

令和 3 年 6 月 6 日現在

機関番号：15201

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K19794

研究課題名（和文）神経再生阻害によるボツリヌス療法効果延長療法の開発

研究課題名（英文）Development of a method for extending the effect of botulinum therapy by inhibiting nerve regeneration

研究代表者

石原 弘基（Ishihara, Hiroki）

島根大学・医学部・医科医員

研究者番号：30829958

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：痙縮は脳梗塞などの脳の疾患により生じる筋肉の緊張が異常になっている状態のひとつである。ボツリヌス療法は筋肉注射により、異常な筋の緊張を弛緩させる効果がある。本研究ではボツリヌス療法の効果期間を延長する方法を確立することが目的である。神経再生因子に関する抗体である抗IGF1R抗体を併用することで、マウスを用いた実験で短期間の効果延長が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ボツリヌス療法は脳梗塞を始めとする脳の疾患によって生じる、痙縮に対して行われる治療である。効果の有効性がある一方で、効果の持続期間が限られており、持続時間延長が望まれている。本研究は健常マウスを使用した実験で、抗体を併用することでボツリヌス療法の効果持続期間を延長する方法を示すものである。痙縮治療発展のための礎となる研究である。

研究成果の概要（英文）：Spasticity is one of the abnormal symptoms of muscle tension caused by a brain disease such as cerebral stroke and botulinum therapy is a treatment that relieves spasticity by intramuscular injection. The purpose of this study is to establish a method for extending the duration of the effect of botulinum therapy. The combined use with anti-IGF1R antibody, which is related to nerve regeneration factor, resulted in a short-term prolongation of the effect in experiments on mice.

研究分野：リハビリテーション

キーワード：ボツリヌス療法

1．研究開始当初の背景

リハビリテーション科の治療のひとつにボツリヌス療法がある。脳梗塞や脳出血などの脳脊髄病変により生じる、痙縮と言われる筋緊張異常に対して用いられる。異常な筋緊張を抑制する効果があるが、持続効果は3ヵ月程度である。患者は治療効果を継続して得るために、定期的に複数回の治療を受ける必要がある。治療回数が多くなることによる、患者自身への侵襲や費用が増大することが問題となっている。効果期間が限られるため、繰り返しの通院が難しく必要な治療が受けられない患者も存在する。治療効果の延長することで患者負担の軽減が図れないかと考えたことが、本研究の着想へのきっかけである。

2．研究の目的

ボツリヌス療法の効果を延長する方法を模索する研究は多くないが、神経成長因子のひとつである insulin growth factor(IGF) に対する抗体が効果を延長するとの報告がある (Jin L. *Int. J. Mol. Sci.* 2013)。IGF には IGF-1、IGF-2 が存在し、片方の作用が阻害される際には、もう一方が代償的に作用する可能性が考えられる。共通の受容体である IGF1R を阻害することによってボツリヌス療法の効果延長が図れるかを調べることが本研究の目的である。

3．研究の方法

(1) 健常マウスを用いてボツリヌス療法の効果期間がどのように変化するかを調べた。下肢の腓腹筋を標的筋とし、筋弛緩の評価方法としては歩行時の足跡を評価する Foot Print test を使用した。

(2) ボツリヌス療法によって機能が阻害された神経筋接合部からは側枝が出現し機能を代償することが報告されている (De Paiva A. *PNAS* 1999)。神経観察をより簡便に実施するために神経細胞が蛍光タンパク質で標識された遺伝子改変マウスである Thy1-YFP マウスを用いて、側枝の変化を観察した。

(3) 既存の IGF1R 抗体より、より効果の高い抗体の作製を行う。大腸菌または動物細胞を用いて目標タンパク質の抽出を行う。回収したタンパク質をマウスに投与して特異抗体を作製する。

4．研究成果

(1) ボツリヌス療法単独とボツリヌス療法と抗 IGF1R 抗体治療を併用した場合、抗 IGF1R 抗体を併用した群において治療効果が2週間有意に延長することが示された。

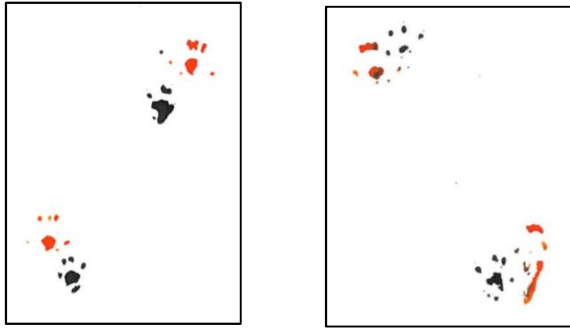
(2) ボツリヌス療法単独とボツリヌス療法と抗 IGF1R 抗体治療を併用した場合、側枝の状態に関しては2群間で有意な変化は見られなかった。

(3) 大腸菌を用いて IGF1R のタンパク質を抽出しようとしたが、封入体を形成してしまい抽出が困難であった。動物細胞を用いてやり直したところ、IGF1R の細胞外ドメインの全体のタンパク質抽出できた。その目標タンパク質を動物に注射し、抗体価を測定し、現在ハイブリドーマの作製を行っている段階である。

本研究ではボツリヌス療法に抗体の投与を併用することで、治療効果の短期間の延長が得られた。ボツリヌス療法による神経筋接合部の機能阻害から回復する過程で発生する側枝に関しては、抗体併用による明らかな変化は確認できなかった。抗体の投与方法に関しては単回投与で実施しているため、複数回投与となった場合に更なる作用の延長が図れるのか、神経筋接合部や側枝の状態に変化が起こるかどうかに関しては研究データの蓄積が望まれる。

本研究の結果でボツリヌス療法に抗体を併用した際に筋の萎縮も持続する傾向がみられた。IGF は神経だけでなく、ボツリヌス療法後の骨格筋にも発現が増加することが知られている (Caroni P. *J neuroscience* 1994; Shen J. *J Orthop Res* 2006)。効果延長の機序として、神経だけではなく筋への関与も考えられた。今後は筋の組織学的変化も調べることで、ボツリヌス療法の効果や回復過程の変化を詳細に理解することができる。機序に基づいて更なる効果延長する方法を模索・確立していくことで、痙縮治療の発展が期待される。

(図 1)

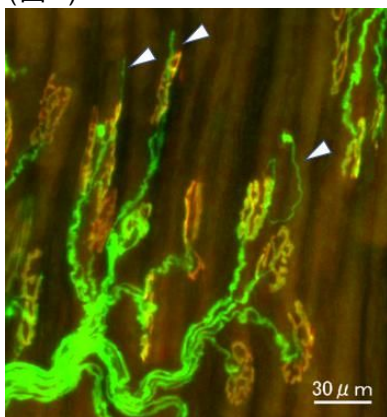


研究成果(1)マウスの Foot Print Test の画像 黒(前脚)、赤(後脚)

左：ボツリヌス療法処置前

右：ボツリヌス療法処置後 2 週間(左脚は生理食塩水、右脚はボツリヌス毒素投与)

(図 2)



研究成果(2)マウスの腓腹筋の画像

緑：Thy1-YFP 赤：ブンガロトキシン

白矢印：側枝

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

7 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------