

平成 21 年 5 月 13 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2006 ～ 2008

課題番号：18791342

研究課題名（和文）神経損傷に対する移植治療の基礎及び臨床研究

研究課題名（英文）Basic and clinical study of the transplantation for nerve injury

研究代表者

秋山 幸功（AKIYAMA YUKINORI）

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：50404653

研究成果の概要：

基礎実験および臨床研究により神経損傷の評価、治療方法の開発を目的とした研究。基礎実験において現段階では、末梢神経損傷に対する移植療法では、Schwann 細胞が donor としては優れ、神経幹細胞や骨髄幹細胞では、生着することが困難であった。

臨床研究では、Susceptibility weighted image (SWI) という新しい MRI の撮像方法によって頭部外傷患者の微小出血を鋭敏に評価することが可能であった。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,100,000	0	1,100,000
2007 年度	1,000,000	0	1,000,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	390,000	3,790,000

研究分野：脳神経外科学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・救急医学

キーワード：神経損傷、中枢神経、末梢神経

1. 研究開始当初の背景

外傷による頭部損傷、脊髄損傷、さらには末梢神経断裂などの神経損傷に対する治療において、その神経機能の回復は現在の医療でもなお困難な場合が多い。また、損傷の程度判定、画像診断、さらにその機能予後判定法なども、完全に確立されたものがないのが現状である。そこでわれわれは、(1) 動物モデ

ルを使った基礎実験として神経幹細胞、骨髄幹細胞などを用い、細胞移植療法を行うことによって、神経機能の回復を試み、それを組織学的、電気生理学的に解析し、その有用性について検討する。また、同時に(2) 臨床的に損傷神経の画像的解析と神経機能予後との相関を解析することによって、神経損傷の予後判定を試み、さらにまた、それぞれの

損傷の程度によって最適な治療法を確立する。

2. 研究の目的

(1) 本研究において、基礎実験としてラットまたはマウスを用いて、神経損傷モデルを作成し、細胞移植群がコントロール(損傷モデルの生理食塩水注入もでる)と比較して神経機能の回復が速く、またその最終的な神経機能予後も良好となることが期待される。また、移植方法においても、直接損傷部位に細胞を移植する方法や、その周辺組織への移植、さらには、静脈内投与による全身への細胞移植法など、どの移植方法が最適であるのか。さらに移植時期についても損傷後どの時期に移植することが最適かを判定することが可能となる。

(2) 臨床研究においては、損傷後の神経またはその周囲の環境変化(筋肉や脂肪などの損傷、組織の浮腫などの2次的な変化など)が損傷を悪化させたり、また回復を妨げたりすることが考えられる。神経損傷と周囲の環境についてCT、MRI、Thermometerなどにより詳細に分析、解析することによってその損傷の変化を経時的に追跡し、データ化することにより、画像的に損傷患者の将来的な神経機能予後などを推測することが可能となる。そのことによって各患者それぞれにあったリハビリテーションを早期より開始することが可能となる。

3. 研究の方法

研究計画

計画(1) 基礎実験

ラットならびにマウスの神経損傷モデルの作成、ならびに移植実験におけるドナー細胞の分離、培養。

末梢神経クラッシュモデル、脳損傷モデル、

脊髄切断モデルを作成し、損傷モデル無治療群の組織学的、電気生理学的なデータの収集を行う。

(1) 末梢神経損傷モデル; Wild type mouse の sciatic nerve を fine forceps にて一定の力で crush する。その後、その nerve を取り出し、電気生理学的 recording を施行する。データを収集した後にその nerve を固定し、組織学的に解析する。

(2) 脳および脊髄損傷モデル; 開頭または椎弓切除を行い、脳、脊髄を露出し決まった重りを決まった高さよりより落下させ compaction モデルを作成する。その後、ガラスまたは針電極を用いて神経の conduction properties を解析する。解析後、脳または脊髄さらには末梢神経を paraformaldehyde にて固定、組織解析を行う。

計画(2) 臨床研究

交通外傷などによって損傷された神経系(中枢神経ならびに末梢神経)の画像的解析を詳細に行い、その機能回復に関して、経時的にCT、MRI、thermometerなどを用いて評価し、感覚、運動神経などの臨床症状について症例ごとに詳細に分析する。

