

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 29 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791498

研究課題名(和文) 脊髄前角細胞の機能維持に注目した脊髄損傷治療法の開発

研究課題名(英文) New therapy for spinal cord injury focused on spinal anterior horn cell

研究代表者

石原 正浩 (Ishihara, Masahiro)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・研究員

研究者番号：00533803

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：脊髄損傷後、損傷尾部の運動麻痺に伴う筋肉が廃用萎縮すること、また、脊髄運動神経が変性することが報告されている。脊髄前角細胞の細胞死・変性について調べるために、脊髄およびヒラメ筋における神経栄養因子の分泌量を測定すると、GDNFの低下を認めた。廃用萎縮に伴い筋組織からのGDNFの減少が脊髄前角の変性・細胞死に関与していると推測し、GDNFを損傷筋に注入することにより脊髄前角の細胞死・変性を改善できることを見出した。

研究成果の概要(英文)：Spinal cord injury is often followed by disuse muscle atrophy. The effect of disuse muscle atrophy on motor neurons below the level of spinal cord lesions is not fully understood. Alpha-motor neurons in L4/5 at 3 weeks postinjury showed signs of degeneration associated with disuse muscle atrophy. Muscle atrophy alone did not produce a significant alpha-motor neuronal degeneration. Our results demonstrated GDNF was responsible for alpha-motor neuronal degeneration with disuse muscle atrophy and GDNF injection in muscle could prevent alpha-motor neuronal degeneration.

研究分野：外科系臨床医学

科研費の分科・細目：脳神経外科学

キーワード：脊髄損傷 廃用萎縮 脊髄前角神経

### 1. 研究開始当初の背景

外傷などによる脊髄損傷での運動障害は終生続き、QOL は大きく損なわれる。現在わが国には約 10 万人の脊髄損傷患者があり、毎年 5000 人以上の新規受傷者がいるといわれている。損傷時の急性期・亜急性期治療法が有効でない現状から、そのほとんどは慢性期患者であり、長期にわたる医療・介護面の本人・家族および社会的負担は大きい。近年、種々の細胞や薬剤による神経再生の研究が進んでいる。神経前駆細胞 (Neural Progenitor Cell: NPC) の移植では、損傷部位を超えた神経回路の再形成が認められるが、運動機能の改善はあくまで亜急性期までの移植に限られ、慢性期ではほぼ改善しない (1)。すなわち、慢性期においては、単に脊髄神経回路を再構築させるだけでは、機能回復に充分ではないと考えられる。脊髄損傷では、損傷部周囲のみならず、下位運動神経である脊髄前角細胞も変性・細胞死を起こすことが知られている。

### 2. 研究の目的

慢性期脊髄損傷において、下位運動神経回路が維持された系で、上位運動神経の再構築 (損傷部を超えた神経回路の再形成) を行えば、下肢運動機能回復の効率的な回復が期待されると考えた。

### 3. 研究の方法

脊髄損傷後、損傷尾部の運動麻痺に伴う、筋肉が廃用萎縮すること、また、脊髄運動神経が変性することが報告されている。当グループでは、廃用萎縮と脊髄運動神経の関連性を調べるために Th7/8 脊髄挫滅モデルラットを作成し、非損傷群、非損傷 + 下肢固定群、損傷群、損傷 + 下肢固定群の 4 群を作成し、筋萎縮に伴い脊髄運動神経の L5 における脊髄前角の数と形態について測定した。損傷 3 週間後における運動神経数は、非損傷群:  $11.0 \pm 1.42$ 、非損傷 + 下肢固定群:  $12.1 \pm 0.74$ 、脊髄損傷群:  $8.12 \pm 1.59$ 、損傷 + 固定群:  $3.97 \pm 0.26$  であった。非損傷群および非損傷 + 下肢固定群間には運動神経の数に変化はなかったが、損傷群については有意に低下しており、損傷 + 下肢固定群においては、損傷群と比べても有意に低下していた。(図 1 参照)

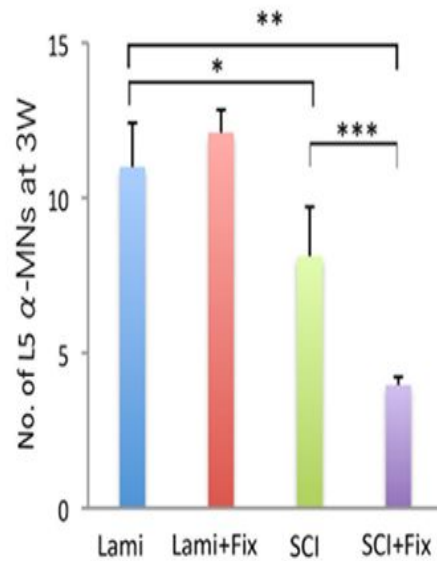
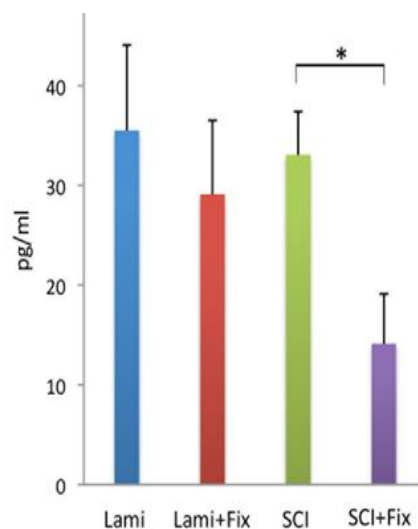


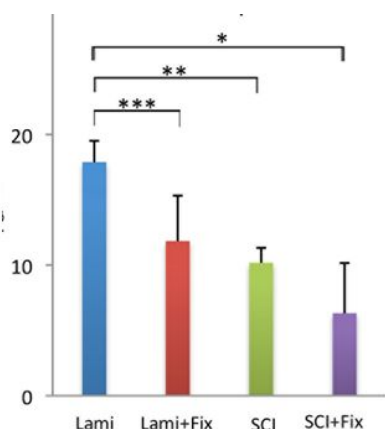
図 1 脊髄損傷 3 週間後における L5 における運動神経数

また、損傷群においては脊髄前角細胞の形態も変性していた。脊髄前角細胞の細胞死・変性について調べるために、脊髄およびヒラメ筋における神経栄養因子の分泌量を測定すると、GDNF において、脊髄損傷および下肢固定に伴い、ヒラメ筋での GDNF の産生が有意に低下すること (図 3) それに伴い、損傷 + 下肢固定群においてのみ脊髄 L4/5 における GDNF の含有量が有意に低下することを見出した。(図 2)



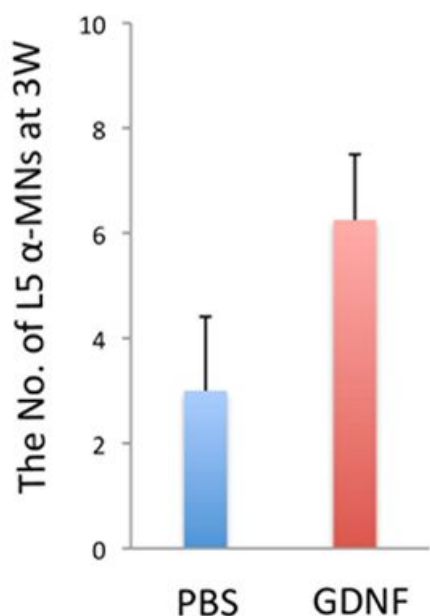
(図 2) 脊髄損傷 3 週間後における L4/5 脊髄

における GDNF の含有量



(図3) 脊髄損傷3周後におけるヒラメ筋中の GDNF 含有量

損傷 + 下肢固定したラットのヒラメ筋に PBS を筋肉注射した群と GDNF を注入した群を作成すると GDNF 群において有意に L5 脊髄運動神経の減少を抑えられた。(図4)



(図4) 脊髄損傷 + 下肢固定群のヒラメ筋に対して PBS および GDNF を投与した際の L5 における 運動神経数の変化

4. 研究成果

これらのことから、廃用萎縮に伴い筋組織からの GDNF の減少が脊髄前角の変性・細胞死に参与していると推測し、GDNF を損傷筋に注入することに損傷 + 下肢固定群において脊髄前角の細胞死・変性を改善できることを見出した。

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 5 件)

Ishihara M, Mochizuki-Oda N, Iwatsuki K, Kishima H, Ohnishi YI, Moriwaki T, Umegaki M, Yoshimine T.

Primary olfactory mucosal cells promote axonal outgrowth in a three-dimensional assay. J Neurosci Res. 2014 Feb 14

Ohnishi YI, Iwatsuki K, Shinzawa K, Ishihara M, Moriwaki T, Umegaki M, Kishima H, Yoshimine T.

Adult olfactory sphere cells are a source of oligodendrocyte and Schwann cell progenitors. Stem Cell Research 2013 Aug 15;11(3):1178-1190.

Iwatsuki K, Yoshimine T, Sankai Y, Tajima F, Ishihara M et al

Involuntary muscle spasm expressed as motor evoked potential after olfactory mucosa autograft in patients with chronic spinal cord injury and complete paraplegia Journal of Biomedical Science and Engineering (6)9 Sep2013

Iwatsuki K, Yoshimine T, Sankai Y, Umegaki M, Ohnishi YI, Ishihara M, Moriwaki T, Oda N,

Transplantation of Olfactory Mucosa as a Scaffold for Axonal Regeneration Following Spinal Cord Contusion in Rats Neuroscience & Medicine 2013 Jun;4(2)

Ohnishi Y, Iwatsuki K, Shinzawa K, Nakai Y, Ishihara M, Yoshimine T.

Disuse muscle atrophy exacerbates motor neuronal degeneration caudal to the site of spinal cord injury. Neuroreport. 2012 Feb 15;23(3):157-61.

〔学会発表〕(計 2 件)

1) 大西論一郎 岩月幸一、新沢康英、石原正浩、吉峰俊樹

廃用性萎縮は脊髄損傷尾側での運動神経ニューロン変性を増悪させる。

第27回 日本脊髄外科学会 2012年6月21日 浦安

2) 石原 正浩

脊髄損傷に対する嗅粘膜移植術

第71回日本脳神経外科学会 2012年10月17日

〔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

石原 正浩 (ISHIHARA MASAHIRO)

大阪大学・医学系研究科・特任研究員

研究者番号: 00533803

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号:

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号: