)..
- 3) K. Schulten, C. E. Swenberg, and A. Weller, *Z Phys Chem Neue Fol* **111** (1), 1-5 (1978). T. Ritz, S. Adem, and K. Schulten, *Biophysical Journal* **78** (2), 707-718 (2000).
- 4) K. Maeda, A. J. Robinson, K. B. Henbest, H. J. Hogben, T. Biskup, M. Ahmad, E. Schleicher, S. Weber, C. R. Timmel, and P. J. Hore, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **109** (13), 4774-4779 (2012).
- 5) S. R. T. Neil, J. Li, D. M. W. Sheppard, J. Storey, K. Maeda, K. B. Henbest, P. J. Hore, Christiane R. Timmel, and Stuart R. Mackenzie, *Journal of Physical Chemistry B* **118** (15), 4177-4184 (2014); K. Maeda, S. R. T. Neil, K. B. Henbest, S. Weber, E. Schleicher, P. J. Hore, S. R. Mackenzie, and C. R. Timmel, *Journal of the American Chemical Society* **133** (44), 17807-17815 (2011).
- 6) M. Murakami, K. Maeda, T. Arai *J. Phys. Chem. A*, **109**, 5793-5800(2005).

耳鳴りの抑制: マルチインダクタアレイによる経頭蓋磁気刺激法の開発とその評価

Suppression of tinnitus: developing an integrated transcranial magnetic stimulator using multi-inductor arrays and its evaluation

舘野 高*
Takashi Tateno*

*北海道大学 大学院情報科学研究科, 〒060-0814 札幌市北区北 14 条西 9 丁目

*Graduate School of Information Science and Technology, Hokkaido University
Kita 14, Nishi 9, Kita-ku, Sapporo, 060-0814 Japan

Abstract

This research project aimed to develop a multi-site transcranial magnetic stimulator, which is possible to suppress tinnitus-related neural activity in the brain. To achieve this end, we first evaluated a magnetic stimulator of a sub-millimeter size solenoid by using numerical simulation and constructing an experimental setup to measure the magnetic flux density around the solenoid. To test its effectiveness of the magnetic stimulator, we applied the stimulator to the surface and inside the brain and observed evoked neural activity by the autofluorescence imaging. In a planar formation of many solenoids, from the numerical calculation by linearly superimposing the magnetic effect, we speculated that increasing the number of the solenoids strengthens magnetic flux density at the target neurons in the tissue. Testing our system for larger animals will be one of the next steps to be examined in the near future.

Keywords: autofluorescence imaging, magnetic stimulation, solenoid, sub-millimeter size, tinnitus

1. 目的

磁気刺激 (magnetic stimulation, MS) 法は末梢および中枢神経系の神経活動の誘発法として現在広く用いられている。MS 法は生体組織と非接触 (経頭蓋) で神経 (脳) の活動を誘発できる利点があるが、脳内で十分な刺激強度が得られる装置は比較的大型である。このため、耳鳴り等の慢性疾患では、日常的に利用できる小型装置開発が求められるが、一般に小型コイルでは脳内で十分な強度が得られない難点がある。最近サブミリサイズの微小コイルを用いた micro MS (μ MS)法¹⁾が報

告された。 μ MS 法は、接触・非接触および局在型の次世代慢性刺激法として期待される。従来の報告例は全て単一ソレノイドを利用しており、多チャンネルの μ MS 法の報告例が現時点ではない。

本研究では、多チャンネルの μ MS 法の開発を目指して、まず、単一ソレノイドの μ MS 法の特徴を理解するため、数値計算、試作プローブ実験、および、動物脳への磁気刺激実験を行った。次に、それらの結果を基に、多チャンネル μ MS 法の刺激強度 (磁束密度) と耳鳴り抑止のための神経誘発刺激に対する可能性について検討した。最後に、

できた．今後、耳鳴り誘発剤と併用することにより、神経活動の興奮および抑制に磁気刺激が及ぼす影響を詳細に検討したい．今回は、マルチコイルの μ MS 基板の試作を行ったが、実際の磁気刺激には到らなかった．単一ソレノイドの数値計算から予測されるマルチコイル μ MS は、コイル近傍で凡そ 1.1 倍の磁束密度が得られる試算となった．今後は、実際の動物実験によってマルチコイル μ MS 法の効果を評価したいと考えている．

謝辞 本研究は磁気健康科学研究振興財団の補助を受けて実施したものである．

参考文献

- 1) G. Bonmassar, S. W. Lee, D. K. Freeman, M. Polasek, S. I. Fried and J. T. Gale, Nat Commun **3**, 921 (2012).
- 2) N. Derby and S. Olbert, American Journal of Physics **78** (3), 229-235 (2010).
- 3) S. Yang et al., Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc., pp. 6469–6472, 2006.

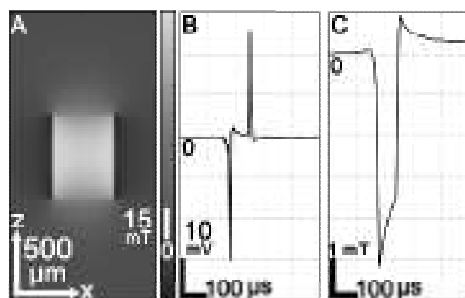


図 2：数値計算の磁束密度分布(A)，計測誘導起電力(B)，B から算出した磁束密度(C)

パーキンソン病における経頭蓋的直流電気刺激と運動学習課題を併用した新規リハビリテーション法の開発

Enhanced human motor cortical plasticity by combined mirror visual feedback therapy and transcranial direct current stimulation (tDCS) in patients with Parkinson's disease

植木美乃
Yoshino Ueki

名古屋市立大学医学研究科，リハビリテーション医学分野
〒467-8601 名古屋市瑞穂区瑞穂町川澄 1

Department of rehabilitation medicine, Nagoya City University Graduate School of Medical Science, 1 Kawasumi, Mizuho-ku, Nagoya 467-8601, Japan

Abstract

It is not yet known whether motor skill training of hand using mirror visual feedback (MVF) is useful to patients with Parkinson's disease (PD) in order to improve hand performance and whether MVF combined with anodal tDCS over M1 cause additional effect especially in point of motor cortical plasticity in PD. To elucidate it, we evaluate the effect of MVF combined with tDCS or sham stimulation in patients with PD. In PD, there were no significant changes in the motor performance of left hand and cortical excitability of right M1 by repetitive motor training of the right hand (non affected side) with MVF. However, when applying anodal tDCS over right M1 during motor training with MVF, motor performance of left hand and motor cortical excitability in right M1 were significantly improved and its effect was lasted until one week after. Thus, it is likely that motor training with MVF and M1 plasticity is impaired in PD, which is improved by anodal tDCS over M1.

Keywords: motor skill learning, mirror visual feedback, tDCS, Parkinson's disease

1. はじめに

パーキンソン病(Parkinson's disease: PD)では、運動学習における順序立て(sequential motor learning)のみならず運動要素の符号化(encoding motor memory)が障害される。さらに、我々の経頭蓋的磁気刺激法(Transcranial magnetic stimulation: TMS)を利用した既報告によれば、PD では大脳一次運動野(M1)の脳可塑性が低下しており、それがPDの運動学習障害と関連している¹⁾。そこで、本研究では、第一に運動技能学習として手指のボール回転ミラーセラピーを健常高齢者に適応し、運動

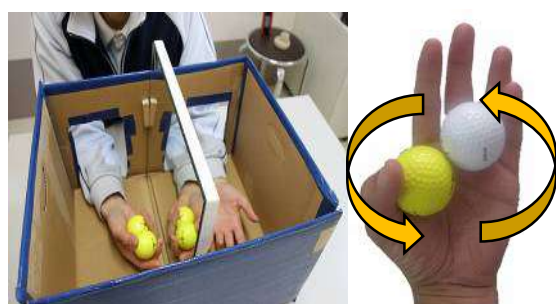
技能の向上と M1 可塑性の誘導が可能であるか TMS を用いて検討した。第二に、同様の手法を PD へ応用すると同時に M1 への経頭蓋直流刺激(tDCS)を併用することで、運動技能習得と M1 可塑性に与える影響を検討した。

2. 方法

健常高齢者 18 名(平均年齢 $\pm$ SD: 68.7 ± 6.8 years)、薬剤 off 条件の PD 14 名(平均年齢 $\pm$ SD: 70.1 ± 4.8 years)。PD 患者は UK Brain Bank Criteria の診断基準を満たし、off 条件で Yahr 2-3 の軽症の患者をリ

