

平成 30 年 5 月 18 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10552

研究課題名(和文) 骨髄間質細胞移植による癒着性くも膜炎及び難治性神経障害性疼痛に対する治療法の確立

研究課題名(英文) Elucidation of the pathology of spinal cord adhesive arachnoiditis and establishment of treatment

研究代表者

関 俊隆 (SEKI, Toshitaka)

北海道大学・大学病院・助教

研究者番号：80241446

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：脊髄癒着性くも膜炎は、くも膜・軟膜に慢性炎症性変化をきたし、慢性進行性に脊髄を障害する。確立された治療法はなく、きわめて治療困難である。難治性疼痛を認めることは稀ではなく、患者の日常生活を著しく損なう。本研究は脊髄損傷後の脊髄癒着性くも膜炎に起因する難治性疼痛の治療法の確立を目的とした。本実験の前に安定した脊髄損傷動物実験モデルを作製することとした。既存の動物脊髄損傷用の脳動脈瘤クリップは高価で継続的な実験が困難であったため、本邦の企業に依頼し動物脊髄損傷用の脳動脈瘤クリップを作製した。既存のクリップと比較して統計学的にも有意差のない脊髄損傷モデルを作製することができた。

研究成果の概要(英文)：Spinal cord adhesive arachnoiditis causes chronic inflammatory changes in arachnoid membrane and pia mater tissue. As a result, spinal cord is failed chronicity progressively. Unfortunately, there is no established therapy for this disorder. It is not uncommon to recognize intractable neuropathic pain (np) due to this disorder, which severely impairs the patient's daily life. The purpose of this research was to establish a cure for intractable np due to spinal cord adhesive arachnoiditis after spinal cord injury. We decided to prepare stable animal experimental model of spinal cord injury before this experiment. Since modified cerebral aneurysm clips for existing animal spinal cord injuries were expensive and difficult to carry out ongoing experiments, we requested Japanese companies to manufacture a new modified aneurysm clip. We could create a spinal cord injury model using a new clip, and there was no statistically significant difference compared with existing animal model.

研究分野：脳神経外科

キーワード：脊髄損傷 脊髄癒着性くも膜炎 難治性疼痛 神経障害性疼痛 外傷性脊髄空洞症

### 1. 研究開始当初の背景

脊髄損傷は、運動麻痺や感覚障害、膀胱直腸障害などを引き起こし、それによる後遺症は患者に多大な損害を与えるとともに、莫大な医療費を必要としている。脊髄損傷に対するアプローチとしては薬物療法、外科的治療、リハビリテーションが行われているが、これまでのところ画期的な治療法はない。さらに脊髄損傷急性期に認められる脊髄くも膜、軟膜の炎症は外傷性脊髄空洞症を形成し、難治性疼痛および運動機能障害を増悪させ、病態をさらに複雑化させている。これを打破するブレイクスルーとして、多分化能を有する幹細胞の移植による中枢神経再生が注目を浴びており、多角的観点から様々な研究が行われている。胎児幹細胞、神経幹細胞、iPS 細胞など数多くのドナー細胞が再生医療の候補として検討されている。その中で骨髄間質細胞 (bone marrow stromal cell; BMSC) は、周囲の環境に応じて神経細胞や血管内皮細胞などに分化することが判明している。さらに BMSC は、患者自身の骨髄から単離・培養することが可能であり、倫理面や免疫面の問題がなく、中枢神経の再生に安全で有益な細胞と考えられている。

申請者らのグループも 2001 年から BMSC を使用した中枢神経再生に関する研究を精力的に行っている。申請者らのグループは、ドナー細胞である BMSC の生物学的特性を解明するとともに、BMSC が中枢神経に移植された後の増殖・遊走・分化の過程および神経症状改善のメカニズムを明らかにしてきた。また、BMSC にはマイクログリアを活性化し、炎症性サイトカインの分泌を抑制することが知られている。本研究では BMSC の神経保護作用に加え、抗炎症作用に着目し、外傷性脊髄癒着性くも膜炎に対する治療法の確立を最大の目的としている。

### 2. 研究の目的

脊髄損傷や脊髄手術後に続発する脊髄癒着性くも膜炎は、くも膜・軟膜組織に慢性炎症性変化をきたし、慢性進行性に脊髄を障害する疾患である。その病態は複雑であり様々な薬物療法および外科的治療方法が試みられてきた。しかしながら現在のところ確立された治療法はなく、脊髄疾患の中でもきわめて治療困難な疾患である。中枢神経再生に用いられる BMSC は、脳由来の神経栄養因子のもとで神経細胞に分化することや、BMSC 自身が分泌する栄養因子によって軸索の伸長が促進されることなどがわかってきている。それに加えて BMSC はマイクログリアを活性化させて抗炎症物質を分泌させる作用もある。本研究では外傷性脊髄癒着性くも膜炎動物モデルを作製し、脊髄癒着性くも膜炎の病態を解明し、さらに BMSC の神経保護および抗炎症作用に期待し、これに起因する難治性疼痛に対する治療法の確立を目的とした。

### 3. 研究の方法

安定した実験結果を得るために動物実験モデルを作製することとした。当初 脊髄損傷の作製にはカナダのトロントで開発された改良型脳動脈瘤クリップ (T clip) (図 1) を使用する予定であった。

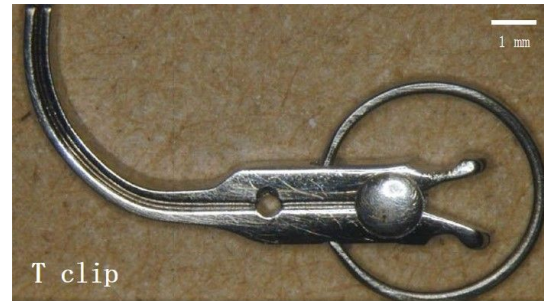


図 1 T clip

しかしこのクリップは高価で、さらに 100 匹毎の使用に対してトロントへ郵送しメンテナンスをする必要があった。そのため本邦の企業へ依頼し独自の動物脊髄損傷作製用改良型脳動脈瘤クリップ (M clip) (図 2) を作製することとした。



図 2 M clip

通常ヒトへ使用する脳動脈瘤クリップの閉鎖圧は 150g であり、この圧のまま脊髄損傷を作製した場合、脊髄を離断してしまい完全損傷になってしまう。そのため閉鎖圧を 30g に調節し、さらにスリップ防止のためにブレードの内側面に加工されている突起を取り除き脊髄との接触面をスムーズにした。これによって過度の脊髄損傷を回避することが可能となり、中等度の脊髄損傷作製が可能となった (図 3)。

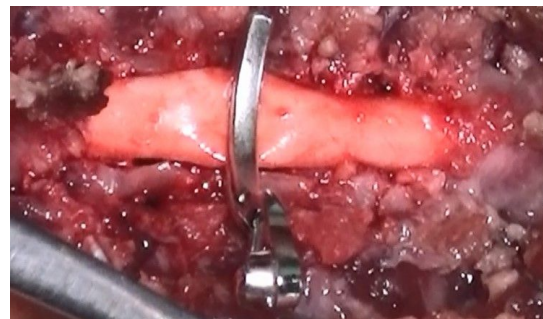


図 3 M clip で脊髄損傷を作製

- 使用ラット:雌 SD ラット(体重 200-250g)
- 脊髄損傷:全身麻酔下に Th6, Th7 椎弓を切除し改良型脳動脈瘤クリップで脊髄を1分間圧迫した
- 脊髄損傷グループ
  1. T clip グループ (5 匹)
  2. M clip グループ (5 匹)
  3. 後肢運動機能評価 (BBB スコア: 0 ~ 21 点)  
脊髄損傷翌日から 1 週毎に 6 週後まで検者 2 名で評価する。
  4. 異痛症 (von Fey hairs)  
脊髄損傷によって疼痛の閾値が低下する。これを von Frey hairs (図 4) を用い脊髄損傷翌日から 1 週毎に 6 週後まで検者 2 名で評価する。

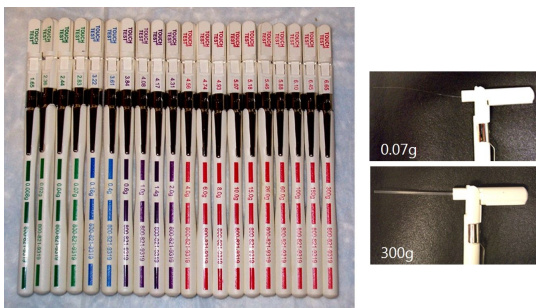


図 4 von Frey hairs キット

#### 4. 研究成果

中等度脊髄損傷の目安は BBB スコアで 21 点満点中 8 点前後であるが、6 週間の経過観察で BBB スコアが 7.4 点と理想的な脊髄損傷モデルが作製できた (図 5)。これは既存の T clip を使用した 脊髄損傷とほとんど差がなかった (BBB スコア: 7.5 点)。

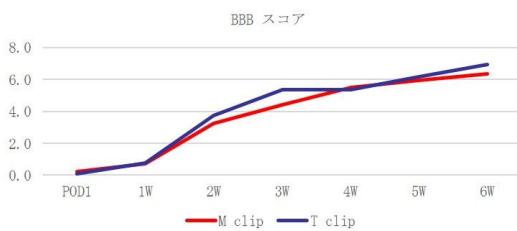


図 5 BBB スコア

また異痛症は脊髄損傷翌日から認められ、6 週間の経過観察中で疼痛閾値の低下を認めた。T clip と M clip とでは似たような経過をたどっており安定した脊髄損傷モデルが完成したと考えている (図 6)。



図 6 異痛症

この本邦で開発した動物脊髄損傷作製用改良型脳動脈瘤クリップは安価で、安定した脊髄損傷を作製することができ、今後の治療実験に貢献できると考えている。

動物脊髄損傷作製用改良型脳動脈瘤クリップを用いたラット脊髄損傷モデルの結果は 2018 年にトロントで開催される NeuroTrauma 2018 で報告する予定である。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

関 俊隆 (SEKI Toshitaka)  
北海道大学・大学病院・助教  
研究者番号: 80241446

(2)研究分担者

岩崎 素之 ( IWASAKI Motoyuki )  
北海道大学・医学研究院・客員研究員  
研究者番号：50748837

七戸 秀夫 ( SHICHINOHE Hideo )  
北海道大学・大学病院・准教授  
研究者番号：80374479

竇金 清博 ( HOUKIN Kiyohiro )  
北海道大学・大学病院・教授  
研究者番号：90229146

(3)連携研究者

( )

研究者番号：

(4)研究協力者

( )