

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月2日現在

機関番号：15501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21700534

研究課題名（和文） ラット脊髄損傷後の機能的神経筋電気刺激治療モデルの確立

研究課題名（英文） Development of neuromuscular electrical stimulation therapy model after spinal cord injury on a rodent

研究代表者

寒竹 司 (KANCHIKU TSUKASA)

山口大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30464324

研究成果の概要（和文）：脊髄再生治療と併用可能な針電極を使用したラット後肢機能的神経筋電気刺激治療モデルを開発した。正常ラットによる刺激条件の設定後に、脊髄不全損傷ラットの機能的電気刺激治療を行い、三次元歩行解析により短期での後肢共同運動の改善を認めた。機能的神経筋電気刺激治療は脊髄損傷後早期、或いは脊髄再生治療後の早期の運動機能訓練としての有用性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：We have developed a less invasive rodent model of neuromuscular electrical stimulation (NMES) capable of being combined with spinal cord regeneration therapy. In this study, we evaluated its ability to promote recovery of interlimb control during locomotion. The results suggested that NMES therapy could provide an effective therapeutic tool for neuromotor treatment following incomplete spinal cord injury.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：脊椎脊髄外科

科研費の分科・細目：人間医工学・リハビリテーション科学・福祉工学

キーワード：脊髄損傷，機能的電気刺激，ニューロリハビリテーション

## 1. 研究開始当初の背景

損傷後の効果的な神経機能の改善を得るためには、次の4つのゴールを達成する必要があると考えられる。(1)急性期の二次的損傷の抑制、(2)損傷により失われた組織の外來細胞などによる再生、軸索の再生促進、(3)軸索再生を阻害する内因性因子の抑制、(4)積極的なリハビリテーションを通して、適切な感覚運動刺激を与えることによって、残存神経回路網の再生、再編の促進、である。脊髄再生治療により損傷部の軸索の再生が得られても、必ずしも効果的な機能改善が得られるとは限らず、再生された軸索を通じて、運動機能の改善につながるような神経回路の再構築が必要となる。これには、上記(4)の有効なリハビリテーションが不可欠であるが、この分野の基礎的な研究は上記の(1)～(3)の研究に比して非常に少ない。臨床での脊髄再生医療が現実的となってきた現在において、有効なリハビリテーションの確立は急務である。臨床的には、部分的体重免荷下でのトレッドミル、機能的電気刺激(Functional electrical stimulation: FES)を用いた歩行訓練で、脊髄不全損傷後の患者の歩行能力の有意な改善が得られるとの報告が散見され、リズム的な歩行運動が、末梢からの適切な感覚フィードバックを促進し、運動機能の改善が得られるのではないかとされているが、詳細なメカニズムは依然不明である。我々はこのメカニズムの解明を目的にラット FES 治療モデルの確立を目指している。今後の同領域の基礎的な研究が、脊髄損傷後の有効なリハビリを確立するための鍵を握っていると考えている。

## 2. 研究の目的

(1)ラット脊髄損傷後の FES 治療モデルを確立し、その運動機能改善のメカニズムの解明を行う。

(2)脊髄損傷後の移植・再生治療との併用治療としての FES 治療の有効性について検討する。

## 3. 研究の方法

初年度はラット脊髄損傷後に使用可能な経皮刺激電極を用いた FES 治療モデルを確立し、再生治療後のラットに使用して、動作解析を行って運動機能の評価を行った。

### 方法

#### (1)実験動物

成熟雌の Whister rat を用いた。まずは正常ラットを用いて、経皮電極を用いた刺激手技の確立、刺激条件、刺激治療中の筋疲労を評価するため、三次元動作解析を行って、評価を行った。

#### (2)刺激電極挿入

刺激電極の挿入は吸入麻酔下で行った。ラットを専用のプラットフォーム上に固定し、両側の TA と Gc に経皮的に電極を挿入した(図1)。各筋のモーターポイント近傍に挿入するため、解剖学的なモーターポイントを参考にして、刺激電極に低電流(周波数=75Hz, パルス幅=40  $\mu$  sec, 振幅=1mA, 持続時間=200msec)を流して、経皮的に刺激を行い、目的筋の最大収縮が得られる部位に挿入した。

