

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 9 月 7 日現在

機関番号：34441

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K19814

研究課題名(和文) 脊髄損傷の再生医療における自発的運動介入の効果に関する研究

研究課題名(英文) Research on the effects of voluntary exercise intervention in Regenerative Medicine for Spinal Cord Injury

研究代表者

塚越 千尋 (Tsukagoshi, Chihiro)

藍野大学・医療保健学部・講師

研究者番号：20782478

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：再生医療とリハビリテーションの併用により、運動機能が回復することの根拠を明らかにするために、胸髄損傷モデル作製後、ラットをトレッドミル群、遊園地群、対照群に分け、比較検討した。Basso-Beattie-Bresnahan scoresを術後2～8週にわたって追跡した結果、2種類の運動介入群ともに対照群よりも行動が回復した。また、神経細胞マーカー α -Tubulinと、再生軸索マーカーGAP43の分布を比較した結果、2種類の運動介入群ともに対照群よりも損傷部のGAP43の分布が多かった。今後はGAP43の分布密度や神経栄養因子シグナル発現、脊髄伝導性を含めリハビリテーションの効果を検証する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

再生医療とリハビリテーションの併用は、永続的に後遺症に苦しむ脊髄損傷患者にとってたいへん期待されており、また、リハビリテーション職種にとって新しいリハビリテーション手法を開発していくうえで、研究成果を発信していくことはたいへん意義がある。本研究は、脊髄損傷モデルラットに対して、自発的運動と強制的運動という2種類の運動介入を行い、対照群と比べて、どちらも一定の効果がある可能性を示唆した点で新しい。今後、細胞移植や液性因子を介した脊髄再生治療を試み、その効果を増強する運動介入を行い、詳細な運動機能評価および免疫組織学的評価、有効因子など総合的に検証したい。

研究成果の概要(英文)：To investigate the evidence for the recovery of motor function by combining regenerative medicine and rehabilitation, we divided thoracic spinal cord injury model rats into a treadmill group, a theme park group, and a control group and compared. As a result, BBB scores were better than in both exercise groups than in the control group. In addition, comparing the distribution of the α -Tubulin and GAP43, the distribution of GAP43 in the injured parts were larger in the both exercise groups than in the control group. Now we are searching for rehabilitative training that enhances the effect of spinal cord regeneration treatment and intend to further verify its effect.

研究分野：リハビリテーション

キーワード：脊髄損傷モデル動物 リハビリテーション 再生医療

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

再生医療とリハビリテーションの併用は、永続的に後遺症に苦しむ脊髄損傷患者にとってたいへん期待されており、また、リハビリテーション職種にとって新しいリハビリテーション手法を開発していくうえで、研究成果を発信していくことはたいへん意義がある。再生医療の臨床応用が期待される今、より安全で効果の高い治療方法の検討が必要である。申請者らの方法による脊髄損傷の再生医療は、ES 細胞や iPS 細胞に比べて安全性が高く臨床への応用が進めやすく、さらに生体が本来持っている自己再生能力のメカニズムを解明し、それを増強するという新しい脊髄損傷の治療法の提案を試みている。その効果をさらに高めるための運動介入手法の開発は、再生医療の併用療法としてリハ分野に課せられた非常に重要なテーマである。

2. 研究の目的

細胞が分泌する液性因子を介した神経再生治療の効果をより高める運動介入手法の探索を目的に、脊髄損傷モデルラットに対して、自発的運動と強制的運動という2種類の運動介入を行い、対照群と比較してどちらが効果が大きいかを検討する。

3. 研究の方法

自発的運動介入を実施できる、後肢不全対麻痺の状態の脊髄損傷モデルラットを作製した。頸椎 8-9 番に、インパクトを用いて高さ 5cm から挫滅損傷を与えた。次に、ラットの自発歩行を促すような刺激の豊富な環境を設計し、一日の一定時間その環境に脊髄損傷ラットを置く条件と、それと同じ時間受動的運動を行う条件を比較し、行動機能改善に違いがあるかを調査した(図1)。行動面は、機能回復 Basso-Beattie-Bresnahan scores (BBB) スコア：参考文献；Basso, D.M. et al. (1995) J. Neurotrauma 12, 1-21 に従い観察した。形態学的観察は、軸索マーカー(β-Tubulin)、再生軸索マーカー(GAP-43)、グリア細胞マーカー(GFAP)で免疫組織化学的に解析した。

