

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：13701

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21780284

研究課題名（和文） ロコモータートレーニングによる犬脊髄損傷の新規治療法の開発

研究課題名（英文） Development of new therapy for spinal cord injury in dogs using locomotor training

研究代表者

神志那 弘明 (Kamishina Hiroaki)

岐阜大学・応用生物科学部・准教授

研究者番号：50506847

研究成果の概要（和文）：本研究では、脊髄損傷犬に対する歩行トレーニングを利用した新規治療法の開発を目的とし、ラットモデルおよび脊髄損傷症例犬を使用して実験を行った。ロコモータートレーニング (LT) カートを装着した脊髄損傷ラットの麻痺肢の機能は有意に改善した。脊髄損傷犬に対する LT の有効性は確認されたが、LT カートを使用した治療にはカートの可動性や軽量化などの改良の必要性が明らかになった。

研究成果の概要（英文）：This research was conducted to develop new therapy for spinal cord injury (SCI) by locomotor training (LT), using a rat model and canine clinical cases of SCI. Paralyzed rats trained with a LT cart improved hindlimb function compared with control and conventional cart groups. Paralyzed dogs improved with over-ground LT, but the efficacy was not confirmed with a LT cart. Further modification of the LT cart is underway.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学・臨床獣医学

キーワード：治療

1. 研究開始当初の背景

犬の脊髄損傷は椎間板ヘルニアや交通事故など外傷性に生じ、臨床現場で日常的に遭遇する疾患である。重症例では予後は悪く、生涯にわたり四肢麻痺または対麻痺となり、動物の QOL は著しく低下する。このような症例に対しては、人の脊髄損傷患者と同様に有効な治療法は存在しない。近年、脊髄損傷に対する再生医療への取り組みは世界的に盛んであり、損傷した神経のネットワークを

機能的に再構築するのが目的である。しかし、損傷した中枢神経組織ではグリア細胞により多種の軸索再生阻害因子が発現し、中枢神経の再生を妨げる大きな障壁となっている。また幹細胞使用に関連する倫理的障壁も存在する。そこで脊髄損傷患者に対する新しいリハビリテーションとして「ロコモータートレーニング」が注目を浴びている。損傷した脊髄を再生させるのではなく、損傷部より尾側の生き残った神経回路をトレーニングすることにより、再び歩行を可能にするという

新しい治療方法である。この治療が標的としているのは、脊髄に潜在的に備わっており、歩行の運動パターンを自律的に生み出していると考えられている中枢パターン発生器 (CPG) である。CPG の存在は、ヒルなどの無脊椎動物を使った研究により古くから知られていたが、その後の猫を使った実験により脊椎動物の脊髄にも CPG が存在することが明らかとなった。脊髄損傷後に歩行トレーニングを行うことにより、CPG を賦活化し、脳および脳幹部のコントロールなしでも歩行ができることが判明し、不可逆的な神経損傷が生じた重度脊髄損傷症例に対する新しい治療法として期待されている。現在では、このトレーニングは免荷式トレッドミル歩行トレーニングと呼ばれ、人の脊髄損傷、脳梗塞、脳性麻痺の患者のリハビリテーションとして注目を浴びている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、脊髄損傷により両後肢が麻痺した犬に対し、ロコモータートレーニングを行い、その効果を示すことである。免荷式トレッドミル歩行トレーニングを犬に対して行う場合、専用装置であるトレッドミルと麻痺した両足の動きを補助する助手が必要である上、トレーニングは集中的に実施する必要があるため、全ての症例に実施するのは不可能である。そこで脊髄歩行回路をトレーニングするロコモータートレーニングカート (車イス) の開発を目指している。

3. 研究の方法

本研究では、2つのタイプのロコモータートレーニング、すなわち免荷式トレッドミル歩行トレーニングとLTカートによるトレーニングを犬脊髄損傷症例に実施し、後肢負重筋に対する効果を評価した。また、後肢負重筋のより詳細な解析を行うためラット脊髄損傷モデルを用いた実験も行った。

(1) 犬の脊髄損傷症例に対する免荷式トレッドミル歩行トレーニングの効果：重度脊髄損傷犬に対し、免荷式トレッドミル歩行トレーニングを行い、その効果を判定した。

- ① 症例：急性椎間板突出により後肢麻痺を示す犬脊髄損傷症例の後肢運動機能をOlbyらの方法によりスコア化し、スコア0または1 (完全麻痺症例および随意運動はないが深部疼痛のある不全麻痺症例) の症例を2群に分けた (コントロール群とトレーニング群、それぞれ6症例ずつ)。診断、内科的治療 (副腎皮質ホ

ルモン、鎮痛剤等)、外科的治療 (減圧手術) はすべての症例において、常法通り行った。

- ② 免荷式トレッドミル歩行トレーニング：トレーニング群では、術後1週間より免荷式トレッドミル歩行トレーニングを1日2回、週5日間、0.8km/hで1回20分間、合計4週間実施した。コントロール群では、本大学の脊髄減圧手術後のリハビリテーションプロトコール (1日2回15分間の両後肢の屈伸運動および後肢筋肉のマッサージ) に基づき、一般的なりハビリテーションを行った。

(2) ラット脊髄損傷モデルにおけるLTカートの効果：ラット脊髄損傷モデルを作製し、LTカートによる歩行訓練を行った。運動機能の改善と血中神経特異的マーカーの変化を評価した。

- ① ラット脊髄損傷モデル：体重250-300gのSprague-Dawleyラットのメスを使用した。脊髄損傷 (挫傷) は、MASCIS Impactor Systemを用いて作製した。
- ② LTカートによるトレーニング：脊髄損傷後、1週間目よりLTカートによるトレーニングを2週間 (1日2回、週5日間、1.1m/h、1回20分間) 実施した。対照群には、無治療群、歩行運動を誘発しないカートを用いたトレーニング群、トレッドミルによるトレーニング群を設け、1群につき10匹のラットを用いた。
- ③ 運動機能の改善：Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) Locomotor Rating Scaleにより後肢運動機能の改善を脊髄損傷前および後 (1週間より2日に一度、3週間目まで) に評価した。
- ④ 脊髄損傷後の軸索損傷のモニタリングとして、神経特異的蛋白である血中ニューロフィラメント濃度をELISA法により経時的に測定した。

(3) 犬の脊髄損傷症例に対するLTカートの効果：重度脊髄損傷犬に対し、LTカートを用いた歩行訓練を行った。訓練後、運動機能の評価を行った。

- ① 症例：急性椎間板突出により後肢麻痺を示す犬 (Olbyらのスコア0または1) を3群にわけた；コントロール群 (術後通常のリハビリテーション)、LTカート群、および通常のカート群。
- ② LTカートによるトレーニング：免荷式トレッドミル歩行トレーニングと同様

に、トレーニング群では、術後1週間よりLTカート群または通常のカートによるトレーニングを1日2回、週5日間、0.8km/hで1回20分間、合計4週間実施する。カートによるトレーニングの質を均一化するため、トレーニングはトレッドミルの上で行った。

- ③ 運動機能の改善：後肢運動機能の回復はOlbyらの方法により治療前および後（術後2週間、4週間、8週間、12週間）スコア化し評価した。

4. 研究成果

- (1) 犬の脊髄損傷症例に対する免荷式トレッドミル歩行トレーニングの効果

重度脊髄損傷犬の8症例（うち4例は免荷式歩行トレーニングを実施）を評価したところ、免荷式歩行トレーニングを行った犬では、通常のリハビリテーションのみを行った犬と比較し、起立までの日数が短縮し、歩行スコアの回復度も優れていた。

- (2) ラット脊髄損傷モデルにおけるLTカートの効果

ラット脊髄損傷モデルにおいて、LTカート装着群の後肢運動機能の回復は無治療群と比べ優れており、BBBスケールは治療後約3日目（損傷後10日）より改善傾向を示した。無治療群では損傷後約12日目より回復傾向を示したが、通常カート群ではカート装着後約8日目（損傷後15日）まで回復を示さず、最終的な回復程度も無治療群よりも低かった。このことより、ラット脊髄損傷モデルにおいて、LTカートの装着は、麻痺後肢筋肉の歩行訓練として効果があることが示唆された。さらに通常カートの使用は、後肢の運動機能回復を遅延させる可能性が示唆された。

無治療群における血中ニューロフィラメント濃度は損傷後4日目をピークに上昇し、その後約2週間かけてベースライン値に減少した。BBBスケールにより評価した後肢運動機能が回復したLTカート装着群における血中ニューロフィラメント濃度は、無治療群と比較し、有意な差は認められなかった。同様に通常カート装着群においても他群との有意差は認められなかった。このことから、LTカート装着群で認められた後肢運動機能の回復は、後肢筋群の強制的な運動に誘発された結果であり、損傷神経線維の修復や再生とは無関係であることが示唆された。また、通常カート装着群において認められた後肢運動機能の低下は、カート装着

による後肢筋群の廃用性萎縮に起因すると考えられた。

- (3) 犬の脊髄損傷症例に対するLTカートの効果

重度脊髄損傷犬において、LTカートを適応した1症例の後肢運動機能は無治療群、通常リハビリ群と比較し、顕著な改善は認められなかった。LTカートの走行性や使用した症例がカート装着に十分に適応しなかったことが一因と考えられ、LTカートのさらなる改良が必要であると思われた。

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1件）

- ① 神志那弘明、リハビリへつなげる「正しい」診断、第32回動物臨床医学会年次大会、2011年11月20日、大阪国際会議場（グランキューブ大阪）

〔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

神志那 弘明 (KAMISHINA HIROAKI)

岐阜大学・応用生物科学部・准教授

研究者番号：50506847

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：