クルートした。全症例で症状有意側は左であった。

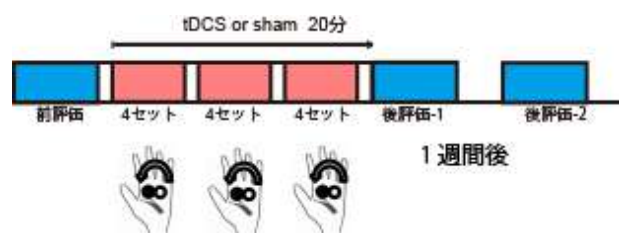
運動学習課題としてボール回転ミラーセラピーを用いた手指の運動技能習得課題を用いた。2個のゴルフボールを右手で素早く正確に反時計回りに回転させる課題で、被験者は両手を前方にある箱の中に入れ、仕切られた中央の鏡を見ながら右手のボール回転を視覚的にとらえ、左手がボールを回しているように錯覚させる視覚フィードバックを技能習得に利用した(図1)。30秒間のボール回転を10セット施行した。本学習課題はすでに健常若年者でターゲットとなる右M1の脳可塑性が誘導されることがTMSを用いて報告されている²⁾。



(図1)

tDCSは、電極(7-5cm)を右M1上(陽極)と左眼窩上の前額部(陰極)に電極を貼付し、刺激強度2mAで20分間与えた。Sham刺激は、30秒間で電流を上昇させ、30秒間維持し、30秒間で減弱させた。

実験プロトコル1は、健常高齢者に対してボール回転ミラーセラピーを用いた手指の運動技能習得課題を20分間行った。運動技能習得課題中の20分間にtDCSもしくはsham刺激を同時に与えた。評価として、左手の30秒間のボール回転数と右M1の興奮性を単発TMSにより誘導された運動誘発電位(Motor evoked potential: MEP)の振幅で定量化した。評価は、介入前、介入直後、1週間後の3回行い、tDCSもしくはsham刺激による効果を介入前、介入直後、1週間後で比較検討した。



(図2)

実験プロトコル2では、同様の手法をPD患者で行った。tDCSもしくはsham刺激による効果を介入前、介入直後、1週間後で比較検討した。

3.結果

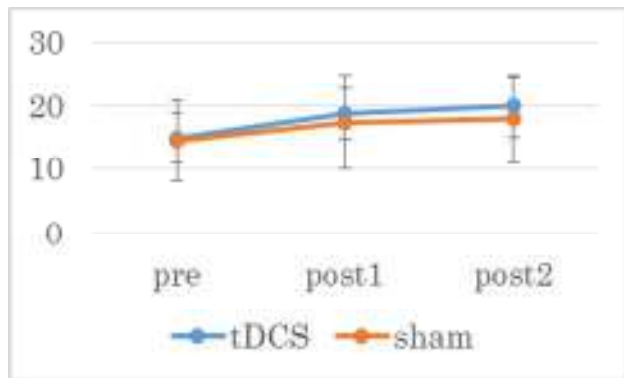
PD患者のプロフィールは表1にまとめた。PDでは、FAB (15.9 ± 1.5)、MMSE (29.1 ± 1.5)であり、全例前頭葉機能や認知機能は異常を認めなかった。9名は固縮・無動タイプでそれ以外は振戦タイプのPDであった。全例でジスキネジアやwearing-off現象を認めなかった。

	PD症例 tDCS群(n=7)	PD症例 sham群(n=7)
年齢(歳)	67.8 ± 2.3	70.0 ± 1.2
性別(M/F)	1/6	3/4
Hoehn & Yahr	$2.4 \pm 0.9(1 \sim 3)$	$2.8 \pm 0.5(2 \sim 3)$
罹病期間(年)	3.4 ± 2.1	6.6 ± 1.9
サブタイプ (発症様式)	固縮・無動 5例 振戦 2例	固縮・無動 4例 振戦 3例
UPDRS Part III(点)	17.0 ± 6.7	23.8 ± 3.8
症状有意側	左	左

(表1)

実験プロトコル1

健常高齢者では、左手のボール回転数が介入前と比較して介入直後、1週間後共に、sham刺激、tDCSで有意に上昇していた。また、sham刺激と比較してtDCSでは、直後、1週間後で上昇率が高かった。



