

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25年 4月24日現在

機関番号：7 2 6 1 1

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2 0 1 0～2 0 1 2

課題番号：2 2 7 9 1 4 1 0

研究課題名（和文） 脊髄損傷メカニズム解明のためのfunctional MRIの開発

研究課題名（英文） Development of functional MRI for mechanism of a spinal cord injury

研究代表者

小牧 裕司 (KOMAKI YUJI)

公益財団法人実験動物中央研究所・研究員

研究者番号：10548499

研究成果の概要（和文）：

中枢神経系の移植・再生治療においてallodyniaの発症は解決しなければならない問題のひとつである。functional MRIを用いてallodyniaの脳内活動を計測し、客観的な評価方法を確立した。本手法は、神経因性疼痛に関する中枢神経メカニズムを明らかにすることで、疼痛ケアを含めた新規治療法の開発へ結びつく可能性がある。

研究成果の概要（英文）：

Allodynia is one of the essential problem for treatment with transplantation and reproduction in the central nervous system. In this study, we observed neural activity of allodynia using functional MRI and established a method for objective evaluation. This method contributes to clarification of a mechanism of central nervous system for neuropathic pain and leads to develop a novel treatment approach involving pain care.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学、整形外科学

キーワード：脊椎脊髄病学、functional MRI

1. 研究開始当初の背景

19世紀の初頭にNeuron説を唱えたRamon y Cajalが哺乳類の中枢神経系は一度損傷を受けると二度と再生しないと記載してから、長らくこの通説が信じられてきた。しかし、我々は脊髄再生プロジェクトの前臨床研究において、脊髄損傷モデル動物の運動機能回復を報告しており、ES、iPS細胞を用いた神経幹/前駆細胞移植による有効な治療法を見出している (Iwanami et al., J Neuros Res 2005, Tsuji O, et al., PNAS 2010, Nori S, et al., PNAS 2011)。

その一方で、脊髄損傷の再生治療過程で生じてしまうallodynia（通常では痛みを引き起こさない刺激によって生じる痛みと定義される）は、実際の治療において患者のQOLを著しく低下させる可能性がある (Hofstetter CP, Olson L, et al. Nature Neuroscience 2005)。そこで、再生医療の実現化のためには、allodyniaのメカニズム解明と治療法の開発が急務である。

2. 研究の目的

本申請の目的は、脊髄再生プロジェクトにおける新たな画像診断ツールを確立することであった。中枢神経系の再生治療は、脊髄損傷に対する運動機能回復など基礎医学の段階では有用性が報告されている。しかし、ヒトの治療に役立てるためには、解決しなければならない問題がいくつかあり、異常な痛みの反応であるallodyniaの発症はそのひとつである。

客観的な痛みの評価を行うためには、器質的評価だけでなく機能的評価が重要である。そこで、前臨床研究における脳機能計測法の確立を行った。

3. 研究の方法

(1) マウス脳機能計測法の確立

はじめに、C57BL/6Jマウスに対して、標準脳の作成、functional MRI撮像法の最適パラメータの推定を行った。その後、前肢および後肢のA β 線維へ電気刺激を行い、functional MRIを計測した。

(2) 末梢神経選択的刺激による脳活動の計測

2000Hzの刺激ではA β 線維のみを、250Hzの刺激ではA β 線維とA δ 線維を、5Hzの刺激ではA δ 線維とC線維を選択的に発火させることができる。本手法を利用し、各周波数における、functional MRIの計測を行った。

4. 研究成果

(1) マウス脳機能計測法の確立

標準脳の作成、functional MRI撮像法の最適パラメータの推定を行った(図1)。最適パラメータは、TE:20ms、TR: 1000ms、flip angle: 55°であった。

