

機関番号：82404

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2009～2010

課題番号：21800092

研究課題名（和文）脊髄損傷におけるリハビリテーション効果促進に繋がる分子メカニズムの
解明研究課題名（英文）Identification of the molecular mechanisms that contribute to promoting
the effect of rehabilitation after spinal cord injury

研究代表者

森岡 和仁 (MORIOKA KAZUHITO)

国立障害者リハビリテーションセンター（研究所）・研究所 運動機能系障害研究部・流動研
究員

研究者番号：90551466

研究成果の概要（和文）：脊髄損傷後のリハビリテーションが運動機能回復へ与える影響についてそのメカニズムを解明するため、歩行訓練によるリハビリテーション効果の差が確認できる2種類の動物実験モデルを確立した。リハビリテーション効果を除去したモデルを解析した結果、損傷後早期の後肢の荷重感覚入力は運動機能回復に明らかに影響を及ぼしたことより、リハビリテーション効果を促進する重要な因子である可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：To identify the mechanisms that contribute to promoting the effect of rehabilitation after spinal cord injury (SCI), we established two different experimental rat models in order to evaluate the efficacy of rehabilitation. When investigating the rat model without rehabilitation effects, by using Tail-suspension (the absence of load-related afferents from hindlimb in the early stage of SCI), we observed noticeable inhibitory effects on the recovery of locomotor function. Our findings demonstrated that load-related afferents may assume an important role for the promoting the effects of rehabilitation.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,070,000	321,000	1,391,000
2010年度	970,000	291,000	1,261,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,040,000	612,000	2,652,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：リハビリテーション科学・福祉工学

キーワード：脳・神経、細胞・組織、動物、リハビリテーション

1. 研究開始当初の背景

脊髄損傷の原因の半数は交通外傷であり、年5000人が受傷している。また、平均寿命が健常者と変わらないことより、慢性期患

者の高度な障害とその介護への膨大な社会的コストの観点から、本質的な治療技術の確立が急務であることは明らかである。損傷後の下肢運動制御機能に対する現在の治療は

主に慢性期のリハビリテーションに大きく依存しており、臨床的なエビデンスは蓄積している。その効果として運動機能回復に関わる可塑的变化を修飾することが期待されているが、麻痺肢に対する機能回復の効果は限定的である。

申請者はこうした背景を踏まえ、より効果的なリハビリテーション技術の開発には、まずリハビリテーションがもたらす効果や作用機序について詳細に解析し、機能回復のメカニズムの一端を解明する必要があると考えた。さらに、申請者は脊髄損傷の動物実験モデルの後肢の運動機能が損傷後の一定期間に著明な自然回復を示す事実について着目し、リハビリテーション効果の解析を可能とする独自の動物実験モデルの開発に至った。

2. 研究の目的

本研究はリハビリテーション効果の差異を明らかに示す2種類の動物実験モデルを確立して解析することにより、リハビリテーション効果および機能回復メカニズムの解明、その効果を促進させる作用を有する治療標的分子の同定を目指す。本研究より得られた基礎的知見は脊髄損傷に対する新たなリハビリテーション技術の発展に寄与するとともに、将来的な社会的コストの是正をもたらすものとして期待される。

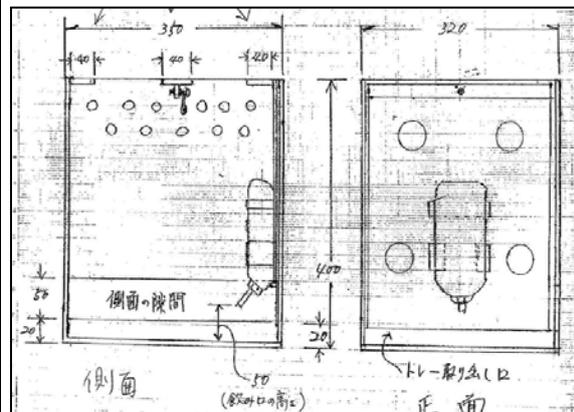
3. 研究の方法

(1) 申請者は損傷後に著明な自然回復を示す期間内に機能回復に対して介入することによりリハビリテーション効果の差異を確認できる2種類の動物実験モデルを確立できると考え、①訓練によるリハビリテーション効果が見込まれるリハビリテーション負荷モデル②Tail-suspension 法によりリハ

効果が完全に除去されるリハビリテーション完全除去モデルの作成を試みた。

(2) 脊髄損傷の動物実験モデルの作成には定量的な圧挫損傷の作成を可能とする IH インパクトター (Precision Systems 社製) を使用した。雌 SD ラット (8-9 週齢、体重 220-250g) の第 10 胸髄レベルに圧挫による不全損傷を作成した。損傷病態を一定にするため、後肢での荷重歩行が損傷後 1 週目までに回復したモデルのみ使用した。

(3) リハビリテーション負荷モデルの作成にはトレッドミル装置 (MK-680S 室町機械社製) を使用し、分速 15~25 メートル、10~15 分間の歩行訓練を損傷後早期より継続した。また、リハビリテーション完全除去モデルの作成には後肢を挙上して完全免荷し後肢の荷重に関する感覚入力 (荷重感覚入力) の阻害を可能とする Tail-suspension 法を用いた。一定期間継続するために専用の特殊ケージを作成した。また、長期間の施行により骨格筋の萎縮・関節拘縮などの影響が懸念されるため、完全免荷の開始時期および期間、免荷解除後の再荷重の期間について詳細に条件検討した。なお、免荷期間中は前肢にてケージ内の移動は可能であり、後肢の自発運動は可能な状態であった。



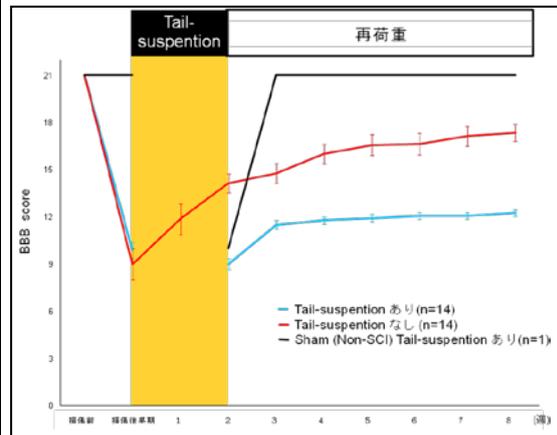
(4) 動物実験モデルの妥当性の検証については、行動解析として後肢の経時的な運動機能評価 (BBB スコア)、脊髓組織の免疫組織学的解析、体重・骨格筋量の測定、骨萎縮・関節拘縮の有無について比較評価を行った。

4. 研究成果

(1) 軽症 (BBB スコア 18 点以上)・中等症 (BBB スコア 15 点以上)・重症 (BBB スコア 12 点以上) の不全損傷ラットにて損傷後早期よりトレッドミル装置による歩行訓練を施行しリハビリテーション負荷モデルを作成した。その結果、軽症の不全損傷ラットでは BBB スコアでは約 2 点の増加を認めたが、中等症・重症の不全損傷ラットでは明らかな回復を認めなかったため、以後の解析には軽症の不全損傷ラットを使用した。

(2) Tail-suspention 法を用いてリハビリテーション完全除去モデルを作成するため完全免荷を施行していない対照群と比較評価し、解析にあたり最適な条件を検討した。損傷後 1 週までに荷重歩行が可能な回復レベル (BBB スコアで 9 点以上) を示す軽症の脊髓損傷ラットを選定して約 2 週間の完全免荷を行った。免荷解除後より全荷重を再開し通常活動下にて約 6 週間飼育した。その結果、対照群に比して BBB スコアでは約 4 点の低下を認め、歩行機能については前肢と後肢の協調歩行運動の回復が不良となる傾向を示した。また、体重増加の不良・骨格筋の萎縮・骨萎縮・関節拘縮など Tail-suspention 法による明らかな弊害を認めず、リハビリテーション完全除去モデルとしての妥当性を確認した。さらに、個体数の増加に伴い、完全免荷後より強い痙攣様の症状が後肢に残存し運動機能評価が困難なラットの発生を稀に認め、今回の解析の対象より除外した。

しかし、損傷が重症であるラットでは自然経過中に痙攣性を示す傾向があることより、より適切なモデル群を作成するためには免荷前に重症度についてスクリーニングを行い、損傷度の個体間差を減少させる手段が必要であると考えられた。



(3) 損傷部の免疫組織学的解析を行った。損傷部の頭側および尾側・損傷中心部の脊髓組織における損傷部にて残存した神経細胞 (NeuN 染色)、損傷部周囲において機能回復に関与する神経膠細胞 (NG2 染色) および星状膠細胞 (GFAP 染色)、既知の軸索伸長関連分子 (GAP43 染色) などについて対照群と比較評価したが明らかな差異を認めなかった。よって、予定していた網羅的解析へ進めるための足掛かりとなる特異的な分子を研究期間内に同定することはできなかった。