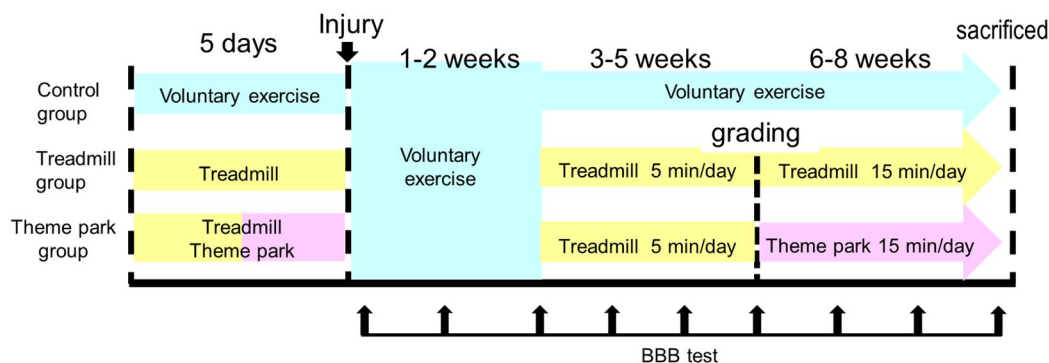


図1. リハビリテーション介入の手順

対照群：運動介入なし

トレッドミル群：損傷前、損傷後 3-5 週は 5 分、損傷後 6-8 週は 15 分トレッドミル歩行

自発運動群：損傷前、損傷後 3-5 週は 5 分トレッドミル歩行、損傷前、損傷後 6-8 週は 15 分遊具のある環境で自発運動

4. 研究成果

再生医療とリハビリテーションの併用により、運動機能が回復することの根拠を明らかにするために、胸髄損傷モデル作製後、ラットをトレッドミル群、自発運動群、対照群に分け、比較検討した。行動学的側面では、BBB を術後 2~8 週にわたって追跡した結果、2 種類の運動群では機能回復が促進された(図2)。

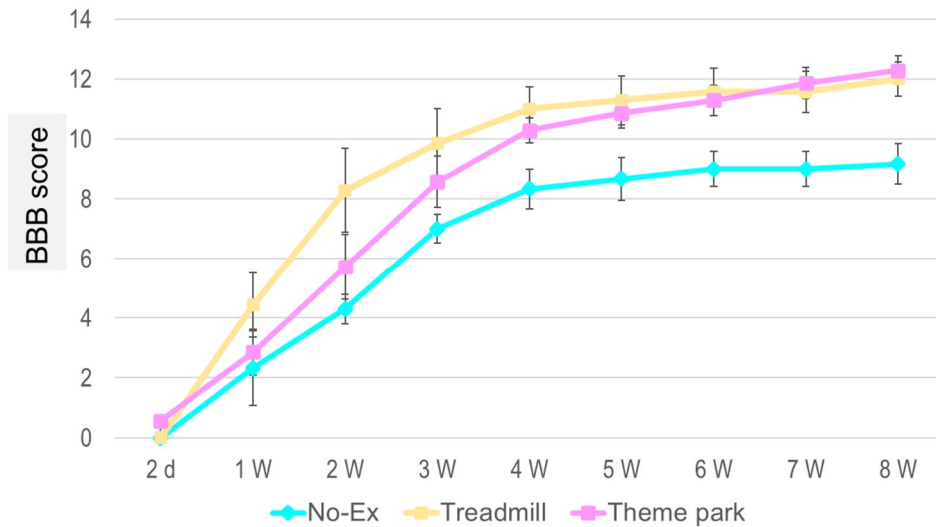


図 2. 行動面における運動介入の効果

免疫組織学的な側面では、神経細胞マーカー β -Tubulin と、再生軸索マーカーGAP43 の分布を比較した結果、2 種類の運動介入群ともに対照群よりも損傷部の再生軸索の延伸が目立った。(図 3)