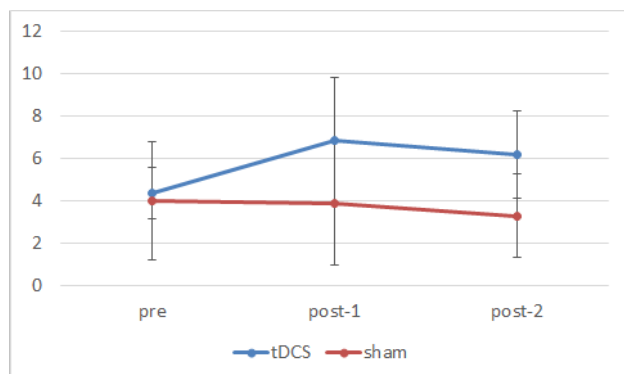
(図 3)

健常高齢者のボール回転数

MEP も同様に介入前と比較して介入直後で、sham 刺激、tDCS で有意に上昇していた。

実験プロトコル 2

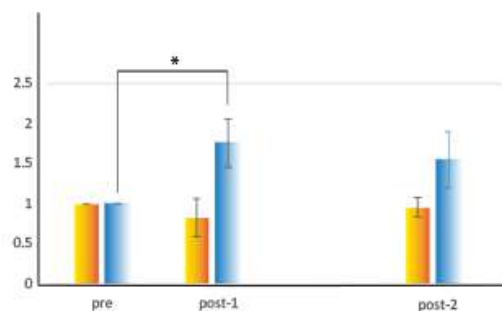
PD では、左手のボール回転数が介入前と比較して介入後で sham 刺激では有意な上昇を認めなかった。それに対して、tDCS 群では、直後、一週間後で有意な上昇を認めた。



(図 4)

パーキンソン病のボール回転数

また、MEP は sham 刺激では介入前と比較して介入後に MEP 振幅の有意な上昇を認めなかったが、tDCS では介入直後に有意な上昇を認めた。



(図 5)

パーキンソン病の MEP 振幅

4. 考察

健常高齢者は、視覚フィードバックによる左手指のボール回転ミラーセラピーにより左手運動技能が向上し右 M1 への tDCS アノード刺激の併用により脳興奮性が向上すると同時に運動技能の向上率も増加した。tDCS では、sham 刺激と比較して 1 週間後のボール回転数がさらに向上しており、tDCS が運動記憶の固定化のみならず強化にも関連している可能性が考えられた。

PD では、同一課題を用いて、sham 刺激では左手運動技能が習得されなかったが、右 M1 への tDCS アノード刺激を併用することで脳興奮性が増強すると同時に左手運動技能が向上しその効果は 1 週間後まで持続していた。

tDCS の PD に対する効果は、M1 への tDCS アノード刺激により、PD の上肢動作緩慢が改善することや MEP 振幅が増強することは報告されているが、運動技能学習に対する効果は報告されていない³⁾。

運動学習課題としてのミラーセラピーは、TMS を用いた既報告により intracortical inhibition で変化を認めず、callosotomized patient でもミラーセラピーによる効果の障害を認めなかったことより、脳梁を介した intermanual transfer よりも、視覚や運動錯覚による M1 への運動記憶の符号化が重要な役割を果たす⁴⁾。PD では、TMS を用いた研究で運動皮質の可塑性が低下することが報告されている⁵⁾。以上より、PD におけるミラーセラピーと tDCS アノード刺激の併用は、運動皮質の興奮

性を向上させることで M1 への運動記憶の符号化を促進している可能性が示唆された。

今後は、パーキンソン病の運動学習障害に対して tDCS によるあらたなニューロモデュレーション法の開発が期待される。

本論文の内容は 2016 年 5 月 18-21 日に神戸で開催された『第 57 回日本神経学会総会』で報告したものである。

参考文献

- 1) Ueki, Y., et al., Altered plasticity of the human motor cortex in Parkinson's disease. *Ann Neurol*, 2006. **59**(1): p. 60-71.
- 2) Nojima, I., et al., Human motor plasticity induced by mirror visual feedback. *J Neurosci*, 2012. **32**(4): p. 1293-300.
- 3) Benninger DH, Lomarev M, Lopez G, Wassermann EM, Li X, Considine E and Hallett M, Transcranial direct current stimulation for the treatment of Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2010. **81**(10): 1105-11.
- 4) Nojima, I., et al., Mirror visual feedback can induce motor learning in patients with callosal disconnection. *Exp Brain Res*, 2013. **227**(1): p. 79-83.

