

マイスナー小体の発生過程についての考察（第5報）

○PHAM Quang Trung（名工大）、星貴之（東京大学）、田中由浩（名工大）、佐野明人（名工大）

Consideration of Generation Process of Meissner Corpuscle (5th report)

○PHAM Quang Trung (NITech), Takayuki HOSHI (UTokyo), Yoshihiro TANAKA (NITech), and Akihito SANO (NITech)

Abstract: Our aim is to explain the generation process of Meissner corpuscle (MC), as the first step towards artificial reproduction. Studying on the generation process of MC would mainly concern with how the axon transformed into spiral shape. In previous reports, we hypothesized three mechanical factors which may cause the transformation of neuronal axons. Here, we experimentally examined these hypotheses by using tissue-engineering technique and an artificial silicone structure to mimic the boundary of surrounding environment.

1. はじめに

マイスナー小体の構造と触知覚との関係についてはこれまでに理論解析や数値解析がなされている。実物は皮膚の中に埋もれており、微細であるため、取り出して物理的な特性などを直接観察することは困難である。そのため未解明な点も多く残されている。

この課題に対して、我々は細胞工学を用いてマイスナー小体を皮膚の外において人工的に再現することを提案している [1]。そのためには小体発生について知る必要がある。発生段階の初期には一本の無髄神経軸索が真皮乳頭に入り、その後らせん形状をなすことが報告されている [2] [3] (Fig. 1)。続いて数本の軸索が入り込み、マイスナー小体が完成する。ただし、軸索がらせん形状をなす機序については未解明である。

前報 [4] では、らせん形状の形成が力学的作用によると仮定して考察を行った。らせん形状の足場がすでにある、または神経軸索の成長に伴って、らせん形状が形成されるという二つの要因を示した。本稿では細胞工学を用いて、それらの要因を検討する。さらに、環境の変形から応力をうけて、神経軸索がらせん形状に形成できるかも検討する。それぞれの初期結果について考察する。

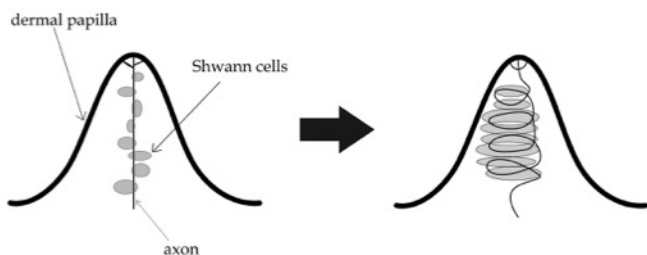


Fig. 1 Transformation of the 1st axon

2. 方法

2.1 培養手法

マイスナー小体をなす神経軸索は後根神経関節 (DRG) から始まる。実験した DRG は ICR マウスの胎児 (14 在胎日) から切り出し、コラーゲンゲルの中で培養を行った。ゲルの厚みは 1mm である。Fig. 2 は 1 日で培養した DRG を示し、白く細長い線は神経軸索である。なお、写真は位相差顕微鏡で撮影した。

2.2 実験方法

第一の実験は足場がすでにあつた時、神経軸索がそれに沿って伸びるかを検討した。我々はスピルリナと呼ばれる単細胞微細藻類の樹皮を足場として利用した。スピルリナはバネのようならせん形状を持ち、幅 (5-8 μm) と長さ (300-500 μm) も人間のマイスナー小体と同程度である [5]。スピルリナは二回純水で洗い、コラーゲンゲルに混ぜ込んだ。DRG の近く並んでいるスピルリナを 10 日間で断続的に観察した (Fig. 3a)。

第二の実験は軸索自身の成長力により、先端が曲が

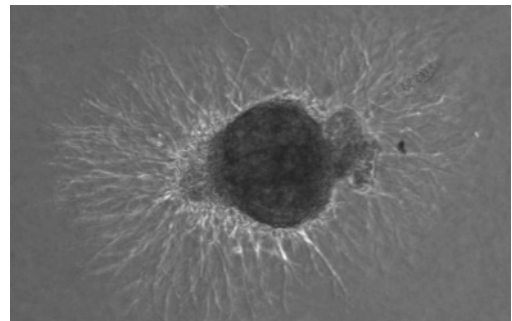


Fig. 2 Image of one cultured DRG, captured by phase-contrast microscope.

るかを検討した。神経の走行経路の上にシリコン壁 (信越シリコン 一液型 RTV ゴム)を置いて、神経の成長を 10 日間で断続的に観察した (Fig.4)。シリコン壁はあらかじめ UV ランプで除菌した。

第三の実験は環境の変形から発生した応力により、神経軸索が曲がるかを検討した。DRG をストレッチチャンバーで培養し、神経の走行経路の上にシリコン壁を置いた (Fig.5a)。チャンバーにはあらかじめ引っ張りを与えた ($l=41\text{mm}$)。その後、チャンバーが元の長さ ($l=32\text{mm}$) に戻る際の神経軸索の変化を観察した。神経の成長力の影響を排除するため、観察は一日以内で終了した。

3. 考察

ここでは、上でのべた実験の結果を示して、それぞれについて考察した点を挙げる。

3.1 実験 1

最初の段階では、神経軸索はスピルリナの形状にかかわらず成長している傾向があった (Fig.3a)。数日後スピルリナの近くに軸索が集まる様子が見られた (Fig.3b)。ここで神経軸索は PGP9.5 という個体で染色したことから、蛍光状態を観察した。スピルリナが光っている理由は自家蛍光である。軸索は走行経路が変わったが、スピルリナに接着し、それに沿って成長しているわけではなかった。[6] で述べたマイスナー小体の再発生過程を考慮すると単純ならせん形状ではなく、空洞を有するらせん形状が必要であると考えられる。

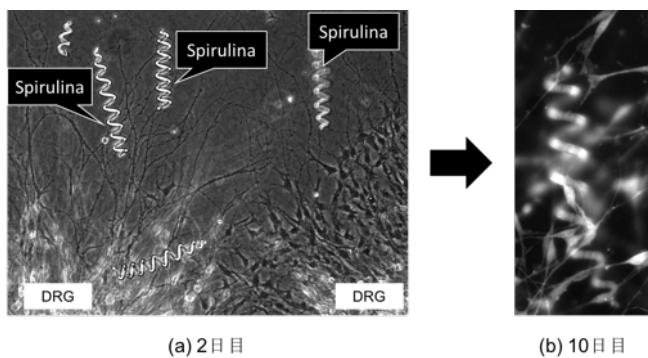


Fig. 3 Response of axons to the spirulina based scaffold, in (a) 2 days and (b) 10 days after culturing.

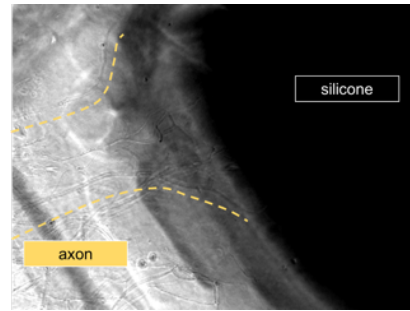


Fig. 4 Response of axons to the silicone boundary.

3.2 実験 2

神経軸索がシリコン壁に到達するまでには 6 日間で要した。神経軸索はらせん形状にはならず、壁に沿って曲がっている様子が見られた (Fig. 4)。したがって、神経軸索の先端を固定することが必要だと考えられる。

3.3 実験 3

チャンバーを引っ張った状態から元の状態に戻る際に、神経軸索が座屈の様子を見られた (Fig. 5b, c, d)。ここで、 $\Delta l=3\text{mm}$ 時点で座屈が始まるのがわかる。 $\Delta l=6\text{mm}$ 時点では座屈の第二箇所を見つけた。つまり、周囲環境の歪みが大きくなると座屈が多箇所で起こりやすくなった。この神経軸索は三次元でらせん構造ができたかについては不明であるが、周囲環境の変形 (膨張・圧縮) は神経軸索の自身の変形に強く影響することが分かる。

5. 終わりに

本稿では、力学的観点でマイスナー小体の発生過程の最初の様子、もしくは神経軸索の変形を細胞工学に基づいて検討した。足場や神経の成長力より、環境の変形によって発生した応力・歪みのほうが神経軸索の変形に寄与している可能性がある。

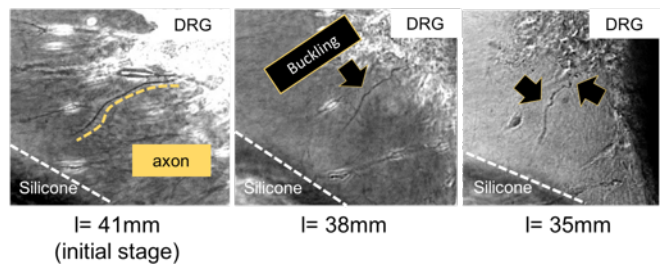


Fig. 5 Response of axons to the silicone boundary under the compressing of surrounding environment.

今後、この影響を明らかにするため、様々な引っ張り力による実験を行う。さらに、我々が開発した生体観察法 [7] を用いて、三次元構造の観察を行う予定である。

謝辞

名古屋大学医学部・宮田教授、正岡氏、川上氏の協力のもと動物実験を行った。ここに謝意を表す。

参考文献

- 1) Q.T.Pham, T.Hoshi, Y.Tanaka, A.Sano: Proposal of tactile sensor development based on tissue engineering, Proc. Of IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and System 2013 (IROS2013), 2013.
- 2) C.Ide: Development of Meissner corpuscle of mouse toe pad, Anat Rec, vol. 188, no.1, pp. 49-67, 1977.
- 3) W.E. Ranehan and B.L. Munger: The development of Meissner corpuscles in primate digital skin, Dev Brain Res., vol. 51, no. 1, pp. 35-44, 1990.
- 4) Q. T. Pham 星貴之, 田中由浩, 佐野明人: マイスナー小体の発生過程についての考察, 第 13 回計測自動制御学会システムインテグレーション部門講演会 (SI2012) 論文集, pp. 321-322, 2012.
- 5) K. Kamata, Z. Piao, S. Suzuki et al.: Spirulina-Templated Metal Microcoils with Controlled Helical Structures for THz Electromagnetic Responses, Scientific Reports, vol. 4, 2014.
- 6) C.Ide: Basal lamellae and Meissner corpuscle regeneration, Brain Research, 384(1986), pp. 311-322.
- 7) T.Q. Pham, T.Hoshi, Y.Tanaka, A.Sano, T. Kawaue, T.Miyata: Two-Photon Imaging of DiO-labelled Meissner Corpuscle in Living Mouse's Fingertip, IEEE Transactions on Haptics (in press), 2016.