

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 21 日現在

機関番号：10107

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23700625

研究課題名(和文)ラット脊髄損傷モデルにおける運動負荷の効果メカニズム検討

研究課題名(英文)Efficacy of body-weight supported treadmill exercise after spinal cord injury

研究代表者

向野 雅彦 (MUKAINO, Masahiko)

旭川医科大学・医学部・助教

研究者番号：30424170

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円、(間接経費) 750,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、脊髄損傷および運動負荷によって神経の可塑性にどのような変化が生じるのか、またそれをコントロールするメカニズムを検討することを目的として行った。脊髄損傷後の訓練後の機能回復期(早期群)とプラトーに達した期間(遅延群)に同じ期間訓練を行い、訓練量も測定して両者の比較を行った。実験の結果、同じ期間同じ量の訓練を負荷したにも関わらず、早期訓練群でのみトレッドミル上の下肢軌道の大きさ、軌道のスムーズさに改善が得られた。また、興奮性シナプスと抑制性シナプスのバランスに差がみられ、局所のシナプスネットワークの変化が重要である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we compare the functional effects of early and delayed intervention of treadmill training after spinal cord injury, and conduct a histological examination of the spinal cord. The spinal cord injured rats were assigned to one of the following conditions: control, early training, and delayed training. A significant increase in step height and step length was observed in the early-training group, while the delayed-training group showed no significant improvement. Although there was a significant correlation between the quantity of training and the effect of the training, the functional improvement in the early-training group was independent of the amount of training. The additional histological examination revealed the changes in the expression of neurotransmitters, which possibly contribute to the positive effect of early intervention of training.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：リハビリテーション科学・福祉工学

キーワード：神経可塑性 運動訓練の効果 脊髄損傷 リハビリテーション

1. 研究開始当初の背景

脊髄損傷において、臨床的、あるいは基礎的な研究の成果から運動訓練の有効性が示されており、訓練の効果については、発症から訓練開始までの期間が短い方が機能改善よりよいことが複数の症例対照研究で指摘されていた (Sumida et al 2001, Scivoletto et al 2005)。一方、中枢神経障害に対する訓練の効果は訓練量依存的事であることも指摘されており (de Leon 2011, Sonoda 2004)、早期の介入では訓練量も増えるため、臨床においては早期介入が訓練量とは独立して予後の改善因子となるかどうかについては議論の余地があった。また、訓練によって中枢神経内に起こる変化には不明な点が多く、組織学的な検討を行うことはメカニズムの検討の上で有用であると考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、早期の訓練は訓練量と独立して予後の改善要因であるかどうかを検討するため、脊髄損傷後の訓練後の機能回復期 (早期群) とプラトーに達した期間 (遅延群) に同じ期間訓練を行い、訓練量も測定して両者の比較を行った。また、訓練によって腰髄内に先行論文によって指摘されているような input の増加 (Goldshmit 2008) あるいはシナプスネットワークの特性の変化が (Tillakaratne 2002, Ilha 2011) みられるかどうかについて組織学的検討も行った。

3. 研究の方法

使用した動物

12週齢のSDラット (メス) 30匹を用いた。ラット Th10の椎弓切除を行い、IHインパクト (200kD) を用いて圧座損傷を作製した。損傷後1週間で機能評価を行い、BBBscoreで7点以上の動物は除外し、早期群、遅延群、

コントロールの3群に振り分けた。訓練はロボメディカ社製の体重支持トレッドミル装置を用いて行った。速度は3-6cm/sでラットの自発的な歩行パターンを促し、一日15分週7日連日訓練を施行した。

評価の方法

訓練時は常にトレッドミル上でラットの後肢にハーネスを装着し、二次元的な運動軌道をコンピューター上でモニターした。一週間ごとにトレッドミル上での評価を行い、1分間の評価時間におけるステップ毎の軌道の最大の高さ、幅を測定して比較に用いた。また、訓練期間中のトータルのステップ数も測定し、評価に用いた。

組織評価

ラットを還流固定し、腰髄膨大部を切離、包埋し凍結切片を作製した。免疫組織学的検討のため、以下の抗体を使用した: goat 5-HT (Immunostar), mouse anti GAD67 (chemicon), mouse anti VGLUT2 (chemicon), mouse synaptophysin。定量的評価には ImageJ を用い、染色面積の定量を行った。

4. 研究成果

まず、訓練の結果、トレッドミル上での後肢の軌道を比較すると、早期群においては損傷後3週以降、コントロールに比較して有意にステップの高さ、幅が大きくなる傾向が得られた。この傾向は訓練終了後も持続し、損傷6週後まで持続していた。一方、遅延群ではコントロールに比較して有意な変化は観察されなかった。

この早期群における改善への訓練量の影響を検討するため、二群間のトータルの訓練量を比較した。すると、遅延群でバラつき

が大きかったが、平均に二群間で有意な差は認めなかった。訓練量の多い方が最終的な機能がよいという傾向は早期群、遅延群の両方で認められた。

腰髄の組織観察を行うと、5HT の染色面積の定量比較では、早期群、遅延群ともコントロールとの有意な差を認めなかった。一方、局所のネットワークの変化として、早期群にのみシナプス量のわずかだが有意な減少、GAD67の染色面積の有意な減少とVGLUT2の有意な増加とを認めた。(あとはGAD65,VGLUT1, Glycine)

これまでの報告と同様、トレッドミル上での体重支持下トレッドミル訓練は下肢機能の改善をもたらすことが示されたが、その効果は早期群のみに観察された。また過去の報告 (de Leon 2011) において訓練量が機能改善と相関することが報告されているため訓練量の測定も行ったが、二つのグループの訓練量には差がなく、訓練量と独立して訓練の施行時期が機能改善に寄与することが明らかとなった。先行論文では損傷後慢性期の訓練が有効であることを示しているものもあるが (Fisher and Peduzzi 2007, Heng and De Leon 2009, Engesser-Cesar 2007) いずれも8週間以上の長期にわたって訓練を行っており、今回の実験において後期群に改善がみられなかったことは訓練時間の短さに起因している可能性がある。いずれにしても、この結果からは早期の訓練が後期の訓練よりも効果の上でより優位であることが明らかとなった。

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 0件)

[学会発表](計 3件)

向野雅彦、歩行訓練と脊髄内の構造変化、第42回日本臨床神経生理学会、2012年11月、東京

M. MUKAINO, O. TSUJI, K. FUJIYOSHI, T. OTA, M. LIU, Y. TOYAMA, H. OKANO, M. NAKAMURA
The benefits of early intervention of training for functional recovery after spinal cord injury, 2012 Oct. Neuroscience 2012, New Orleans

向野 雅彦、再生医学と理学療法の展望、第47回日本理学療法学会大会、2012年5月、神戸

[図書](計 0件)

[産業財産権]
出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究代表者

向野 雅彦 (MUKAINO, Masahiko)

旭川医科大学・医学部・助教

研究者番号：30424170