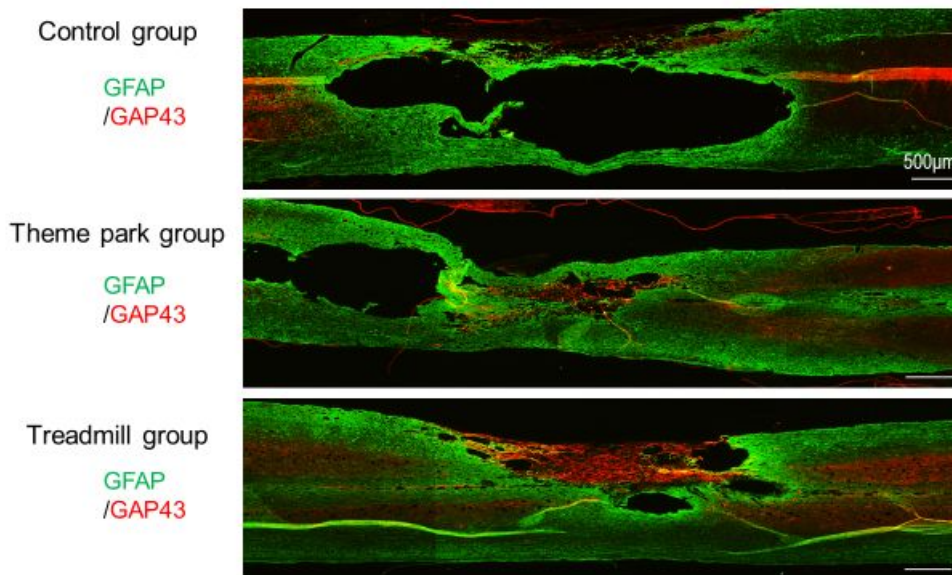


図 3. 損傷部における再生軸索の分布

(上: 対照群、中: トレッドミル群、下: 自発運動群。緑はアストログリア、赤は再生軸索陽性細胞)

今後の展開としては、運動介入について構造化された手順を構築する。キャビティが大きい為、今回は損傷部の神経密度は測定しなかったが、今後は測定も検討する。今後は、損傷部の GAP43 の分布密度測定、正常歩行パターンからの逸脱、運動野誘発電位 (motor evoked potentials, MEP) の測定も含め、運動機能回復と遺伝子・分子の変動の関連などを調査する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Kenji Kanekiyo, Taji Mizuki, Norihiko Nakano, Chihiro Tsukagoshi, Chimi Miyamoto, Seiya Abe, Chizuka Ide
2. 発表標題 Migration and differentiation of central canal ependymal cells in the rat spinal cord following contusion injury.
3. 学会等名 The 43rd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 兼清健志, 中野法彦, 塚越千尋, 宮本陳敏, 安部征哉, 井出千束
2. 発表標題 ラット終系の中心管上衣細胞の特徴と脊髄損傷治療への利用
3. 学会等名 第19回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kenji Kanekiyo, Norihiko Nakano, Chihiro Tsukagoshi, Chimi Miyamoto, Seiya Abe, Chizuka Ide
2. 発表標題 Characteristics of the ependymal cells in the filum terminale and its therapeutic potential for spinal cord injury
3. 学会等名 The 42nd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 兼清健志, 中野法彦, 塚越千尋, 宮本陳敏, 安部征哉, 井出千束
2. 発表標題 脊髄損傷治療へ向けた終系の中心管上衣細胞の解析
3. 学会等名 第92回日本生化学学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Chihiro Tsukagoshi, Kenji Kanekiyo, Norihiko Nakano, Seiya Abe, Miki Hayashibe, Chizuka Ide
2. 発表標題 Effects of rehabilitative training on locomotor recovery and cellular reorganization in a rat spinal cord contusion model - comparison between forced and spontaneous running -
3. 学会等名 The 45th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関