(4) 以上の結果より、リハビリテーション効果の差異を明らかに示す 2 種類の動物実験モデルを確立することができた。さらに、Tail-suspention 法を用いたリハビリテーション完全除去モデルの検討にあたり、損傷後早期の荷重感覚入力は脊髓損傷後の歩行機能回復に重要な役割を担う可能性が示され、リハビリテーション効果に影響を及ぼす因子の一つとして可能性が示唆された。また、今回の検討では動物実験モデルの条件検討

に想定外の時間を要したため、予定していた他の解析については研究期間内に到達することができなかった。今後は作成した動物実験モデルを用いて包括的に当該研究を進め、リハビリテーション技術の開発に繋がる新しい知見を獲得し貢献していく所存である。

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 緒方徹、森岡和仁、中枢神経の再生、治療、査読無、Vol.93、No.2、2011、pp.314-318
- ② 緒方徹、上野高明、星川慎弥、伊藤順一、岡崎廉太郎、早川謙太郎、森岡和仁、山本真一、中村耕三、田中栄、赤居正美、Hes1 functions downstream of growth factors to maintain oligodendrocyte lineage cells in the early progenitor stage、Neuroscience、査読有、Vol.10、No.176、2011、pp.132-141
- ③ 森岡和仁、谷川千津、越智健介、醍醐弥太郎、片桐豊雅、河野博隆、川口浩、名井陽、吉川秀樹、中紀文、荒木信人、久田原郁夫、家口尚、中村耕三、中村祐輔、松田浩一、Orphan receptor tyrosine kinase ROR2 as a potential therapeutic target for osteosarcoma、Cancer Science、査読有、Vol.100、No.7、2009、pp.1227-1233

[学会発表] (計7件)

- ① 岡崎廉太郎、上野高明、森岡和仁、早川謙太郎、中村耕三、緒方徹、Acute-phase inflammatory gene expression in cuprizone-induced demyelination model、2010年度北米神経科学学会、サンディエゴ 米国、2010年11月13-17日
- ② 岡崎廉太郎、森岡和仁、上野高明、今村幸、遠藤昌吾、滝嶋邦夫、中村耕三、緒方徹、中枢神経炎症におけるErk2の役割、第25回日本整形外科学会基礎学術集会、京都、2010年10月14-15日
- ③ 緒方徹、森岡和仁、岡崎廉太郎、早川謙太郎、上野高明、中村耕三、赤居正美、オリゴデンドロサイト前駆細胞をターゲットとした脊髄損傷治療戦略の基礎と臨床、第25回日本整形外科学会基礎学術

集会、京都、2010年10月14-15日

- ④ 岡崎廉太郎、上野高明、森岡和仁、中村耕三、緒方徹、Temporal gene expression analysis in cuprizone-induced demyelination model、第7回欧州神経科学学会、アムステルダム オランダ、2010年7月3-7日
- ⑤ 緒方徹、上野高明、森岡和仁、岡崎廉太郎、田中栄、赤居正美、Molecular link between bFGF signals and bHLH transcription factors in regulating proliferation and maturation of oligodendrocyte progenitor cells、2009年度北米神経科学学会、シカゴ 米国、2009年10月17-21日
- ⑥ 森岡和仁、松田浩一、河野博隆、中村耕三、川口浩、中村祐輔、Orphan receptor 2 (ROR2) / WNT5B signaling as a therapeutic target against osteosarcoma、第31回米国骨代謝学会、デンバー 米国、2009年9月11-15日
- ⑦ 森岡和仁、松田浩一、河野博隆、中村耕三、川口浩、中村祐輔、Orphan Receptor Tyrosine Kinase ROR2 as a Potential Therapeutic Target for Osteosarcoma、第27回日本骨代謝学会、大阪、2009年7月23-25日

[図書] (計0件)

[産業財産権]

- 出願状況 (計0件)
- 取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等

- ① http://www.rehab.go.jp/ri/undou/dept_rehabmovfunct_e.htm
- ② <http://jsbmr.umin.jp/jushou/h21.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森岡 和仁 (MORIOKA KAZUHIITO)
国立障害者リハビリテーションセンター
(研究所)・研究所 運動機能系障害研究部・流動研究員
研究者番号：90551466

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし