

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K11209

研究課題名(和文) 神経系細胞の増殖を活性化させるための磁気の制御方法、及び脳・運動機能再建システム

研究課題名(英文) Methods of controlling magnetism to activate the growth of nervous system cells and systems for reconstructing brain and motor functions

研究代表者

藤木 稔 (Fujiki, Minoru)

大分大学・医学部・教授

研究者番号：90231563

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者の『皮質脊髄路再生の特許技術』が有効・安全たるかの検証を行った。既報基礎研究の組み合わせの運動機能回復に最適な条件を網羅的に検証し、今後本技術の可能性を総括した。研究協力者StewardはPTEN deletionが脊髄損傷後皮質脊髄路再生(J. Neurosci. 2014, NatNeurosci. 2010)を、研究代表者の2特許(特開2012-187149;)および(特許第7189594;)実用化が生んだ新たな特許(特許第7201986; 神経系細胞の増殖を活性化させるための磁気の制御方法、及び脳・運動機能再建システム)試作機はこれと相同効果を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新たな特許第7201986; による診断機器としての有用性(倫理委員会審査_protocol number: 265)は健常人並びに一部の脳卒中後片麻痺・嚥下障害を有する患者さんにおいて安全に施行できることが確認された。

研究成果の概要(英文)：The primary investigator's "Patented Technology for Corticospinal Tract Regeneration" was verified to be effective and safe. The study also comprehensively verified the optimal conditions for recovery of motor function by combining the previously published basic research and rehabilitation methods developed in clinical practice, and summarized the potential of this technology in the future. Study collaborator Steward reported that PTEN deletion is a key factor in corticospinal tract regeneration after spinal cord injury (J. Neurosci. 2014, Nat. Neurosci. 2010), and the primary investigator's two patents (JP-A2012-187149;) and (JP-7189594;) a new patent (JP-7201986;) that was generated by practical applications (JP-7201986;). (3) Method of controlling magnetism to activate the proliferation of nervous system cells and system for reconstructing brain and motor functions), a prototype experimentally demonstrated the same effect.

研究分野：神経機能再建

キーワード：皮質脊髄路 運動機能回復 磁気刺激 可塑性 電気刺激 マッピング 神経再生 運動誘発殿位

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

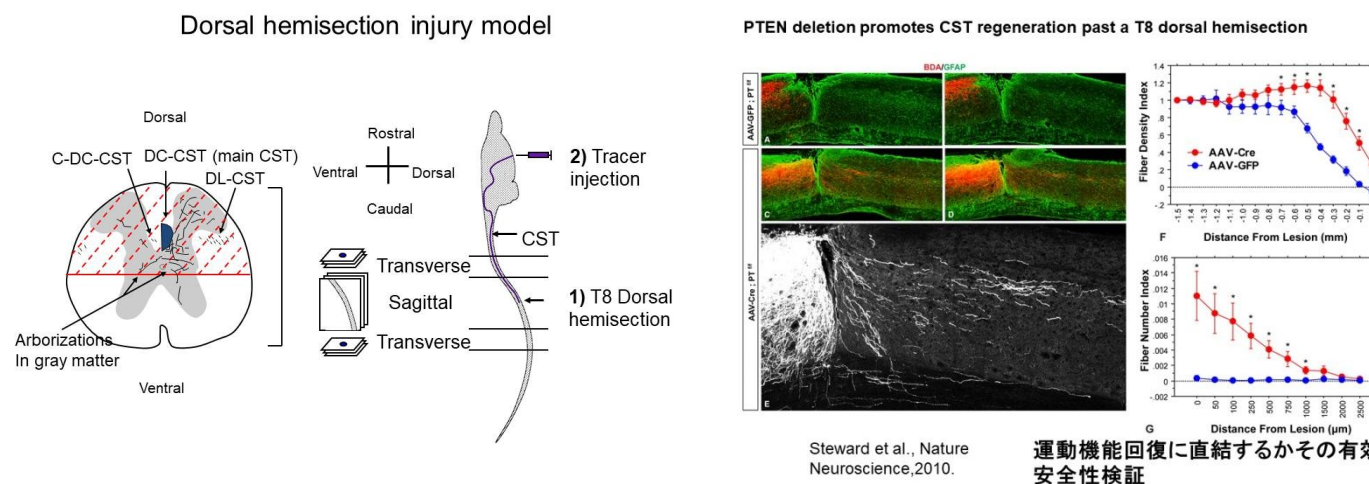
研究代表者の『皮質脊髄路再生の特許技術』が有効・安全たるかの検証を行う。併せて既報基礎研究と臨床現場発リハビリテーション手法の組み合わせの運動機能回復に最適な条件を網羅的に検証し、本技術の可能性を総括する。研究協力者 Steward は PTEN deletion が脊髄損傷後皮質脊髄路再生(J.Neurosci.2014, Nat Neurosci.2010)を、研究代表者 2 特許 (特開 2012-187149;)および(特許第 7189594;)実用化が生んだ新たな特許(特許第 7201986; ;神経系細胞の増殖を活性化させるための磁気の制御方法、及び脳・運動機能再建システム)はこれと相同の効果を実験的に示した。この神経活動依存的可塑性誘導を可能にする渦電流収束磁気刺激装置は(1)コイル直下渦電流強度比で既存法の約 30 倍で、(2)刺激局在性を 100 倍に著増し rat 脳 mapping までも可能、(3)任意の深部任意のパターンで刺激可能で電気刺激並みの高出力・高解像度を磁気刺激で可能にする。これらを総合し本特許技術の非劣性/安全性を既報と網羅検証する。

2. 研究の目的

本研究は脊髄損傷治療における基礎研究を網羅的に統括する。脊髄損傷治療の基礎研究は多岐であり、動物モデルを使用した様々なアプローチで運動機能の回復が多数報告されている。一方、臨床の現場では様々な手法によるリハビリテーションによる運動機能回復が報告されている。本特許技術のヒトへの臨床応用を見据え、運動機能回復のための最適な組み合わせと本法・既報の安全性に関する網羅的研究遂行の解が本研究の学術的「問い」である。

3. 研究の方法

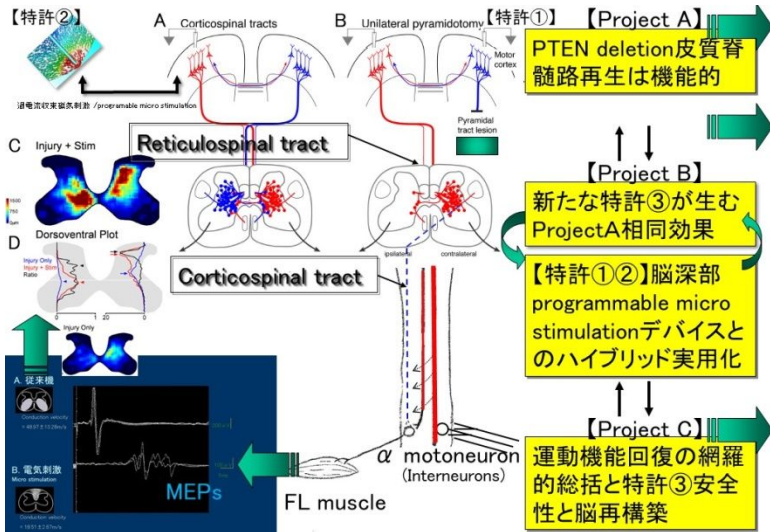
【Project A ; PTEN deletion 皮質脊髄路再生は機能的 : 2020年】



PTEN deletion が脊髄損傷後皮質脊髄路再生する (研究協力者 Steward; J.Neurosci.2014, Nat Neurosci.2010)。大脳皮質運動野 層 neuron の phosphoribosomal protein S6 賦活(mTOR activation)はこの必要十分条件である。本事実が運動機能回復に直結するかその有効性と安全性検証を遂行する。

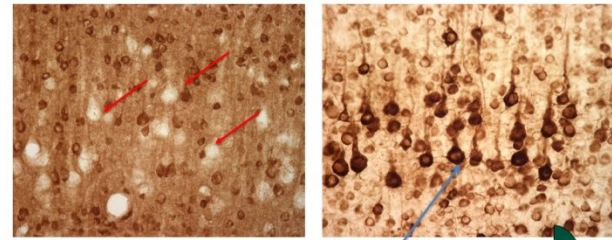
【Project B ; 新たな特許 が生む Project A 相同効果 : 2021 - 】

特許(2012-187149;), (特許第 7189594;)実用化が生んだ新たな(特許第 7201986; ;神経系細胞の増殖を活性化させるための磁気の制御方法、及び脳・運動機能再建システム)は PTEN deletion 相同の効果(右青矢印)を示す。Project A と共に皮質脊髄路再生・運動機能回復の有効性と安全性検証を遂行する。動物実験レベル(2019年7月1日付 承認番号 192302)で直ちに Project A および既報の網羅的検証-相乗効果検証に相補的である。実用化成果物試作機を基礎研究(Project A, B)並びにハードウェアの改良開発(Project B)の両方向からアプローチし Project B,C の結果を勘案しスペックアップを図る。



Deletion of PTEN in the sensorimotor cortex via local injection of AAV-Cre at P1. **新たな特許③は Project A 相同効果が**

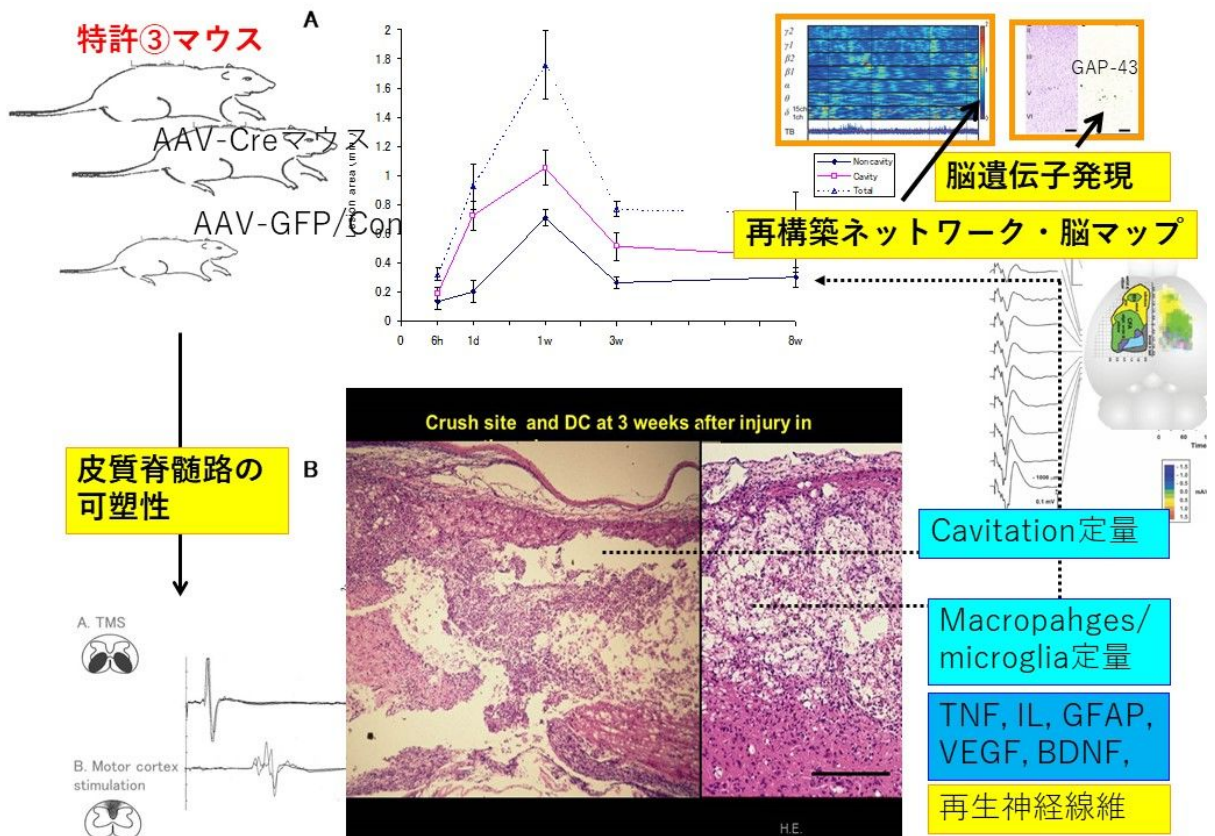
Immunostaining for PTEN reveals area of deletion. Immunostaining for phospho S6 reveals mTOR activation.



PTEN Cells lacking PTEN appear as ghost cells. Enhanced immunostaining for pS6 in neurons lacking PTEN

運動機能回復に直結するか 皮質脊髄路再生が

【Project C ; 運動機能回復の網羅的総括と特許 安全性と脳再構築】



研究方法概要： AAV-Cre, 特許 薬剤, リハビリテーション+LFrTMS/HFc-iTBS/ES および対象として AAV-GFP/C57Bl/6J マウスを用いる。5 グループとも胸髄レベル脊髄背側半切(両側 DC/DL-CST 損傷)、左半切(片側 DC/DL/V-CST + non-CS 下行路損傷)、圧挫のモデルごと相互組み合わせで経時的 time point (n=5) に上記パラメータ検索を行う。損傷部位近傍の組織学的検索(B)が主眼であるが、灌流固定直前まで非侵襲的・一次運動野刺激による下行性運動誘発電位 (MEP)・脳内皮質間誘発電位 (CCEP) 記録・マッピングを行い脊髄組織所見と脳内遺伝子発現・脳内再構築ネットワークの相関の有無を検討する。損傷部位は一次性損傷と、その後経時的に増大する二次性損傷とともに進行性壊死・空洞形成領域 (macrophages など浸潤してきた炎症細胞 (黒線) とさらなる神経障害・炎症の進行による空洞 (紫線) とその総和 (点線)) を上図のごとく定量評価する (A)。損傷側近傍では再生神経線維が損傷部位を超えて末梢に向け再生するが glial scar がその伸長を阻止する。Glial scar formation の経時的定量評価も併せ運動機能回復の既報を含む網羅的総括を行う。

神経機能回復に伴い一次運動前野腹側部の活動上昇と、機能マップの変化および個々の神経活動が変化する。この過程では、損傷領域の機能代償する経路を創り出すシナプス結合の構造

的变化、および神経可塑的变化に關与する複数の遺伝子が活動依存的に発現する。これらを網羅的に明らかにすることが革新的な機能回復技術の開発に不可欠である。二次性損傷を最も軽減することのできた条件下脳内ネットワークの再構築を形態学的・電気生理学的な裏付けを行う。以下の項目を系統的に検討する 1) 一次運動野 BDA トレーサーにより皮質脊髄路の可塑性評価 2) 可逆的ブロック法(GABAA 受容体 agonist; muscimol 5 μ g/ μ l)による検証 3) 機能回復した一次運動野遺伝子発現の変化およびシグナル伝達阻害剤の影響。

4. 研究成果

研究代表者の『皮質脊髄路再生の特許技術』が有効・安全たるかの検証を行った。併せて既報基礎研究と臨床現場発リハビリテーション手法の組み合わせの運動機能回復に最適な条件を網羅的に検証し、今後本技術の可能性を総括した。研究協力者 Steward は PTEN deletion が脊髄損傷後皮質脊髄路再生(J.Neurosci.2014, NatNeurosci.2010)を、申請者の 2 特許 (特開 2012-187149;)および(特許第 7189594;)実用化が生んだ新たな特許(特許第 7201986; 神経系細胞の増殖を活性化させるための磁気の制御方法、及び脳・運動機能再建システム)試作機はこれと相同の効果を実験的に示した。

この神経活動依存的可塑性誘導を可能にする渦電流収束磁気刺激装置は(1)コイル直下渦電流強度比で既存法の約 30 倍で、(2)刺激局在性を 100 倍に著増し脳 mapping までも可能、(3)任意の深部任意のパターンで刺激可能で電気刺激並みの高出力・高解像度を磁気刺激で可能にする。最終年度までにこれらを総合し本特許技術の非劣性/安全性を網羅検証した。その結果、新たな特許第 7201986; による診断機器としての有用性(倫理委員会審査_protocol number: 265)は健常人並びに一部の脳卒中後片麻痺・嚥下障害を有する患者さんにおいて安全に施行できることが確認された。

[直結する成果文献]

Fujiki M, Matsushita W, Kawasaki Y, Fudaba H. Monophasic-Quadripulse Theta Burst Magnetic Stimulation for Motor Palsy Functional Evaluation After Intracerebral Hemorrhage. Front Integr Neurosci.11.2022

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Iuchi Toshihiko, Inoue Akihiro, Hirose Yuichi, Morioka Motohiro, Horiguchi Keishi, Natsume Atsushi, Arakawa Yoshiki, Iwasaki Koichi, Fujiki Minoru, Kumabe Toshihiro, Sakata Yukinori	4. 巻 4
2. 論文標題 Long-term effectiveness of Gliadel implant for malignant glioma and prognostic factors for survival: 3-year results of a postmarketing surveillance in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuro-Oncology Advances	6. 最初と最後の頁 189
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/oaajnl/vdab189	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Matsuta Hiroyuki, Shimomura Tsuyoshi, Kouchiyama Takanori, Fujiki Minoru	4. 巻 17
2. 論文標題 Continuous theta-burst stimulation to the sensorimotor cortex affects contralateral gamma-aminobutyric acid level and resting-state networks	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0272268
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0272268	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Onishi Kouhei, Kamida Tohru, Fujiki Minoru, Momii Yasutomo, Sugita Kenji	4. 巻 34
2. 論文標題 Anticonvulsant and antioxidant effects of lamotrigine on pilocarpine-induced status epilepticus in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 NeuroReport	6. 最初と最後の頁 61~66
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/WNR.0000000000001859	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Fujiki Minoru, Matsushita Wataru, Kawasaki Yukari, Fudaba Hirotaka	4. 巻 16
2. 論文標題 Monophasic-Quadripulse Theta Burst Magnetic Stimulation for Motor Palsy Functional Evaluation After Intracerebral Hemorrhage	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Integrative Neuroscience	6. 最初と最後の頁 827518
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnint.2022.827518	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kuga Kazuhiro, Ozaki Harushige, Fujiki Minoru	4. 巻 33
2. 論文標題 Motor-evoked potentials after focal electrical stimulation predict drug-induced convulsion potentials in rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Toxicology Mechanisms and Methods	6. 最初と最後の頁 123 ~ 130
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15376516.2022.2101038	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fujiki M, Matsudaira KY, Steward O	4. 巻 16
2. 論文標題 Non-invasive High Frequency Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation (hfrTMS) Robustly Activates Molecular Pathways Implicated in Neuronal Growth and Synaptic Plasticity in Select Populations of Neurons.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Front. Neurosci	6. 最初と最後の頁 558
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnins.2020.00558. eCollection 2020.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Fujiki M, Kawasaki Y, Fudaba H	4. 巻 29
2. 論文標題 Continuous Theta-Burst Stimulation Intensity Dependently Facilitates Motor-Evoked Potentials Following Focal Electrical Stimulation of the Rat Motor Cortex.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Front. Neural Circuits	6. 最初と最後の頁 3389
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fncir.2020.585624. eCollection 2020.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計2件

産業財産権の名称 非侵襲的ヒト優位半球の脳運動性言語野判定装置	発明者 藤木 稔	権利者 国立大学法人大分大学
産業財産権の種類、番号 特許、7189594	取得年 2022年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 神経細胞の増殖を活性化させるための磁気制御方法、および経頭蓋磁気刺激システム	発明者 藤木 稔	権利者 国立大学法人大分大学
産業財産権の種類、番号 特許、7201986	取得年 2022年	国内・外国の別 国内

〔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
研究協力者	スチュワード オスワルド (Steward Oswald)	カリフォルニア大学アーバイン校・医学部・教授	

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		
米国	カリフォルニア大学アーバイン校		