磁気を用いた破骨前駆細胞体内循環の制御：臨床応用可能な

先端的・非侵襲的骨吸収誘導法の開発

Regulation of a circulation of osteoclast precursors by the magnetic field:
Development of the cutting-edge non-invasive methodology in the induction of
bone resorption, a clinically available method

久木田敏夫*, 宮崎利文*, 林伸哉**, 久木田明子***

Toshio Kukitya*, Toshifumi Miyazaki*, Nobuya Hayashi**, Akiko Kukita***

*九州大学大学院歯学研究院・分子口腔解剖学分野, 〒812-8582 福岡市東区馬出 3-1-1, **九州大学大学院総合理工学研究院・高密度エネルギー理工学分野, 〒816-8580 福岡県春日市春日公園 6-1, ***佐賀大学医学部・微生物学分野, 〒849-8501 佐賀市鍋島 5-1-1

*Molecular Cell Biology & Oral Anatomy, Faculty of Dental Science, Kyushu University, 3-1-1 Maidashi, Fukuoka 812-8582, Japan. **Advanced Energy Engineering Science, Interdisciplinary Graduate School of Engineering Science IGSES Kyushu University, Kasuga Koen 6-1, Kasuga, Fukuoka 816-8580, Japan.

***Microbiology, Faculty of Medicine, Saga University, Nabeshima 5-1-1, Saga 849-8501, Japan.

Abstract

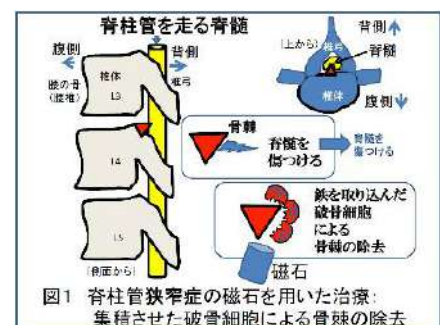
Spinal stenosis is the bone disease in which spines of the excess bone tissue protrude to the spinal cord, which results in the incidence of the severe neuronal disorders. Operation is required to cure this disease. In orthodontic treatment, dentists move the position of alveolar bone by use of the function of osteoclasts, however, it requires long period of time. The purpose of this study is to realize the rapid and safe removal of the bone non-invasively by recruiting osteoclast precursors at the desired sites using magnetic fields. This study provides a revolutionary methodology of the next generation in these areas.

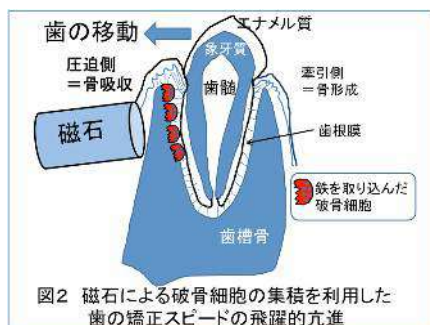
Keywords: Osteoclasts, Magnetic field, Transferin, Bone resorption

1. 目的

本研究では鉄イオン (Fe^{3+}) を取り込んだ破骨細胞及びその前駆細胞を強力なネオジウム磁石により生体内で局所に集積させ、方向性・部位特異性を持った骨吸収を主体とする新規治療法の開発を目的とする。具体的には、試験管内実験によりトランスフェリンを結合させた破骨細胞（及びその前駆細胞）を磁場により一定部位に集積させる条件を確立する。更に脊柱管狭窄症の動物実験モデルを作成し、脊柱管に突出した骨棘の部位に磁石を用いて破骨細胞を集積させ、骨棘の除去を行う（図1）。また、矯正用バネを利用した歯牙移動実験系を用いて、同様な方法による、歯科

矯正速度の飛躍的亢進を実現する（図2）。本研究では主として動物実験による解析を行うが、先立って試験管内による検証実験を行なう。本研究は、非侵襲的で革新的な新しい治療法開発の為の基盤を提供する。





2. 方法

試験管内でトランスフェリンを結合後させた破骨前駆細胞の磁場による採取

ラット骨髄から形成された破骨細胞前駆細胞に試験管内でトランスフェリンを結合させた。免疫磁気分離システムによりトランスフェリンが膜表面に結合した破骨前駆細胞を集めた。

トランスフェリンを結合させた破骨細胞の磁場での方向性を持たせた移動

RAW-D 細胞より破骨細胞を形成させ、1000 nM のトランスフェリンで処理することにより細胞表面にトランスフェリンを結合させた後、750mT のネオジウム磁石を近づけ、破骨細胞の強磁場における動態を解析した。

