

令和 2 年 5 月 24 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07090

研究課題名(和文) 脊髄損傷に対する低出力体外衝撃波治療による神経栄養因子発現と二次損傷抑制

研究課題名(英文) Low-energy extracorporeal shock wave therapy promotes BDNF expression and reduces secondary neural tissue damage after spinal cord injury

研究代表者

菅野 晴夫 (Kanno, Haruo)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：40646808

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は脊髄損傷モデルに対する低出力体外衝撃波治療(以下ESWT)による、脊髄内の神経栄養因子Brain-derived neurotrophic factor(以下BDNF)の発現の変化と神経保護作用を解析し、その治療効果を検証した。ラット脊髄損傷モデルに対するESWTは、脊髄損傷におけるBDNFの発現を促進させた。また残存する白質とオリゴデンドロサイトを増加させ、軸索損傷などの二次損傷を抑制させた。本治療は脊髄損傷後の運動・知覚機能に加え電気生理学的な脊髄伝導性も改善した。以上の結果から、脊髄損傷に対するESWTはBDNFの発現を促進し、運動・知覚機能が改善されることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脊髄は損傷後の神経再生が極めて生じ難く、現在でも脊髄損傷に対する有効な治療法は確立されていない。現在、低出力体外衝撃波は様々な疾患に対して臨床応用されており、世界各国で広く行われている治療である。低出力体外衝撃波の大きな利点は、患者への侵襲がなく、治療のための投薬や細胞移植が不要で、それに伴う麻酔やカテーテル留置などの必要性もないことが挙げられる。低出力体外衝撃波治療は、脊髄損傷患者に対して他の治療法に比べて患者の負担が少なく、安全・簡便で有効な治療法になる可能性が高い。既に臨床で広く行われている低出力体外衝撃波治療は、脊髄損傷治療への応用が期待できる治療法といえる。

研究成果の概要(英文)：The aim of the current study was to determine whether the application of low-energy extracorporeal shock wave therapy (ESWT) upregulates the expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and reduces neural tissue damage and functional impairment using a rat model of thoracic spinal cord contusion injury (SCI). We found that low-energy ESWT promoted BDNF expression in various neural cells at the lesion. The low-energy ESWT increased the area of spared white matter and the number of oligodendrocytes in the injured spinal cord. There were more axonal fibers around the injured site after the application of low-energy ESWT. Importantly, low-energy ESWT improved locomotor and sensory function after SCI. Moreover, the conductivity of the central motor pathway in the injured spinal cord was restored by low-energy ESWT. These findings indicate that low-energy ESWT promotes BDNF expression at the lesion site and reduces the neural tissue damage and functional impairment after SCI.

研究分野：脊髄損傷

キーワード：脊髄損傷 衝撃波

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

体外衝撃波治療は臨床で広く用いられている。臨床的には結石破碎療法をはじめとして、心筋梗塞や狭心症などの虚血性疾患や足底腱膜炎、アキレス腱付着部炎などの筋骨格系領域でも使用されている。なかでも低出力の体外衝撃波照射は、虚血性心疾患や皮膚潰瘍モデルで VEGF (vascular endothelial growth factor : 血管内皮細胞増殖因子) の発現を亢進させ血管新生を促進し組織修復および症状改善の効果があると報告されている。また低出力体外衝撃波は VEGF 以外にも FGF-2 (fibroblast growth factor 2 ; 線維芽細胞増殖因子) など成長因子や BDNF (brain-derived neurotrophic factor ; 脳由来神経栄養因子) などの神経栄養因子の発現を促進して、骨折偽関節の骨癒合促進や、末梢神経障害の機能改善の効果があることも報告されている。過去の報告から、BDNF は脊髄損傷において損傷部で神経保護作用をもたらす、運動機能障害を改善する効果をもつことが広く知られている。

我々の先行研究でラット脊髄損傷モデルに対する低出力体外衝撃波照射が VEGF の発現を促進させて、神経組織障害を抑制することが報告されている (文献 1, 2)。しかし、脊髄損傷への低出力体外衝撃波による BDNF の発現の変化とその治療効果については明らかになっていなかった。

2. 研究の目的

脊髄損傷に対する低出力体外衝撃波治療が代表的な神経栄養因子である BDNF のタンパク発現を促進するか否かを評価し、神経保護効果をもたらすか組織学的に検討した。さらに運動機能、知覚機能に加えて、電気生理学的な改善効果についても検討した。

3. 研究の方法

(1) 生体雌 SD ラットを以下の 3 群に分けた: SCI 群 (脊髄損傷のみの群)、SCI-SW 群 (脊髄損傷後に低出力衝撃波を照射)、Sham 群 (椎弓切除のみ。脊髄損傷なし)。脊髄損傷作製装置で第 10 胸椎レベルに脊髄損傷モデルを作製した。SCI-SW 群では低出力衝撃波は週 3 回、3 週間、計 9 回の照射を行い、損傷部の皮膚上から照射した。

(2) 損傷後 7 日目の脊髄組織における BDNF の発現を ELISA 法と免疫蛍光染色を用いて評価した。また BDNF と各神経系細胞マーカーの二重染色を行い、損傷部における BDNF 発現の局在を調べた。

(3) 低出力体外衝撃波による神経保護効果を評価するために損傷後 42 日目の組織を用いて luxol fast blue 染色による残存白質面積の評価、Olig2 染色による残存オリゴデンドロサイトの評価、RT97 染色による残存軸索の評価を行った。

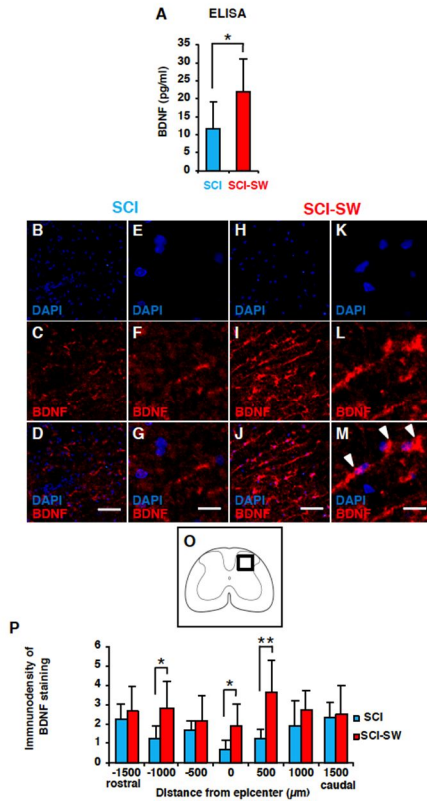
(4) 損傷後 42 日間の運動機能の評価を BBB score (Basso, Beattie and Bresnahan score) と ladder rung walking test で行った。知覚機能は von Frey test で評価した。

(5) 損傷後 42 日目に電気生理学的な検査で脊髄伝導機能の評価を行った。

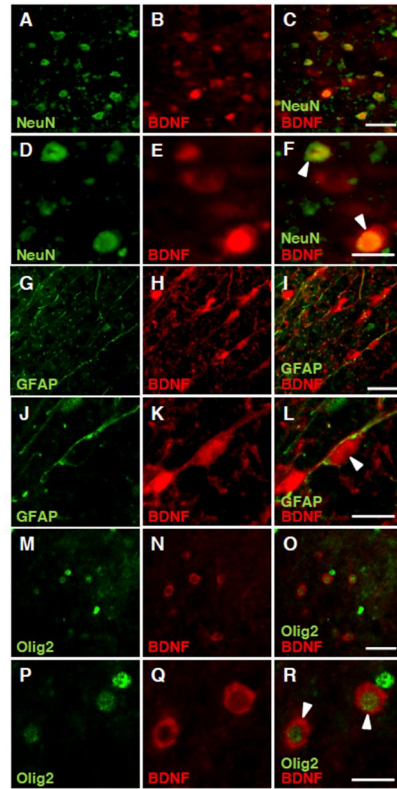
4. 研究成果

(1) 損傷後 7 日目の脊髄組織では、ELISA 法で SCI-SW 群の BDNF の蛋白発現が有意に上昇していることが分かった。また免疫蛍光染色でも BDNF の発現が有意に上昇していた (図 1)。

BDNF と神経系細胞との二重染色では NeuN、GFAP、Olig2 陽性細胞の全てで BDNF が発現しており、ニューロン、アストロサイト、オリゴデンドロサイトにおいて BDNF が発現していることが分かった (図 2)。

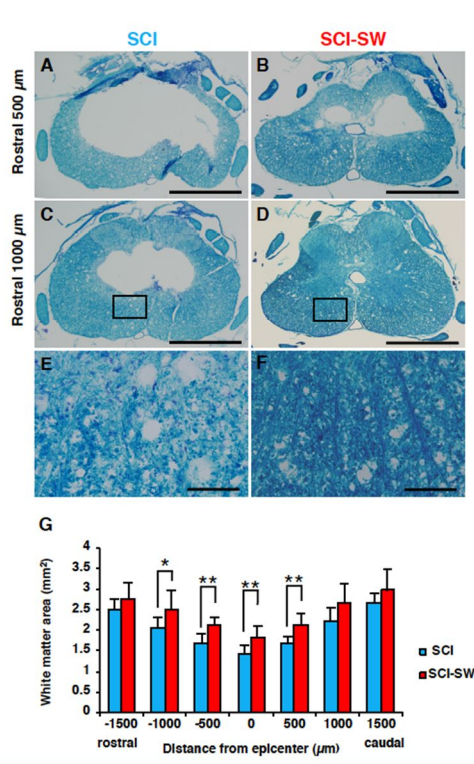


< 図 1 : BDNF 発現上昇の解析 >

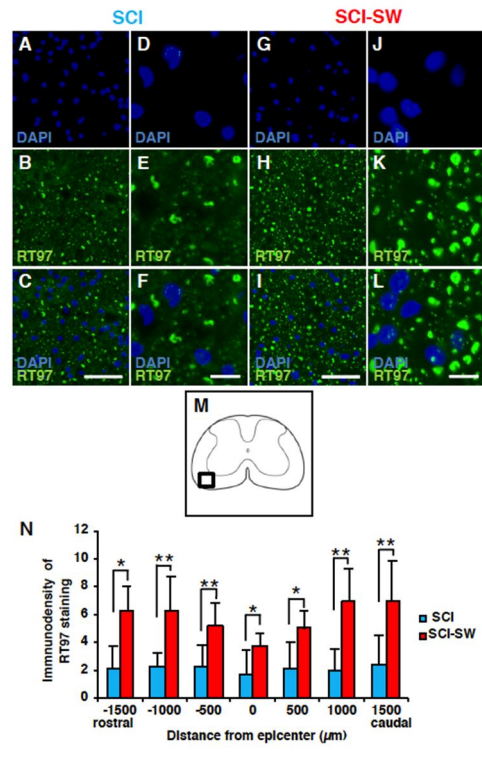


< 図 2 : BDNF 発現の局在 >

(2) 損傷後 42 日目における組織評価では、損傷部の残存白質面積 (図 3) と、オリゴデンドロサイトの細胞数が、SCI 群に比べて SCI-SW 群で有意に多いことが分かった。また SCI-SW 群では損傷部の神経軸索数も有意に多くなっていた (図 4)。

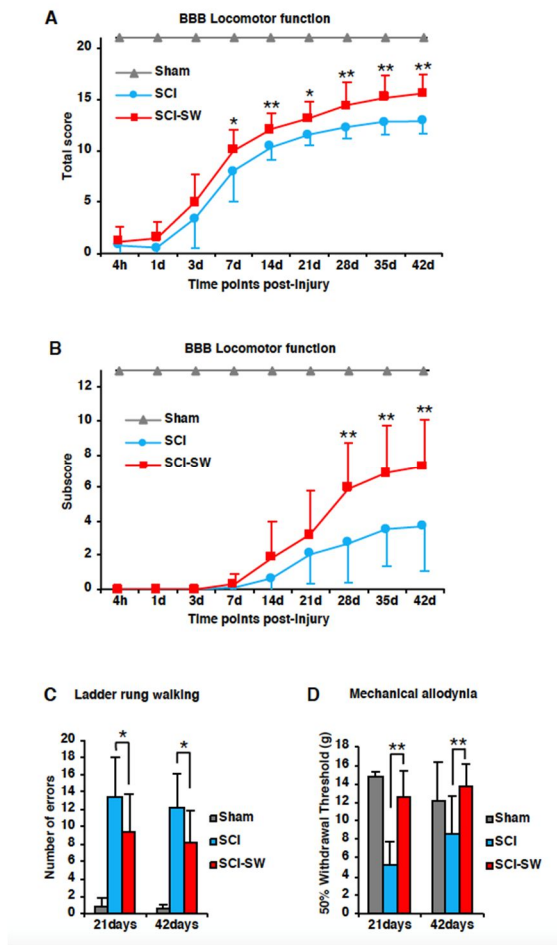


< 図 3 : 脊髄白質面積の評価 >

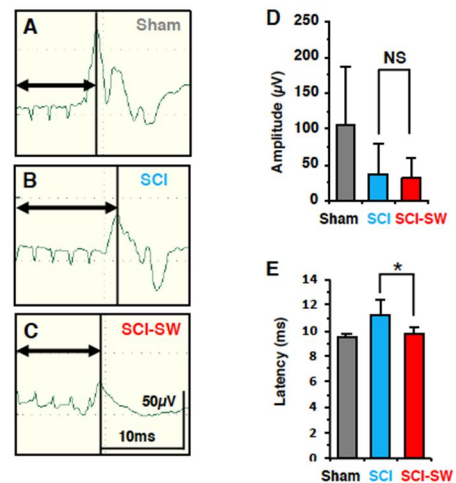


< 図 4 : 神経軸索の評価 >

(3) 運動機能評価では BBB と ladder lung test で、ともに SCI 群に比べて SCI-SW 群で有意な運動機能の改善がみられた(図5)。 von Frey test では SCI-SW 群で有意な知覚機能の改善がみられた(図5)。 さらに電気生理学的検査においては SCI 群に比べて SCI-SW 群で脊髄伝導性の有意な改善がみられた(図6)。



< 図 5 : 運動・知覚機能の評価 >



< 図 6 : 電気生理学的検査 >

(4) 研究成果のまとめ

本研究の結果、脊髄損傷に対する低出力体外衝撃波治療により BDNF の発現の上昇がみられた。また脊髄白質、オリゴデンドロサイト、軸索に対する神経保護効果が確認された。さらに本治療によって運動機能と知覚機能の改善に加え、電気生理学的な脊髄機能の改善が確認された。したがって低出力体外衝撃波治療は脊髄損傷の有効な治療法となる可能性がある。

< 引用文献 >

- 1) K. Yahata, H. Kanno, H. Ozawa, S. Yamaya, S. Tateda, K. Ito, H. Shimokawa, E. Itoi: Low-energy extracorporeal shock wave therapy for promotion of vascular endothelial growth factor expression and angiogenesis and improvement of locomotor and sensory functions after spinal cord injury. *J Neurosurg Spine* 2016;25:745-755
- 2) S. Yamaya, H. Ozawa, H. Kanno, K.N. Kishimoto, A. Sekiguchi, S. Tateda, K. Yahata, K. Ito, H. Shimokawa, E. Itoi: Low-energy extracorporeal shock wave therapy promotes vascular endothelial growth factor expression and improves locomotor recovery after spinal cord injury. *J Neurosurg* 2014;121:1514-25

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Matsuda Michiharu, Kanno Haruo, Sugaya Takehiro, Yamaya Seiji, Yahata Kenichiro, Handa Kyoichi, Shindo Tomohiko, Shimokawa Hiroaki, Ozawa Hiroshi, Itoi Eiji	4. 巻 328
2. 論文標題 Low-energy extracorporeal shock wave therapy promotes BDNF expression and improves functional recovery after spinal cord injury in rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Experimental Neurology	6. 最初と最後の頁 113251 ~ 113251
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.expneurol.2020.113251	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 松田 倫治, 菅野 晴夫, 菅谷 岳広, 半田 恭一, 八幡 健一郎, 山屋 誠司, 小澤 浩司, 井樋 栄二
2. 発表標題 脊髄損傷に対する低出力体外衝撃波治療による神経栄養因子(BDNF)の発現促進と運動・知覚機能の改善
3. 学会等名 第33回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	進藤 智彦 (Shindo Tomohiko) (80781294)	東北大学・大学病院・助教 (11301)	
研究協力者	松田 倫治 (Matsuda Michiharu)	東北大学・整形外科	
研究協力者	菅谷 岳広 (Sugaya Takehiro)	東北大学・整形外科	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 協力 者	半田 恭一 (Handa Kyoichi)	東北大学・整形外科	