倫理面への配慮

本研究は事前に札幌医科大学倫理委員会の承認を得ることを前提として研究をすすめるものとし、神経損傷を負い、本研究の対象となった者またはその家族に対しては、十分にインフォームドコンセントを行って、了解を得たもののみ施行するものとする。また、基礎実験においては、対象動物に対して手術後、鎮痛剤の投与を3日間施行するものとする。しかし予想に反して動物にとって非常な苦痛のある場合には、それを安楽死させるこ

ととする。

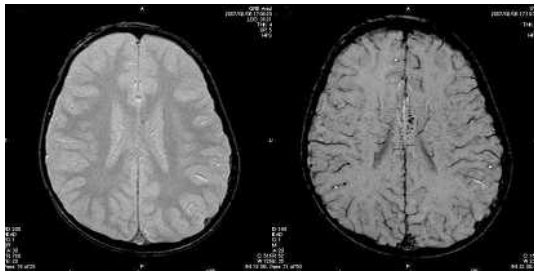
4 . 研究成果

臨床研究

これまで Susceptibility weighted image (SWI) の重症頭部外傷患者に対する有用性について検討してきた。通常の MRI 撮像、CT では描出できない微小出血の検出にすぐれ、頭部外傷患者の病態把握に非常に有用であった。Figure 1 左は従来から microbleeding の検出に優れているとされてきた T2* であり、右側が新しい撮像法の SWI である。明らかに右側の SWI において多くの出血を確認することができる。逆に SWI は、頭蓋底病変などの検出にはむかず、他の撮像とあわせて診断することが必要であった。

臨床研究の結果は下記論文に発表した。

Figure 1



基礎研究

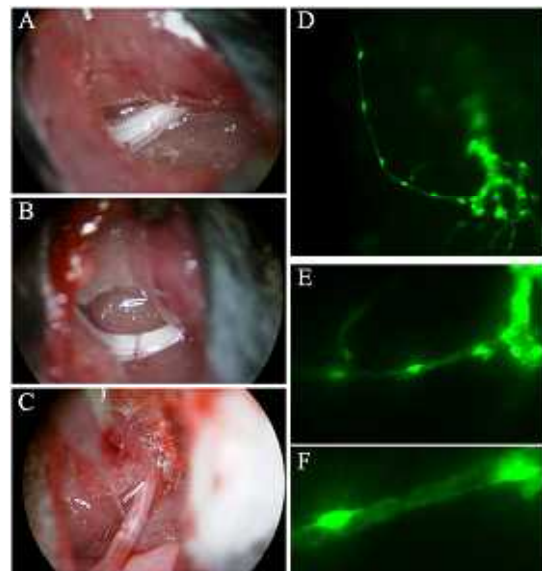
GFP mouse より採取、培養した Schwann cell (神経鞘細胞) を host mouse (No GFP labeling) の sciatic nerve の損傷モデルに移植する移植実験にて、明らかに GFP 陽性の (donor 由来) Schwann cells が host 側の神経の周りに集積し、神経の再生作用があることが明らかとなった。(Figure 2)

それに対し、donor 細胞を骨髄細胞 (bone marrow stromal cells) とする移植実験では、骨髄細胞を損傷神経に直接移植してもマク

ロファージなどによる貪食が起こり、生着する細胞もほとんどなく、神経の再生にまではいたらないことが判明した。

末梢神経では、host 由来の Schwann cell、fibroblast の活性が強く、donor 細胞が生着することは、非常に困難であると考えられる。移植の時期、移植細胞の種類などに関しては、今後さらなる研究が必要と考えられた。

Figure 2



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1件)

Akiyama Y, Miyata K, Harada K, Minamida Y, Nonaka T, Koyanagi I, Asai Y, Houkin K. Susceptibility-Weighted Magnetic Resonance Imaging for the Detection of Cerebral Microhemorrhage in Patients with Traumatic Brain Injury. Neurologia medico-chirurgica 49:97-99, 2009. 査読有

[学会発表](計1件)

秋山幸功. 頭部外傷患者の微小脳内出血
の検出率における SWI の有用性. 第 31 回
日本脳神経CI学会総会. 2008年2月21日.
東京

6. 研究組織

(1)研究代表者

秋山 幸功 (AKIYAMA YUKINORI)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：50404653

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：