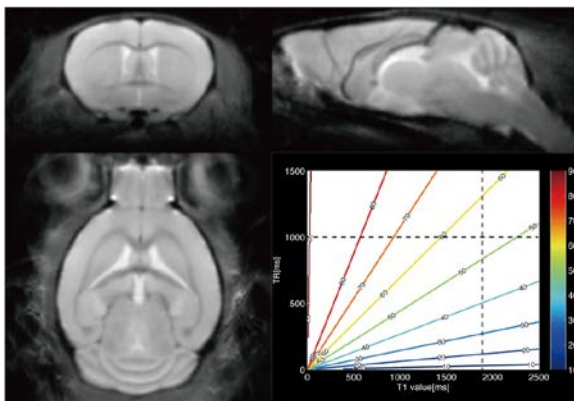


図1 標準脳と最適パラメータの推定

functional MRI計測の結果を、前肢刺激をマゼンタ、後肢刺激をシアンとし、有意水準 $P < 0.001$ で示したところ、対側の一次感覚野において有意な賦活を観察した(図2 A, B)。最も有意であったボクセルは、前肢においてT値13.13、後肢においてT値 10.48であった。最も有意であったボクセルを中心とした半径3ピクセルの球をROIとして信号値を計測した。前肢、後肢ともに刺激に相関して信号値の上昇をみとめた(図2 C)。信号の変化率は、前肢1.1%、後肢0.9%であった。

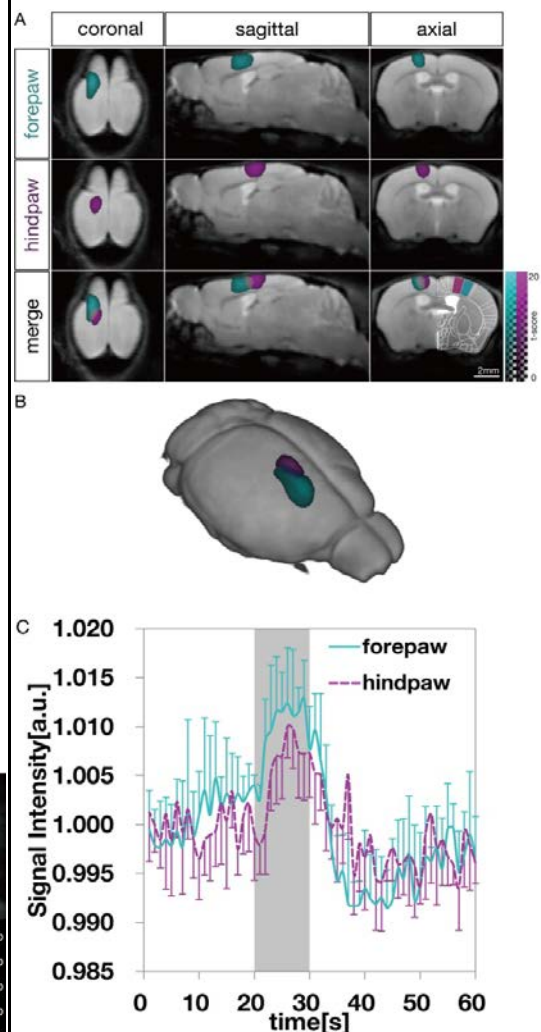


図2 前肢、後肢刺激時の脳機能活動

(2) 末梢神経選択的刺激による脳活動の計測

2000Hz (A β 線維: 触圧覚)の刺激では、対側の一次感覚野(S1)にのみ賦活を認めた(図3 緑)。250Hz (A δ 線維: 一次疼痛)の刺激では、対側の一次感覚野、視床、痛みに関する領域である帯状回皮質(ACC)に賦活を認めた(図3 青)。さらに、5Hz (C線維: 二次疼痛や温冷覚)の刺激では、S1、視床、ACCに有意な賦活を認めた(図3 赤)。

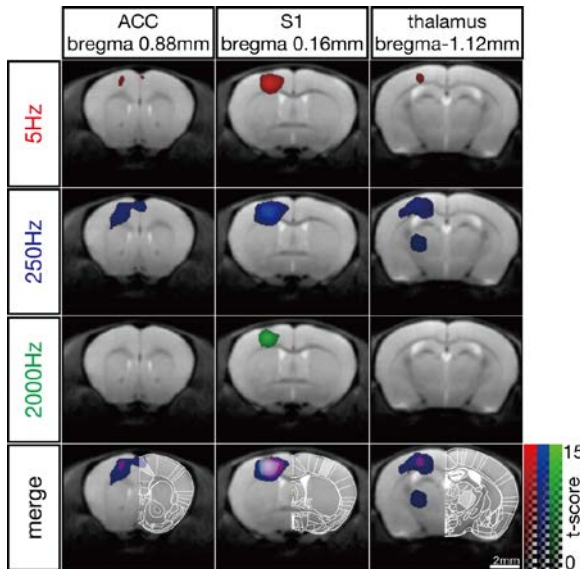


図3 末梢神経選択的刺激による脳活動

得られた成果の 国内外における位置づけとインパクト

マウスはヒトと比較して1/4000~1/5000の脳容積であり、従来のMRIで脳機能を計測するためには、十分な信号強度が得られず、これまで非常に困難とされてきた。本成果により、安定したfunctional MRIの計測が可能となった。

さらに、感覚応答に対するfunctional MRIの刺激周波数は3Hzで行われてきた。しかしながら、我々は行動評価の知見や脊髄再生プロジェクトの経験から、ある周波数の刺激を与える事で末梢神経の選択的な発火が可能であることを把握し、マウスのfunctional MRIに応用することで脳内の活動を観察した。

今後の展望

我々の研究目的は、allodyniaという病態を定量かつ非侵襲的に可視化解析し、再生医療の実現化を強力に推進することである。

そのためにまず、allodyniaモデルとして確立されたマウスのfunctional MRI、電気生理、および行動評価を行い、有用性を検証する。

allodyniaモデルとしては、既に確立されたモデルである、脊髄神経部分切結紮モデル、遺伝子改変モデルを用い、allodyniaの脳機能解析を行った後に、脊髄損傷・治療モデルの解析を行い、治療効果を評価する。

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)

[学会発表] (計4件)

① Komaki Y, Hikishima K, Konomi T, Shibata S, Yamada M, Miyasaka N, Fujiyoshi K, Yagi K, Tamaoki N, Nakamura M, Okano J H, Okano H.: functional MRI with specific frequency stimulations in mice. ESMRMB 2012 Congress, 2012. 10. 4-8, Lisbon, Portugal.

② 小牧裕司, 疋島啓吾, 許斐恒彦, 芝田晋介, 山田雅之, 宮坂尚幸, 藤吉兼浩, 八木一夫, 玉置憲一, 百島祐貴, 中村雅也, 岡野J洋尚, 岡野栄之.: マウス脳機能MRIの確立によるMsi2欠損系統のAllodynia解析. 第40回日本磁気共鳴医学会大会, 2012年9月6日~2012年9月8日, 京都

③ Komaki Y, Hikishima K, Konomi T, Shibata S, Yamada M, Miyasaka N, Fujiyoshi K, Yagi K, Tamaoki N, Nakamura M, Okano J H, Okano H.: functional MRI with specific frequency stimulations in allodynia model mice. APRU-BMAP2012/FIRST2012 Symposia, 2012. 8. 29-31, Tokyo, Japan.

④ 小牧裕司, 疋島啓吾, 許斐恒彦, 山田雅之, 宮坂尚幸, 八木一夫, 玉置憲一, 中村雅也, 岡野栄之. 慢性疼痛モデルマウスにおける神経線維選択的刺激を用いた痛みの可視化解析. 第39回日本磁気共鳴医学会大会, 2011年9月29日~2011年10月1日, 北九州

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小牧 裕司 (KOMAKI YUJI)

公益財団法人実験動物中央研究所・研究員

研究者番号： 1 0 5 4 8 4 9 9

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：