脊柱管狭窄症の動物実験モデルの作成と歯科矯正実験系の最適化

脊柱管狭窄症モデルの作成には、比較的大型で磁気実験で取扱いが容易なラットを用いた。ラット (SD, Lewis rat) の椎骨に骨形成因子 (BMP, IGF) を局所投与し、経時的にマイクロCTによる解析を行った。

脊柱管狭窄症動物の治療実験

トランスフェリンの生体内投与による治療鉄イオンを包含するトランスフェリンをラット尾静脈あるいは骨局近傍に投与し、骨棘周囲への破骨細胞の集積を組織学的に検討した。ネオジウム磁石を背中から当て、骨棘周囲への破骨前駆細胞の集積を検討した。

歯科矯正のスピードアップ実験

鉄イオンを包含するトランスフェリンを歯科矯正用バネを装着したラットの尾静脈あるいは歯根膜近傍に投与し、圧迫側への破骨細胞の集積の亢進を組織学的に検定した。750mT を最高値と

する磁石を当て磁場による破骨細胞の生体内移動を試みた。

3. 結果・考察

破骨細胞形成への磁場の影響

ラット骨髄細胞及びマウス前破骨細胞株 RAW-D 細胞を用いた試験管内破骨細胞形成系に種々の強度の磁場 (0, 125, 450mT) を暴露し、分化への影響を調べた。若干の促進効果が認められる傾向はあったが、統計学的に有意な差は得られなかった。

破骨細胞形成へのトランスフェリンの影響

RAW-D 細胞を用いた破骨細胞形成系にトランスフェリンを添加すると、破骨細胞形成が僅かではあるが促進された (1.2 倍程度)。尚、破骨細胞形成因子を欠く培養条件下でトランスフェリンが TNF α と共同して破骨細胞形成を顕著に促進することを見出した。

磁場とトランスフェリンを利用した破骨前駆細胞の採取

ラット骨髄細胞を破骨細胞分化刺激下に培養した細胞にトランスフェリンを結合させ、強磁場に暴露 (磁気細胞分離システムを使用) することにより、破骨前駆細胞を集めることができた。

トランスフェリンが結合した破骨細胞の磁場での方向性をもたせた移動

RAW-D 細胞を用いた破骨細胞形成系に培養ウェルの側面に強磁場 (750mT ネオジウム磁石) を置いたところ、トランスフェリン処理した細胞ではネオジウム磁石に近い側に (遠い側より) 破骨細胞が多く集積することが分かった。トランスフェリンで処理していない細胞では、磁石に接した側と遠い側での差はなかった (表 1)。形成された破骨細胞にトランスフェリンが結合することにより、強磁場の方へ引き寄せられることがわかった。

表1 トランスフェリン結合破骨細胞の磁場での動態

トランスフェリン濃度 (nM)	強磁場の側 (形成された破骨細胞数/培養 ±SD) n=4	強磁場と逆側
0	34±9.5	33.5±9.0
1000	56±3.0 *	40.0±4.0

* P< 0.05

脊柱管狭窄症モデル系及び歯科矯正モデルでの検証実験

上記の試験管内実験で明らかになった「磁場による破骨細胞の移動制御・集積」を用いて、動物実験による検証を試みた。脊柱管狭窄症モデルの確立を試みたが研究期間中に有効なモデルを確立することはできなかった。BMP の投与量や投与箇所を変更して再検討する。歯科矯正モデルではラットの激しい動きの為、一方向からの磁場照射には限界があり、有用な結果を得ることができなかった。ラットの長期間の固定は生命倫理上、問題が生じる為、計画を断念した。頭部に装着可能な小サイズのネオジウム磁石の開発を待たねばならない。動物実験は今後の検討を要するが、破骨細胞にトランスフェリンを結合させることにより静磁場に於ける方向性を持たせた集積と骨吸収制御が可能であることが明らかとなった。

