

## 科学研究費補助金研究成果報告書

平成24年6月20日現在

機関番号：82660  
研究種目：若手研究（B）  
研究期間：2009～2010  
課題番号：21791425  
研究課題名（和文）脊髄損傷後の脊髄軸索再生／保護へ向けた包括的戦略  
研究課題名（英文）Strategy for elucidating the mechanism controlling axonal regeneration and achieving enhanced axonal regeneration after spinal cord injury  
研究代表者  
金子 慎二郎（KANEKO SHINJIRO）  
独立行政法人国立病院機構 村山医療センター（臨床研究センター）・整形外科・医長  
研究者番号：10327554

研究成果の概要（和文）：臨床応用を念頭においた新規 drug delivery system による Semaphorin3A 阻害剤投与に適切なリハビリテーションを併用する事で、運動機能の改善の更なる促進効果が認められる事を見出した。組織学的解析から、この相乗効果の背景には、Semaphorin3A 阻害剤投与によって軸索再生が促進され、さらにリハビリテーションの施行によって再生軸索がrewireされる（適切にtargetingされる）事が関与している可能性が高い事が判明した。

研究成果の概要（英文）：In this study, aiming for clinical use, we administered newly-developed potent Semaphorin3A inhibitor, SM-345431 (Vinaxanthone), by a novel and our original drug delivery system using silicone sheet which enables continuous drug delivery during the period of the experiment. Treatment with SM-345431 using this delivery system enhanced axon regeneration with significant but limited hindlimb motor function recovery as reported previously. Although extensive treadmill training with SM-345431 administration did not further improve axon regeneration, hindlimb motor performance was increased, as evidenced by the significant improvement in the execution of plantar steps on a treadmill. Further analyses suggested that this strategy reinforced the wiring of central pattern generators in lumbar spinal circuits, which in turn led to enhanced motor function recovery (especially in extensor muscles).

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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：脊髄損傷、軸索再生、drug delivery system、リハビリテーション

### 1. 研究開始当初の背景

脊髄損傷 (SCI) は四肢麻痺や対麻痺等に至る重篤な外傷であり、その治療法の確立は極めて重要な課題であるにも関わらず、現在まで、SCI の治療として大きな効果を持つ治療法は確立していない。SCI に対する治療としては、脊髄において脳からの信号を伝える伝導路となる軸索を損傷後に再生させる事、及び軸索を損傷から保護する事が臨床的に有意義な効果を発揮する可能性は極めて高い。そこで、切断された軸索の再生に焦点を当てて、我々は研究を行っている。末梢神経系と比べて中枢神経系に於いては軸索の再生が乏しい事は知られて来たが、その理由の一つとして中枢神経系に於いては軸索の再生を阻害する因子が存在する事が指摘されて来た。その中で Semaphorin3A が SCI 後の軸索再生を阻害する分子として重要な役割を果たしている可能性は示唆されて来たが、そのノックアウトマウスの致死性の高さ等から、それを直接的に証明する報告は成されてこなかった。我々は大規模なスクリーニングにより Semaphorin3A に対する阻害活性及び選択性の極めて高い薬剤を開発し、Semaphorin3A の損傷後の脊髄内における役割の解明を試みている。

### 2. 研究の目的

我々はこれまでに、我々が開発した Semaphorin3A 阻害剤の脊髄切断損傷モデル (transection model) に於ける有効性を見出したが、今回さらに我々は、実際の臨床での SCI に近い動物モデルである脊髄の contusion injury モデルに、臨床応用により近い drug delivery system (DDS) として、我々が新しく開発した材質のロッド製剤を用いた徐放化製剤として Semaphorin3A 阻害剤を投与する実験を行った。

### 3. 研究の方法

C57/BL6 マウスを使用し、ロッド製剤投与群 (SM 群) と、control ロッド投与群に関して、以下の実験を行った。Th10 を椎弓切除し、IH impactor を用いて 60kD の設定で SCI contusion model を作製した。L1 を椎弓切除し、硬膜に針先で穴を開けた後、4mm 長のロッド製剤を硬膜下に長軸方向に (尾側から頭側方向へ) 挿入し、損傷部の尾側に留置した。運動機能評価は 6 週間行った。

### 4. 研究成果

運動機能の scoring (BBB scoring) では損傷後 4 週目以降より SM 群でややスコアが高い傾向にあったものの、統計学上、有意な差ではなかった。今回用いた DDS は、薬剤投与方法としては work していると考えられるが、薬剤の dose 等に関しては、これが至適なものであるかどうか、今回の実験から結論を導く事には限界がある。引き続き、実験の至適条件検討等も行いつつ、動物の個体数も増やして実験を継続していく予定である。

また我々は、Semaphorin3A 阻害剤を (別の新たな drug delivery system として) シリコンシート (徐放化製剤) を用いてラット脊髄 total transection モデルに投与した際に、有意な軸索再生の促進と運動機能の改善の促進が認められる事を別の実験系で見出した。さらに本法による Semaphorin3A 阻害剤投与に適切なリハビリテーションを併用する事で、運動機能の改善の更なる促進効果が認められる事も見出した。組織学的解析から、この相乗効果の背景には、Semaphorin3A 阻害剤投与によって軸索再生が促進され、さらにリハビリテーションの施行によって再生軸索が rewire される (適切に targeting される) 事が関与している可能性が高い事が判明した。

従って contusion injury モデルを用いた実験系でも、Semaphorin3A 阻害剤投与に加えてリハビリテーションを併用する実験系を組む事も将来的には検討している。

#### 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)

[雑誌論文] (計 3 件)

1. 金子慎二郎, 戸山芳昭, Zhigang He, 岡野栄之, 中村雅也: “脊髄損傷後の軸索再生制御機構の解明と軸索再生促進へのストラテジー”, Bone Joint Nerve, 査読有, Vol. 3, P. 469-P. 474, 2011

2. Zhou X, Wang L, Hasegawa H, Amin P, Han BX, Kaneko S, He Y, Wang F: Deletion of PIK3C3/Vps34 in sensory neurons causes rapid neurodegeneration by disrupting the endosomal but not the autophagic pathway. Proc Natl Acad Sci U S A, 査読有, Vol. 107: P. 9424-P. 9429, 2010

3. 岡野栄之、辻収彦、三浦恭子、岡田洋平、藤吉兼浩、高木岳彦、金子慎二郎、戸山芳昭、山中伸哉、中村雅也: 中枢神経系と末梢神経系の再生戦略. 末梢神経, 査読有, Vol. 21, P. 145-P. 151, 2010

[学会発表] (計 8 件)

1. 金子慎二郎、町田正文、塩田匡宣、竹光正和、福田健太郎、藤吉兼浩、飯塚慎吾、名越慈人、五十嵐一峰、臼井宏: Neuron軸索障害を伴う疾患に於ける軸索保護へ向けた新たなstrategy-NADレベルを上昇させることによる軸索保護の疾患モデルへの応用-. 第41回日本脊椎脊髄病学会(久留米、2012. 4. 20)

2. 金子慎二郎、町田正文、塩田匡宣、竹光正和、福田健太郎、八木満、藤吉兼浩、飯塚慎吾、名越慈人、五十嵐一峰、臼井宏:

Neuron 軸索障害を伴う疾患に於ける軸索保護へ向けた新たな strategy-NAD レベルを上昇させることによる軸索保護の疾患モデルへの応用-. 第 65 回国立病院総合医学会(岡山、2011. 10. 8)

3. 金子慎二郎、名越慈人、Zhigang He、町田正文、塩田匡宣、竹光正和、福田健太郎、八木満、加藤裕幸、飯塚慎吾、五十嵐一峰、臼井宏: 脊髄損傷時の二次損傷によるNeuron軸索障害に対する新規治療戦略-NADレベルを上昇させる事による軸索保護-. 第10回日本再生医療学会(東京、2011. 3. 2)

4. 金子慎二郎、町田正文、塩田匡宣、竹光正和、福田健太郎、池上健、加藤裕幸、飯塚慎吾、名越慈人、五十嵐一峰、臼井宏、岡野栄之、戸山芳昭、中村雅也: Neuronの軸索障害を伴う疾患における軸索保護へ向けた新たなstrategy-NeuronのNADレベルを維持/上昇させる事による軸索保護. 第64国立病院総合医学会学会(福岡、2010. 11. 26)

5. 金子慎二郎、町田正文、塩田匡宣、竹光正和、福田健太郎、池上健、加藤裕幸、飯塚慎吾、名越慈人、五十嵐一峰、岡野栄之、戸山芳昭、中村雅也: Neuronの軸索障害を伴う疾患における軸索保護へ向けた新たなstrategy-NeuronのNADレベルを維持/上昇させる事による軸索保護-. 第25回日本整形外科学会基礎学術集会(京都、2010. 10. 15)

6. 金子慎二郎、桑子賢一郎、Zhigang He、町田正文、塩田匡宣、竹光正和、福田健太郎、池上健、加藤裕幸、飯塚慎吾、名越慈人、五十嵐一峰、山岸正明、岡野栄之、戸山芳昭、

中村雅也：脊髄損傷後の皮質脊髄路の軸索再生へ向けた新たなstrategy-neuron軸索のintrinsic signalとしてのJak/STAT3 signalの活性化-. 第39回日本脊椎脊髄病学会(高知、2010. 4. 23)

7. 金子慎二郎、Ying Chen、Zhigang He、町田正文、塩田匡宣、竹光正和、福田健太郎、池上健、加藤裕幸、飯塚慎吾、名越慈人、五十嵐一峰、山岸正明、岡野栄之、戸山芳昭、中村雅也：Activin/TGF $\beta$  signalによる脊髄後根神経節neuronの軸索伸長/再生能の制御-target/皮膚に由来するsignalの関与-. 第39回日本脊椎脊髄病学会(高知、2010. 4. 22)

8. 金子慎二郎、Jing Wang、Zhigang He、町田正文、塩田匡宣、竹光正和、福田健太郎、池上健、加藤裕幸、飯塚慎吾、名越慈人、五十嵐一峰、山岸正明、岡野栄之、戸山芳昭、中村雅也：Neuronの軸索障害を伴う疾患に於ける軸索保護へ向けた新たなstrategy-NeuronのNADレベルを維持/上昇させる事による軸索保護-. 第39回日本脊椎脊髄病学会(高知、2010. 4. 22)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

金子 慎二郎 (KANEKO SHINJIRO)  
独立行政法人国立病院機構  
村山医療センター (臨床研究センター)・  
整形外科・医長  
研究者番号：10327554

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：