

紫外光による局所的脳損傷作製技術の開発

SATテクノロジー・ショーケース2018

■ はじめに

脳に人為的に損傷を作る技術は、外傷および神経疾患の治療法の開発や、部位特異的な脳機能の解析のために必要不可欠である。従来、局所的な脳損傷を作製するためには脳を覆う硬膜を破って電極や薬物投与のための注射針を刺入する方法が用いられてきたが、狙った形や大きさの損傷を作るには高度な技術と経験を要した。

そこで、我々は、紫外光を用いて脳に局所的な損傷を作る技術を開発した。本技術は脳を覆う硬膜の上からの光照射により、従来よりも少ない侵襲性で、脳表面に損傷を作ることが可能である。損傷作製に紫外光を用いることで、硬膜が破壊されることによる影響を最小限に抑え、脳実質が損傷されたことによる影響のみを解析することが可能になった。また、光の照射量を調節することにより、損傷サイズの定量的なコントロールが可能になった。

本研究では、この新技術の実用化に向けて、紫外光照射が脳に与える影響を組織学的に解析した。さらに、実際の研究・開発場面での応用可能性を探るために、損傷サイズのコントロールや生きた動物での損傷部位の可視化を試みた。

■ 結果

1. 紫外光照射による脳表面の損傷作製

被験体として Wistar 系の成体雄ラットを用いた。照射部位上にある頭蓋骨を除去し、露出した硬膜に光ファイバー（直径 400 μ m）を接触させ、紫外光（UV-A、波長 365nm, 1.0mW）を照射した（図 1）。照射終了 5 日後、薄切した脳切片を用いて、組織学的解析を行ったところ、照射部位には脳表面に釣り鐘型の損傷が観察された。

2. 紫外光照射による脳組織の損傷と神経細胞の脱落

2.0mWh の紫外光を照射された脳を薄切し、ニッ

スル染色および神経細胞のマーカーである抗 NeuN 抗体を用いた免疫組織化学染色を施し、紫外光照射による脳組織への影響を観察した。釣り鐘型の損傷内部では非照射部位で観察されるような層構造は破壊されており、組織が疎になっている様子が観察された（図 2-左）。また、傷の周辺及び内部には、グリア細胞などの免疫細胞であると考えられる小型の細胞の集積が観察された。さらに、免疫組織化学染色の結果、損傷内部では NeuN 陽性細胞がほぼ完全に消失しており、紫外光の照射により局所的な神経細胞の脱落が誘発されたことが示唆された（図 2-右）。

3. 紫外光照射による特異的な脳組織への効果

このような神経細胞の脱落をはじめとする紫外線照射の影響は、照射部位から離れた部分では観察されなかった。同量の可視光を同じ方法で照射してもこのような損傷は作られなかったことから、このようなわずかな光による脳の損傷は、紫外光に特異的な効果であると考えられる。

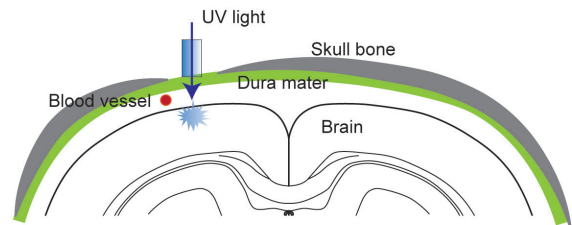


図1: 硬膜上からの紫外光の照射

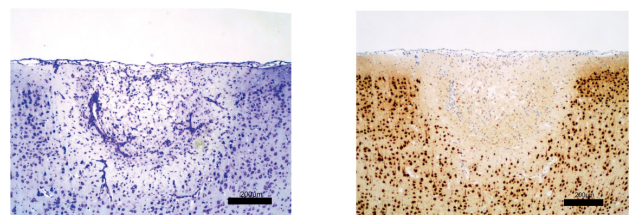


図2: (左)ニッスル染色 (右)抗 NeuN 抗体を用いた免疫染色による損傷部位の可視化(スケールバーは 200 μ m)

代表発表者 仲田 真理子 (なかた まりこ)
 所属 産業技術総合研究所 システム脳科学グループ
 日本学術振興会 特別研究員 (PD)
 問合せ先 〒305-8568 茨城県つくば市梅園 1-1-1 中央第二
 TEL: 029-861-5393

■キーワード: (1) 脳損傷モデル動物
 (2) 紫外光
 (3) 局所的脳損傷

■共同研究者:

長坂 和明 (産総研・システム脳科学グループ, 筑波大学・人間総合科学研究科, 日本学術振興会・特別研究員)
 下田 将之 (慶応義塾大学・医学部・病理学教室)
 高島 一郎 (産総研・システム脳科学グループ, 筑波大学)
 山本 慎也 (産総研・システム脳科学グループ)