

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：34104

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K17539

研究課題名（和文）末梢神経損傷後の神経修復と機能回復の分子基盤解析及びその病態マーカーの探索

研究課題名（英文）Analysis of the molecular basis of nerve repair and functional recovery after peripheral nerve injury, and exploration of pathological markers

研究代表者

草川 裕也（Kusakawa, Yuya）

鈴鹿医療科学大学・保健衛生学部・准教授

研究者番号：40756392

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：外傷性末梢神経損傷後のリハビリテーションは、患者の社会復帰とQOLの向上に重要であるが、その標的分子及び作用機序の詳細は未解明である。そこで、神経挫滅モデルラットにて、反復運動による神経組織修復関連分子の発現動態変化を分析し、反復運動による感覚軸索再生マーカーSuperior Cervical Ganglion 10（SCG10）の発現上昇と触覚回復の促進を確認した。また、リハビリテーションを最適化することができる病態マーカーの探索を行い、神経挫滅により、血液中のニューロフィラメント軽鎖（NfL）が増加することを確認した。しかし、病態マーカーとしての利用のためには、より詳細な分析が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで損傷末梢神経組織における運動療法の治療標的と作用機序の詳細は未解明であった。本研究では、反復運動による感覚軸索再生マーカーSCG10の発現上昇と触覚回復の促進が確認され、触覚回復にSCG10が関与していることが示唆された。この2つの関連性と反復運動によるSCG10発現上昇のメカニズムを解析することで、より効果的なリハビリの開発へと発展できる。また、本研究では、これまでに行われていない、リハビリ介入技術の最適化に利用できる病態マーカーの探索に取り組み、血中NfLを候補として同定した。これらは外傷性神経損傷後のリハビリの分子評価指標や作用機序解明への手がかりとなる。

研究成果の概要（英文）：Rehabilitation after traumatic peripheral nerve injury is important for patients' social reintegration and QOL improvement, but the details regarding its molecular targets and mechanisms of action remain unclear. Therefore, using a nerve crush injury model in rats, we analyzed changes in the expression dynamics of nerve tissue repair-related molecules with forelimb repetitive exercise. We confirmed an increase in the expression of the sensory axon regeneration marker Superior Cervical Ganglion 10 (SCG10) and the promotion of tactile recovery with repetitive exercise. Additionally, we explored potential pathological markers that could optimize rehabilitation and confirmed an increase in neurofilament light chain (NfL) in the blood following nerve crush. However, a more detailed analysis is necessary to utilize this as a pathological marker.

研究分野：神経生物学

キーワード：神経科学 リハビリテーション 反復運動 SCG10

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

外傷性の末梢神経損傷後における神経修復と運動・感覚機能回復のための治療法とリハビリテーション技術の構築は、患者の社会復帰とQOLの向上に必須である。特に、上肢においては、物品の運搬、操作時に強い力や精密な動作が要求されることがあり、運動のみならず、感覚機能の回復も重要である。末梢神経損傷に対するリハビリテーションについては、従前より運動負荷や知覚再学習が実施されているが、いくつかの問題が存在している。

近年、脳の可塑性を生かした早期からのリハビリテーションが報告されている。しかし、一般的には、末梢神経の再生が進み、筋や感覚受容器に神経線維が到達した後に、積極的なリハビリテーションが開始される。つまり、それまでは積極的なリハビリテーションが実施されず、廃用症候群の予防や生活指導しか行えていない。そのため、受傷後及び術後早期からのリハビリテーションについて、その効果と作用機序を明らかにし、神経科学の知見に基づいたプログラムの再検討が必要である。また、その積極的なリハビリテーションの開始時期は、医師や療法士の触診、触察などの評価結果から判断されている。故に、彼らの経験や技術の影響を受けやすく、損傷神経組織におけるリハビリテーションの治療標的と、その至適化のための病態マーカーの特定が課題とされている。

2. 研究の目的

神経の組織修復と機能回復の分子基盤を探究するとともに、予後を反映し、それに照らし治療とリハビリテーションを至適化することができる病態マーカーの探索を行うことを目的とした。

本研究では、末梢神経挫滅モデルを対象として、組織修復の過程や運動負荷における神経組織修復関連分子の動態に注目し、その神経細胞及びシュワン細胞への作用と身体機能回復の連関を解析した。また、リハビリテーションプログラムの転換時期の判断やプログラムの決定などに利用できる病態マーカーの探索を行った。

3. 研究の方法

本研究では、7週齢のWistarラットを対象とし、イソフルランガス吸入麻酔下にて右正中神経を鉗子で挟んで挫滅させた、正中神経挫滅モデルを作製、使用した。この神経挫滅モデルを運動実施群と非実施群に無作為割付し、挫滅後14日目と28日目に、それぞれ神経挫滅部の組織を採取してmRNAを調整後、DNAマイクロアレイで遺伝子発現レベルの網羅的解析を行った。なお、運動として、右前肢による餌への前方リーチ、把持反復運動を、挫滅後翌日より週5日1日60分実施した。組織修復の過程や運動負荷において発現量が変動するサイトカイン遺伝子を同定し、運動実施群及び非実施群における神経細胞、シュワン細胞の状態と神経組織修復関連分子の発現分布を免疫組織化学染色にて評価、比較した。また、挫滅部を中心として右正中神経を採取し、ウェスタン・ブロット法にて、神経組織修復関連分子の産生を定量解析した。さらに、神経挫滅モデルの身体機能回復の評価として、握力測定と触覚検査を実施した。加えて、二群ともに、尾静脈から採血し、さまざまな神経疾患において病態マーカーとして利用されている、血中ニューロフィラメント軽鎖(NfL)濃度を定期的に測定、二群の差を解析した。

4. 研究成果

(1) 神経組織修復の過程や運動負荷において発現量の変動が認められたサイトカイン

DNAマイクロアレイ解析の結果、運動実施群と非実施群において、発現量が大きく異なるものが複数認められた。軸索突起の主要な細胞骨格成分であるニューロフィラメントは運動実施群に多く発現しており、運動実施群では軸索再生が促進されることが示唆された。

また、本解析の結果、挫滅後14日目に運動実施群で発現量が多かったものの中から、リハビリテーションとの関連を検討できそうな、Superior Cervical Ganglion 10 (SCG10) に注目し、今後の研究を進めることとした。SCG10は、細胞体から軸索輸送される微小管制御タンパク質であり、感覚軸索再生のマーカーとも言われている。故に、SCG10の発現動態と機能回復の関連を分析した。

(2) 運動実施群と非実施群における神経細胞及びシュワン細胞の状態の変化

免疫組織化学染色にて確認した。ワラー変性を確認することはできたが、運動実施群と非実施群における違いを確認することはできなかった。

(3) 運動実施群と非実施群における身体機能回復

握力は図1のような回復経過が確認できた。挫滅後7日目においては、両群ともに握力計の把

持が困難であった。挫滅後 14 日目より把持が可能となり、挫滅後約 2 カ月で術前レベルに回復した。回復経過については、両群ともに同様の傾向を示し、有意差は認められなかった。

触覚検査としては、von Frey テストを実施し、図 2 のような回復経過が確認できた。両群ともに挫滅後 7 日目に触覚低下が認められ、挫滅後約 1 カ月で術前レベルに回復した。また、運動実施群は、挫滅後 7、14 日目において有意な改善を認めた。

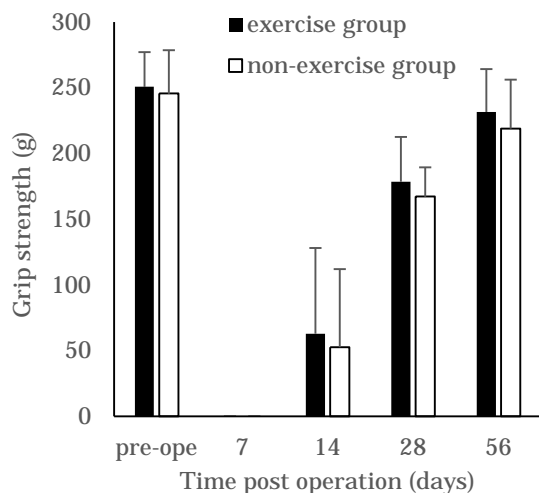


図 1 . 神経挫滅モデルの握力回復の推移
二群に有意差は認められなかった。

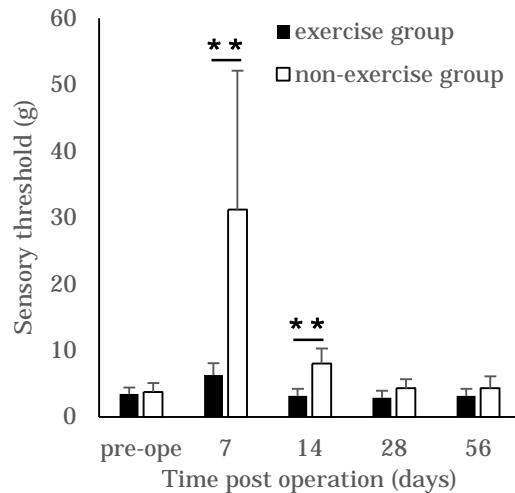


図 2 . 神経挫滅モデルの触覚回復の推移
運動実施群は、挫滅後 7、14 日目において有意な改善を認めた。**は $p < 0.01$ を示す。

(4) 運動実施群と非実施群における SCG10 発現動態の変化

二群における神経挫滅後の SCG10 発現量は、図 3 のような変化が認められた。両群ともに、挫滅後 7 日目で SCG10 発現は最大となり、挫滅後 28 日目にかけて減少した。運動非実施群が、挫滅後 7 日目から 14 日目にかけて有意に発現が減少したのに対し、運動実施群は、挫滅後 7 日目から 14 日目にかけての減少が小さく、挫滅後 14 日目において有意に発現量が多かった。

また、抗 SCG10 抗体を用いて組織学的評価を行った。これまでの報告同様、SCG10 は、挫滅後より、挫滅部の近位で増加、遠位で減少し、その後徐々に遠位部では増加していく傾向が認められた。二群における差については、現在分析中である。

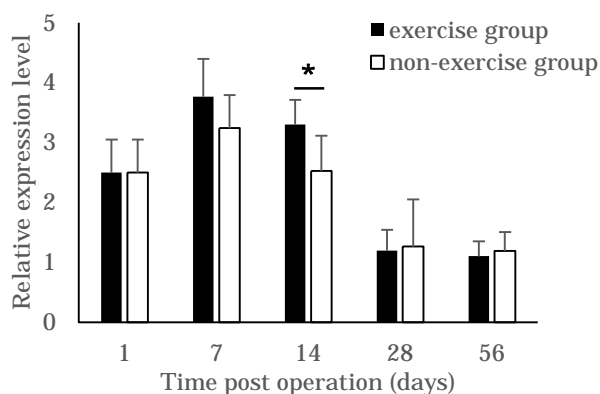


図 3 . 神経挫滅後の損傷部 SCG10 発現量の推移
運動実施群は、挫滅後 14 日目において発現量が有意に多かった。*は $p < 0.05$ を示す。

(5) 運動実施群と非実施群における血中 NfL 濃度の変化

二群において、挫滅後に血中 NfL 濃度が増加する傾向が認められた。また、運動実施群の方が、挫滅後早期より血中濃度が増加する傾向が認められたが、血中濃度のばらつきが多く、挫滅後の経過日数及び二群間に有意差は認められなかった。今後は、より高感度の測定器を使用して、血中濃度変化を解析する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 草川裕也, 遠藤浩二郎, 浅井勇人, 植木孝俊
2. 発表標題 末梢神経損傷後の反復運動による機能回復とSuperior Cervical Ganglion 10の発現動態への影響
3. 学会等名 第35回日本末梢神経学会学術集会
4. 発表年 2024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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------