4. 謝辞

本研究は磁気健康科学研究振興財団の補助を受けて実施したものである。

参考文献

- 1) Membrane nanotube formation in osteoclastogenesis. Kukita T, Takahashi A, Zhang JQ, Kukita A. *Methods Mol Biol.* 1313:193-202, 2015.
- 2) Regulation of osteoclastogenesis through Tim-3: A possible involvement of Tim-3/galectin-9 system in the modulation of inflammatory bone destruction. Moriyama K., Kukita A., Li Y-J., Uehara N., Zhang J-Q., Takahashi I., Kukita T. *Lab. Invest.* 94(11):1200-1211, 2014.
- 3) Mesenchymal stem cell markedly suppress inflammatory bone destruction in rats with adjuvant-induced arthritis. Takano T., Li Y-J., Kukita A., Yamaza T., Ayukawa Y., Moriyama K., Uehara N., Nomiya H., Koyano K., Kukita T. *Lab. Invest.* 94:286-296, 2014.
- 4) Tunneling nanotube formation is essential for the regulation of osteoclastogenesis. Takahashi A., Kukita A., Li Y-J., Zhang JQ., Nomiya H., Yamaza T., Ayukawa Y., Koyano K., Kukita T. *J. Cell. Biochem.* 114:1238-1247, 2013.
- 5) Stage-specific function of leukemia/lymphoma-related factor (LRF) in the transcriptional control of osteoclast development. Tsuji-Takeuchi K., Negishi-Koga T., Sumiya E. Kukita A., Kato S., Maeda T., Pandolfi PP., Moriyama K., Takayanagai H. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109:2561-2566, 2012.
- 6) The transcription factor FBI-1/OCZF/LRF is expressed in osteoclasts and regulates RANKL-induced osteoclast formation in vitro and in vivo. Kukita A., Kukita T., Nagata K., Teramachi J., Li YJ., Yoshida H., Miyamoto H., Gay S., Pessler F., Shoubuie T. *Arthritis Rheum.* 63(9):2744-54, 2011.

平成27年度 研究助成テーマ

平成27年度は、以下のように、基礎3名・応用6名・テーマ指定1名の研究に対し助成が決定いたしました。

I. 基礎研究

I -1. 人工軟骨～骨組織創製のための組織工学に基づく磁場刺激装置の開発

福岡歯科大学 口腔歯学部 歯科医療工学講座／荒平 高章

I -2. 地磁気情報をコードする脳細胞を同定する

東京大学大学院 薬学系研究科／佐々木 拓哉

I -3. 磁性微粒子を用いた移植再生心筋のパターニング～心臓再生医療の基盤技術の開発

大阪大学大学院 医学系研究科 心血管再生医学寄附講座／三輪 佳子

II. 応用研究

II -1. 加齢による過活動膀胱への磁気刺激神経調整的新システムの確立

琉球大学大学院 医学研究科 腎泌尿器外科学講座／宮里 実

II -2. 革新的経頭蓋磁気刺激検査による筋萎縮性側索硬化症機能予後予測

Brain & Mind Centre, The University of Sydney／澁谷 和幹

II -3. 磁性体ナノ粒子造影剤を用いた核磁気共鳴画像法（MRI）による乳がんセンチネルリンパ節の転移巣イメージングと転移診断法の開発 –乳がん腋窩手術の回避を目指して–

大阪府立急性期総合医療センター 乳腺外科／元村 和由

II -4. 高次脳機能障害に対する薬物および経頭蓋磁気刺激療法の臨床応用

東京慈恵会医科大学 リハビリテーション医学講座／山田 尚基

II -5. カプセル内視鏡の腸内長時間停滞を解消する磁気バイブレーション装置の開発

信州大学学術研究院 工学系／田代 晋久

II -6. 末梢性顔面神経麻痺におけるTMSを用いた新たな治療法の開発とその評価

名古屋市立大学大学院 医学研究科 耳鼻咽喉頭・頭頸部外科／稲垣 彰

III. 指定テーマ研究

III -1. 磁気刺激による脊髄神経興奮性変調のための最適刺激部位の検討

東京大学大学院 総合文化研究科 広域科学専攻／中川 剣人

なお、所属は研究助成決定当時のものです。

助 成 研 究 成 果 報 告 書

平成26年度

発 行 日 平成28年9月12日

発 行 所 公益財団法人 磁気健康科学研究振興財団
福岡県福岡市中央区天神1-13-17
TEL 092-724-3605
FAX 092-724-3605

印 刷 三栄印刷株式会社

より明瞭なカラーデータの図表をご希望の方はサイト(<http://www.maghealth.or.jp/>)に掲載しておりますのでご覧下さい。



この印刷物は、環境に配慮した
ベジタブルインクを使用しています。