

Phase-Field解析のための神経軸索伸展観察実験

発表者 中川和哉
指導教員 仲町英治 教授

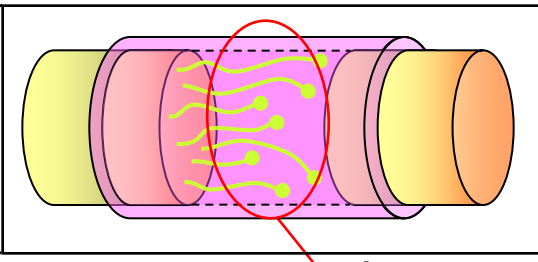
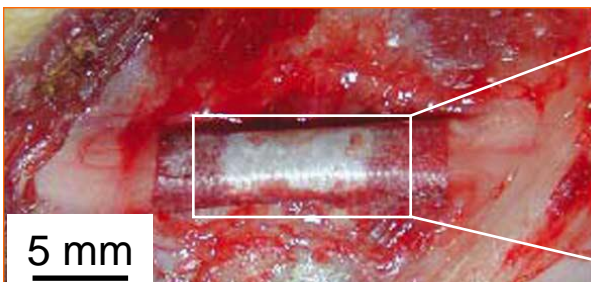
1. 研究概要・目的

末梢神経損傷治療

- 直接縫合
- 自家神経移植

治療の限界

新規再生医療 ● スキャホールド(足場)



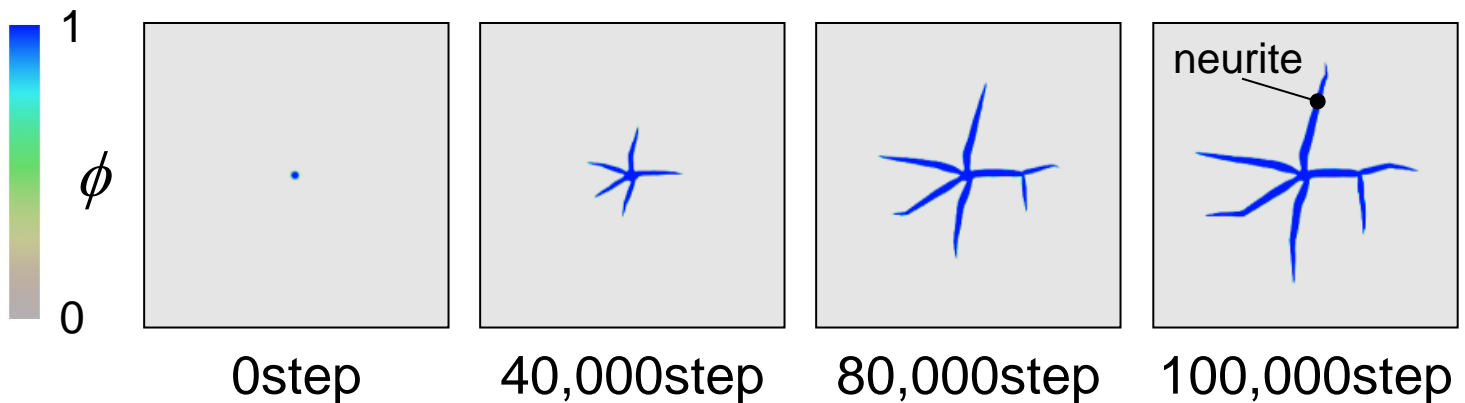
Y. Shimizu, et al., Brain Research, 1027, (2004), pp.18-29.

神経再生を促進させるスキャホールドの開発のために内部の神経軸索伸展の予測が必要

Phase-field法

材料工学・科学など種々の分野で展開

➔ 神経細胞に応用



研究目的

神経細胞の軸索伸展過程を予測可能なPhase-field解析手法の開発

研究課題

パラメータの同定のために解析結果と実験結果との比較が重要



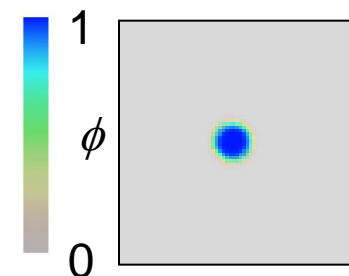
プロジェクト目的

培養神経細胞PC-12Dの観察実験による細胞間相互作用の検討および軸索伸展距離の計測

2. 軸索伸展 Phase-Field モデル

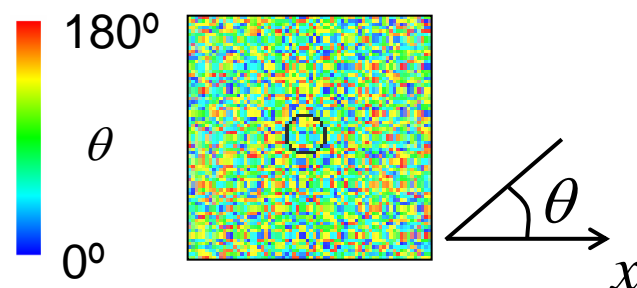
(1) Phase-Field ϕ : cell($\phi = 1$), medium($\phi = 0$)

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = M_\phi \left[\nabla(a^2 \nabla \phi) - \frac{\partial}{\partial x} \left(a \frac{\partial a}{\partial \theta} \frac{\partial \phi}{\partial y} \right) + \frac{\partial}{\partial y} \left(a \frac{\partial a}{\partial \theta} \frac{\partial \phi}{\partial x} \right) - \Delta f \frac{d\phi^3(10-15\phi+6\phi^2)}{d\phi} - W \frac{d\phi^2(1-\phi)^2}{d\phi} \right]$$



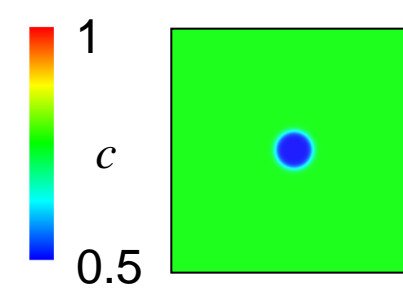
(2) 方位 θ : 特異拡散方程式

$$\frac{\partial \theta}{\partial t} = M_\theta \nabla \cdot \left[\phi^3(10-15\phi+6\phi^2) s \frac{\nabla \theta}{|\nabla \theta|} \right]$$

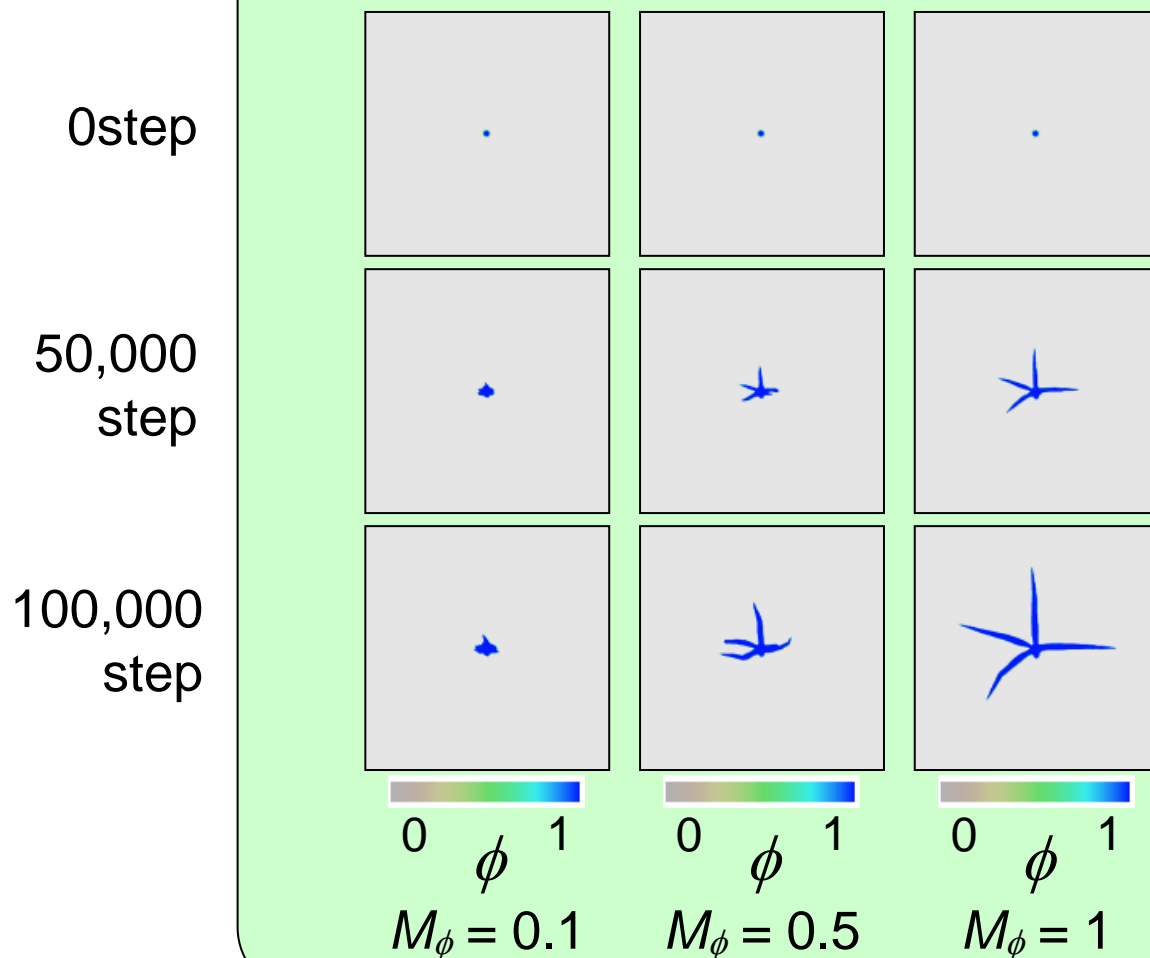


(3) 濃度 c : 拡散方程式

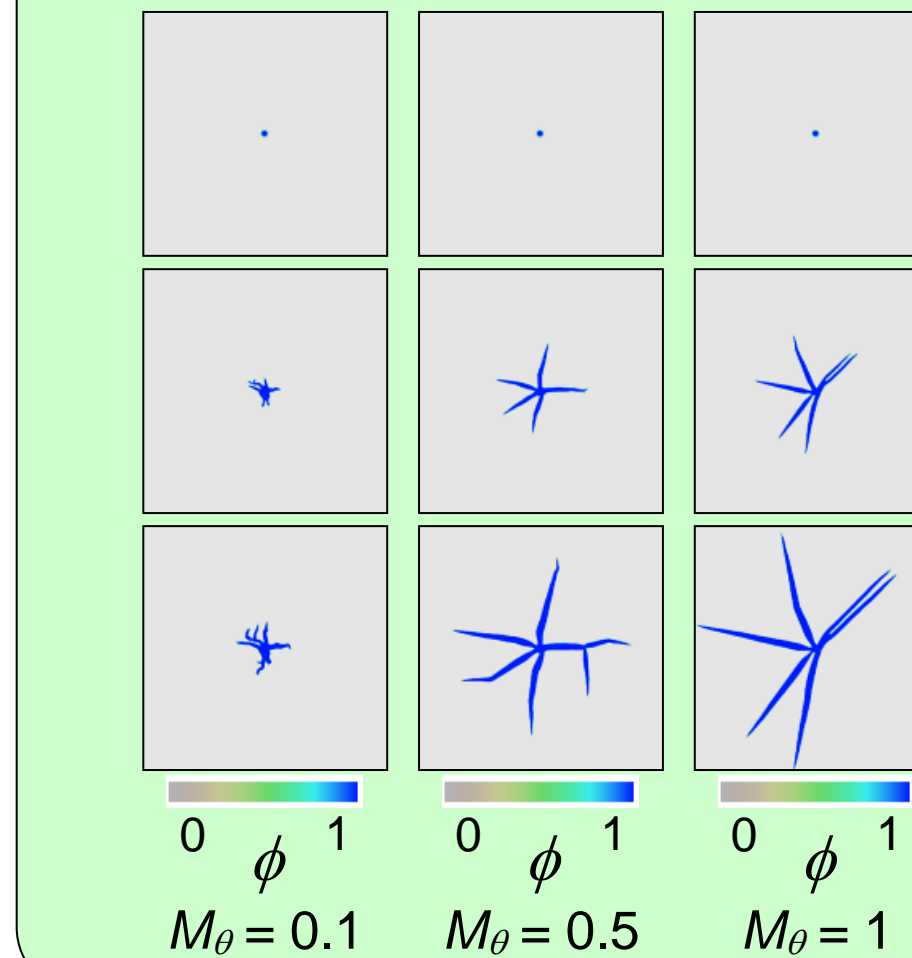
$$\frac{\partial c}{\partial t} = \nabla \cdot D \left[\nabla c + \frac{(1-k)c}{1-\phi+k\phi} \nabla \phi \right]$$



Phase-Fieldモビリティ M_ϕ の影響



方位モビリティ M_θ の影響

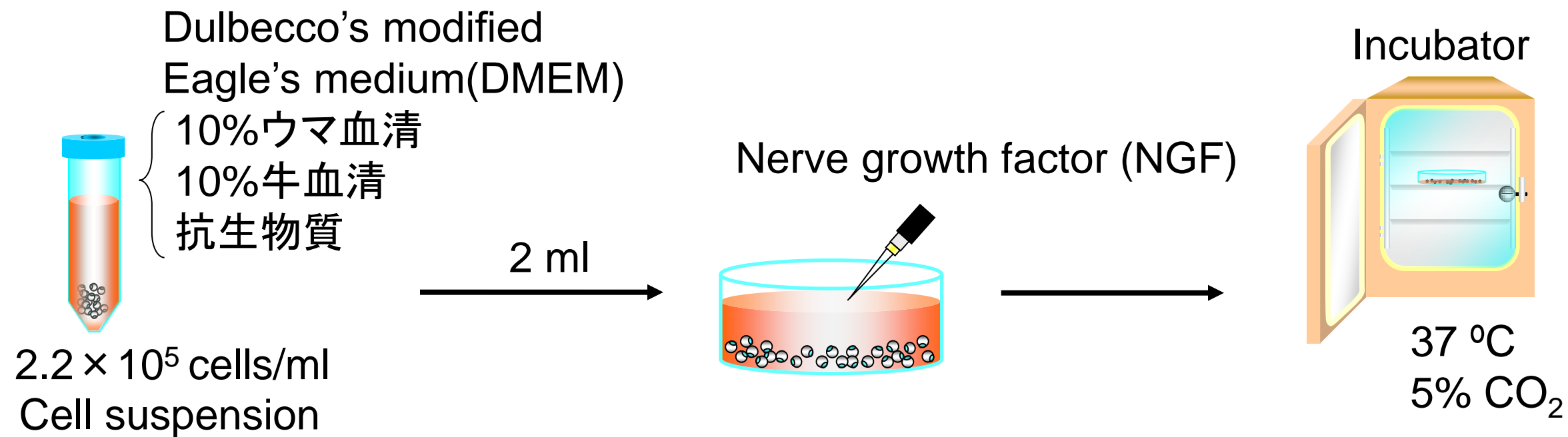


M_ϕ : Phase-Field モビリティ \rightarrow 伸展速度

M_θ : 方位モビリティ \rightarrow 分岐の頻度

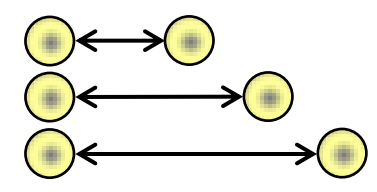
3. 神経細胞の軸索伸展過程の実験観察方法

培養神経細胞PC-12D播種方法



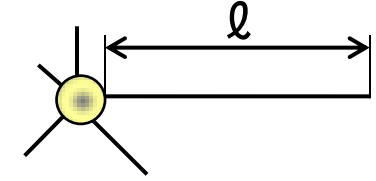
- ◆ 2.2 × 10⁵ cells/ml の細胞懸濁液を作製
- ◆ 細胞をトラップできる装置に細胞を播種
- ◆ インキュベータ内にて24時間静置
- ◆ 24時間後, NGF (50 ng / ml) を1μl添加
- ◆ 2時間毎に48時間細胞を観察

(1) 2個の細胞間距離を変えて配置



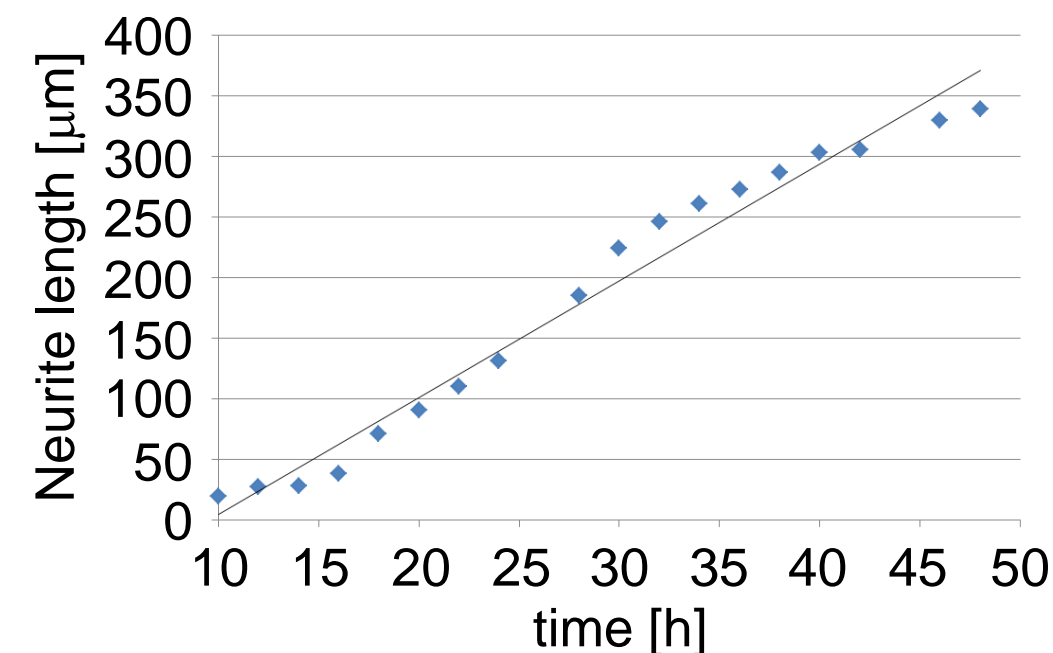
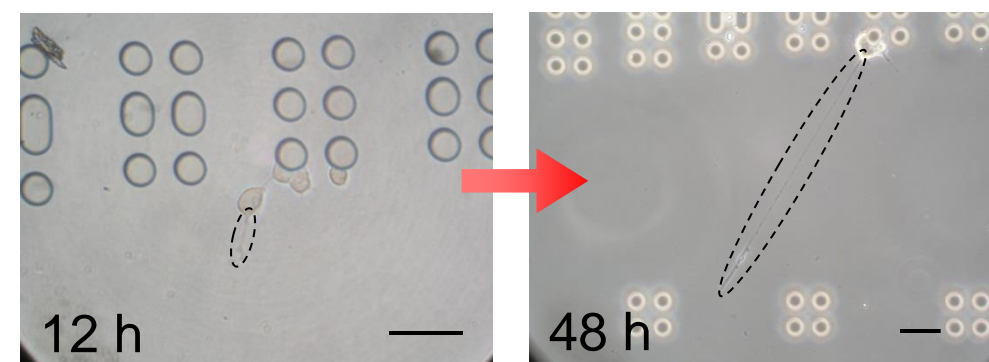
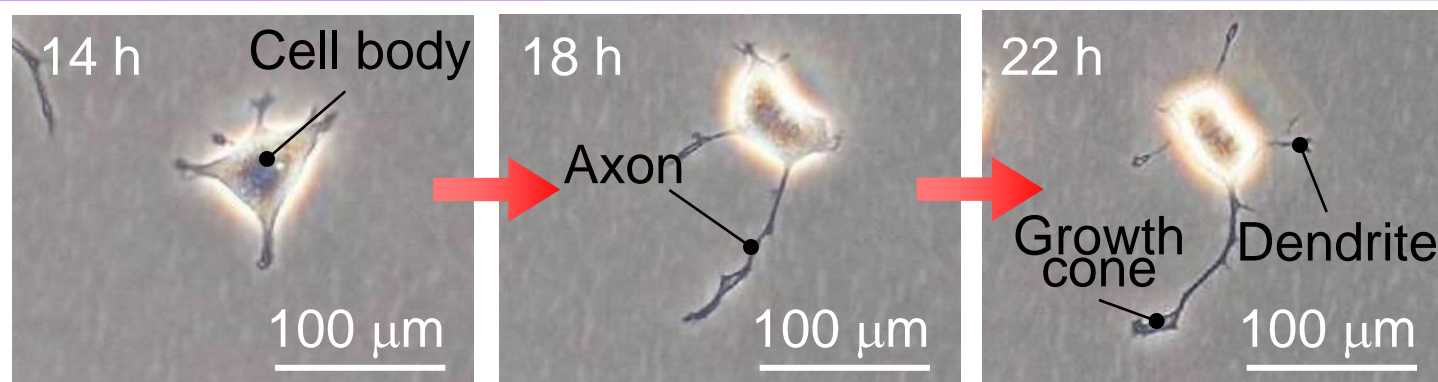
相互作用を及ぼす距離の有無を検討

(2) 軸索伸展の観察



伸展距離の計測
解析結果との比較により
パラメータの同定

4. 実験結果および考察



- ◆ 軸索伸展Phase-Fieldモデルを用いて軸索伸展の表現が可能であることが示唆された
- ◆ うまく細胞が配置されず細胞間相互作用の検討は不可能
- ◆ 神経軸索伸展速度は $9.64 \mu\text{m}/\text{h}$ であることが示唆された
- ◆ 実験回数を増やし、実験結果の検証が必要

5. 今後の予定

- ◆ 細胞播種条件・培養条件の検討および再実験
 - …細胞間相互作用の検討
 - …軸索伸展距離の計測
- ◆ 軸索伸展Phase-Fieldモデルのパラメータの同定

6. 参考文献

- ◆ C. A. Heath, et al., *Trends in Biotechnology*, Vol. 16, (1998), pp. 163-168.
- ◆ Y. Shimizu, et al., *Brain Research*, Vol. 1027, (2004), pp.18-29.
- ◆ 高木知弘, 山中晃徳, 養賢堂, (2012), pp. 167-179.