#### (3)強さ時間曲線

刺激電極が目的筋のモーターポイント近傍の適切な位置に挿入されているか否かについて評価するため、刺激電極挿入直後に各筋の SD 曲線を作成した。SD 曲線とは活動電位を生み出すための閾値刺

激をもたらすのに必要な最小電流とパルス幅の関係をみたもので、本研究ではパルス幅を 20, 40, 60, 100, 200, 500  $\mu$  sec と変化させた時の筋の Visual twitch の最小電流をプロットして作成した。

#### (4) 刺激装置及び刺激条件

刺激装置にはアイソレーテッド 4ch 刺激装置<sup>®</sup> (STG2004, Multi Channel Systems, Cytocentrics) を使用した。刺激条件は過去の報告を参考にして設定した (パルス幅=40 $\mu$ sec, 周波数=75Hz, 振幅=パルス幅 40  $\mu$  sec での Visual twitch 最小閾値電流の 1.5 倍)。各筋の刺激のタイミングは正常ラットのトレッドミル歩行の筋電図データから、左右の足関節主動筋を歩行のリズムで刺激した。刺激は麻酔下で 15 分間行った。

#### (5) 筋疲労の評価

刺激中の足関節の関節可動域 (以下 ROM) の経時的変化を評価するため、三次元動作解析を行った。三次元動作解析システムは KinemaTracer<sup>®</sup> (KISSEI COMTEC CO., LTD.) を使用した。両側後肢の関節に設置したカラーマーカー (マーカーは両側の腸骨部, 股関節部, 膝関節部, 足関節部, 足部 MP 関節部皮膚上に設置) を 4 つの CCD カメラで撮影し, 動作解析ソフトを用いて足関節の ROM を算出し, 刺激直後, 5 分後, 10 分後, 15 分後の経時的な変化を評価した。

次年度以降は, 同モデルを用いて, 脊髄不全損傷ラットでの検討を行った。脊髄再生治療に同モデルを用いたリハビリ治療を行い, 運動機能について評価した。

### 4. 研究成果

#### (1) SD 曲線

各筋の SD 曲線は何れも滑らかで

non-linear 曲線を描き, 電流閾値も低値を示していた (図 1)。以上から刺激電極は何れもモーターポイント近傍の適切な位置に挿入されていることが確認できた。

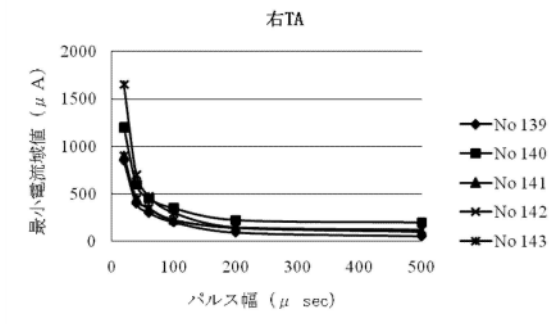


図 1. SD 曲線 (右 TA)

#### (2) 三次元動作解析

図 2 は両側足関節の平均 ROM の経時変化をみたグラフである。刺激直後には良好な ROM が得られているが, 5 分後には有意な ROM 減少を認めている ( $P=0.001$ )。

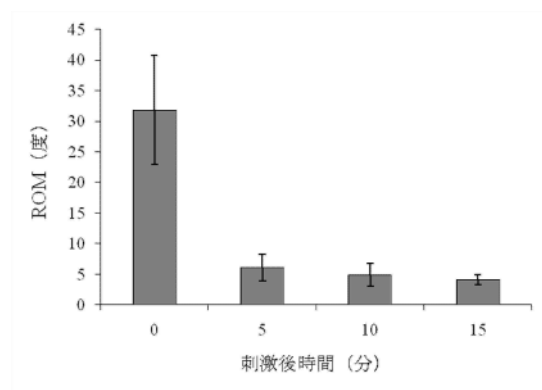


図 2. 平均足関節 ROM の変化

しかしながら, 歩行刺激によるリズムカルな足関節の運動は確認でき, 歩行リズム刺激には成功した (図 3)。

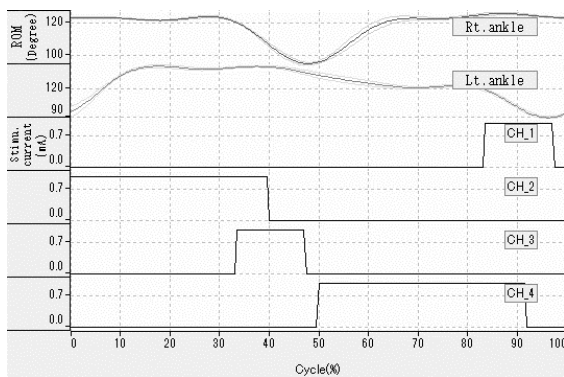


図 3. 刺激のタイミングと足関節角度変化の軌跡

また、筋疲労による ROM の減少の問題について、刺激の頻度を 8 kHz とし、刺激強度を最小閾値刺激の 3 倍とした群 (B 群) と従来の 75Hz の頻度で、最小閾値刺激の 1.5 倍の刺激強度の群 (A 群) で比較したところ、B 群ではより良好な ROM が得られ、A 群と比較して比較的良好的な ROM が維持されていた。(図 4) したがって、刺激条件の変更によりある程度の ROM の維持が可能であることが分かった。

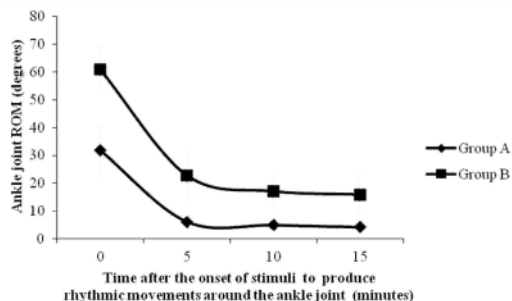


図 4. 刺激条件の異なる 2 群の足関節 ROM の推移

以上のように、針電極を使用した FNS 治療モデルの作成については、正常ラットでの条件設定を行い、足関節の主動筋である前脛骨筋と腓腹筋の歩行リズム刺激に成功した。この成果は Journal of Spine Research に掲載された。また、同モデルでの高頻度刺激による検討を追加した研究については、国際誌である Journal of Spinal Cord Medicine にアクセプトされ、2012 年 5 月号に掲載予定である。

さらに、脊髄不全損傷ラットでの短期での FNS 治療の効果について、三次元歩行解析による検討を行い、有意な後肢共同運動機能の改善効果を確認し、この結果は 2012 年の日本リハビリテーション医学学会、日本整形外科学会基礎学術集会にて報告予定である。

## 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 3 件)

- ① 寒竹 司, 他 5 名, 1 番目, ラット脊髄損傷後の機能的神経筋電気刺激治療モデルの確立, Journal of Spine Research, 査読あり, 2 巻, 2011, 999-1004
- ② Suzuki H, Taguchi T, Kato Y, Kanchiku T, 他 6 名, 4 番目, Transplantation of neurospheres derived from bone marrow stromal cells promotes neurological recovery in rats with spinal cord injury. Medical Molecular Morphology, 査読あり, Vol.44, 2011, 131-138

[学会発表] (計 12 件)

- ① Kanchiku T, 他 5 名, A rodent model of functional neuromuscular stimulation after incomplete spinal cord injury, Society for Neuroscience 41<sup>st</sup> Annual Meeting 2011, November 12-16, 2011, Washington DC, USA
- ② 寒竹 司, 他 5 名, ラット脊髄損傷後の機能的電気刺激治療モデルの確立: 脊髄不全損傷ラットでの三次元動作解析による検討, 第 26 回日本整形外科学会基礎学術集会, 2011 年 10 月 20, 21 日, 前橋市, ベイシア分化ホール

6. 研究組織

(1) 研究代表者

寒竹 司 (KANCHIKU TSUKASA)

山口大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30464324