

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K19709

研究課題名（和文）再生医療とリハビリテーションの融合によるニッチとセルラーのリハビリテーション開発

研究課題名（英文）Regenerative medicine and Rehabilitation after peripheral nerve injury

研究代表者

黒木 裕士（Kuroki, Hiroshi）

京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：20170110

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本課題では、ラット坐骨神経損傷モデルを作成し、(1) 超音波治療による末梢神経再生促進メカニズムについて遺伝子発現解析によって解明すること、および(2) 非侵襲的磁気刺激を腰髄後根神経節部位に行うことで、後根神経節（以下、DRG）ニューロンの細胞死抑制が可能かどうか検証することを目的として研究に取り組んだ。その結果、(1) 損傷翌日から1週間の超音波治療が末梢神経再生促進に重要であることが示唆され、再生促進メカニズムの1つとしてマクロファージ表現型の調整が関与していることが明らかとなった。また(2) 損傷後1週までに非侵襲的磁気刺激を行うと DRGニューロン細胞死を抑制する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本課題の研究成果は、末梢神経損傷に対するリハビリテーションの臨床において、超音波治療による神経再生促進の可能性を示したこと、および非侵襲的磁気刺激を腰髄後根神経節部位に行うことで、後根神経節ニューロンの細胞死を抑制できる可能性を提示したことにあり、この領域の発展に貢献していると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In order to elucidate the mechanism of reinnervation after peripheral nerve injury by using ultrasound treatment and to verify the ability to suppress cell death of dorsal root ganglion (DRG) neurons by applying non-invasive magnetic stimulation, this project was conducted. The results obtained indicate that (1) ultrasound treatment up to 1 week after injury is important to promote reinnervation and to reduce proinflammatory macrophages; and (2) non-invasive magnetic stimulation up to 1 week after injury may suppress DRG neuron cell death.

研究分野：リハビリテーション医学 理学療法学

キーワード：リハビリテーション 再生医療 末梢神経損傷 理学療法 超音波療法 非侵襲的磁気刺激

1. 研究開始当初の背景

末梢神経損傷に対する再生医療分野では、リハビリテーション科学の貢献が期待されている。とくに理学療法介入が、末梢神経細胞の生着・増殖・分化・機能化を促進させる“治療”として作用する可能性が報告されるようになった。しかし、理学療法としてどのような種類の介入を、どの程度行えば良いのか、さらにはその背景にある作用メカニズムについては不明な点が多く、実験動物を用いた基礎的なデータの蓄積が必須である。重篤な末梢神経損傷の際には、自家神経移植術が選択されるが未だ課題が多い。超音波治療や非侵襲的磁気刺激はこれまで末梢神経を含む様々な組織において再生促進効果が報告されはじめているが、未だその詳細な作用メカニズムは不明である。

2. 研究の目的

本研究では、ラット坐骨神経損傷モデルを作成し、(1) 超音波治療による末梢神経再生促進メカニズムについて遺伝子発現解析によって解明することを目的とした。また(2) 非侵襲的磁気刺激を腰髄後根神経節部位に行うことで、後根神経節(以下、DRG)ニューロンの細胞死抑制が可能かどうか検証することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 超音波治療による末梢神経再生促進メカニズムの解明

実験動物として12週齢のLewis系雄性ラットを用いた。坐骨神経を5mm切除し、近位と遠位を反転させて再縫合した自家神経移植術モデルラットに対し、移植術翌日から1週間または4週間の超音波治療または疑似治療を実施し、損傷2週、4週、8週後にToe-spreading testと三次元動作解析システムを用いた歩行解析を実施した。また、末梢神経再生に重要な役割を担っているとされるマクロファージについて、炎症性マクロファージと抗炎症性マクロファージの増減とその割合を解析した。

(2) 非侵襲的磁気刺激によるDRGニューロンの細胞死抑制の検証

重度の末梢神経損傷では脊髄前角や後根神経節(DRG)におけるニューロン細胞死が生じることにより、神経再生に影響を及ぼす。そのため細胞死を抑制することができれば、神経再生と機能回復を促進できる可能性がある。これまで侵襲的な電気刺激による脊髄ニューロン細胞死抑制効果が報告されているが、本研究ではこれをさらに発展させ、非侵襲的磁気刺激が末梢神経損傷後のDRGニューロンの細胞死と再生に与える影響について検討した。ラットを非侵襲的磁気刺激群、対照群と無損傷群に無作為に分けた。非侵襲的磁気群や対照群に対し、坐骨神経に8mmの欠損を作成したのちに再接合する自家神経移植モデルを作製した。術後翌日より非侵襲的磁気群の腰髄に非侵襲的磁気刺激を毎日実施した。損傷1週及び4週後、同側脊髄とDRGを採取して染色にて脊髄前角とDRGニューロン細胞数をカウントした。また、DRGの遺伝子発現解析(Bax:細胞死を促進する遺伝子、Bcl-2:Baxの活性を抑制する遺伝子)を実施した。

4. 研究成果

(1) 超音波治療による末梢神経再生促進メカニズムの解明

損傷翌日から1週間または4週間の超音波治療が末梢神経再生を促進し、その再生促進メカニズムの1つとしてマクロファージ表現型の調整が関与していることが明らかとなった(図、文献1)。損傷翌日から1週間の超音波治療が末梢神経再生促進に重要であることが示唆された。

(2) 非侵襲的磁気刺激によるDRGニューロンの細胞死抑制の検証

損傷後1週において、無損傷群と比較して対照群で細胞数が減少し、その変化は4週後まで継続した。すべての時点で前角細胞数は非侵襲的磁気群と対照群の間に有意差は認められなかったが、DRG細胞数は非侵襲的磁気群で有意に高かった。損傷後1週において、BaxのmRNAは非侵襲的磁気群と比較して対照群で有意に高かった。損傷後4週において、BaxとBcl-2のmRNAは対照群と比較して非侵襲的磁気群で有意に高かった。これらの結果は、細胞死が生じる損傷後1週までの非侵襲的磁気刺激がBaxのmRNA発現を抑制することによりDRGニューロン細胞死を抑制する可能性を示唆している。

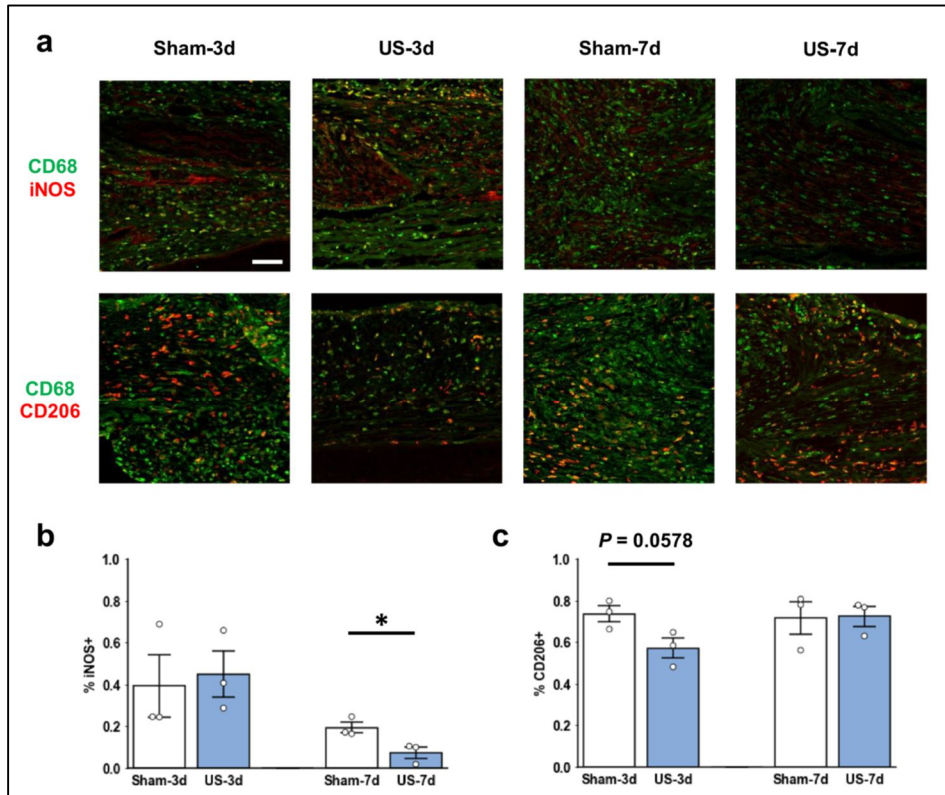


図 マクロファージの遺伝子解析結果 * $P < 0.05$ (文献 1、Sci Rep. 2023)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Tajino Junichi, Aoyama Tomoki, Kuroki Hiroshi, Ito Akira	4. 巻 185
2. 論文標題 Comprehensive Understanding of Inactivity-Induced Gait Alteration in Rodents	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Visualized Experiments	6. 最初と最後の頁 e63865
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3791/63865	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Xu Shixuan, Ito Akira, Wang Tianshu, Kawai Hideki, Aoyama Tomoki, Kuroki Hiroshi	4. 巻 48
2. 論文標題 Ultrasound Therapy of Injury Site Modulates Gene and Protein Expressions in the Dorsal Root Ganglion in a Sciatic Nerve Crush Injury Rat Model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ultrasound in Medicine & Biology	6. 最初と最後の頁 2502 ~ 2511
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ultrasmedbio.2022.07.015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ito Akira, Araya Yuki, Kawai Hideki, Kuroki Hiroshi	4. 巻 17
2. 論文標題 Ultrasound Stimulation Inhibits Morphological Degeneration of Motor Endplates in the Denervated Skeletal Muscle of Rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuroscience Insights	6. 最初と最後の頁 eCollection2022
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/26331055221138508	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 Zhao Zixi, Ito Akira, Nakahata Akihiro, Ji Xiang, Tai Chia, Saito Motoo, Nishitani Kohei, Aoyama Tomoki, Kuroki Hiroshi	4. 巻 4
2. 論文標題 One session of 20 N cyclic compression induces chronic knee osteoarthritis in rats: A long-term study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Osteoarthritis and Cartilage Open	6. 最初と最後の頁 100325 ~ 100325
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ocarto.2022.100325	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 青山 朋樹, 池口 良輔, 伊藤 明良, 谷間 桃子, 南角 学, 田辺 直也, 小笹 寧子, 松田 秀一	4. 巻 58
2. 論文標題 再生リハビリテーション	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Japanese Journal of Rehabilitation Medicine	6. 最初と最後の頁 1149-1155
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2490/jjrmc.58.1149	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hideki Kawai, Akira Ito, Tianshu Wang, Shixuan Xu, Hiroshi Kuroki	4. 巻 48
2. 論文標題 Investigating the Optimal Initiation Time of Ultrasound Therapy for Peripheral Nerve Regeneration after Axonotmesis in Rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ultrasound in Medicine & Biology	6. 最初と最後の頁 304-312
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ultrasmedbio.2021.09.023	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 Kawai Hideki, Ito Akira, Kawaguchi Asuka, Nagai-Tanima Momoko, Nakahara Ryo, Xu Shixuan, Kuroki Hiroshi	4. 巻 13
2. 論文標題 Ultrasound therapy for a week promotes regeneration and reduces pro-inflammatory macrophages in a rat sciatic nerve autograft model	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 11494
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-38630-8	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 Nakahara Ryo, Ito Akira, Nakahata Akihiro, Nagai-Tanima Momoko, Kawai Hideki, Uchiyama Kisara, Nishitani Kohei, Wang Tianshu, Aoyama Tomoki, Kuroki Hiroshi	4. 巻 18
2. 論文標題 Development of a novel model for intraarticular adhesion in rat knee joint	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0292000
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0292000	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 Zhao Zixi、Ito Akira、Kuroki Hiroshi、Aoyama Tomoki	4. 巻 -
2. 論文標題 Analysis of Molecular Changes and Features in Rat Knee Osteoarthritis Cartilage: Progress From Cellular Changes to Structural Damage	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 CARTILAGE	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/19476035231213174	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 Xu Shixuan、Ito Akira	4. 巻 28
2. 論文標題 Expanding the targets of therapeutic electrophysical stimulation - For the advancement of peripheral nerve regenerative rehabilitation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Current Opinion in Biomedical Engineering	6. 最初と最後の頁 100515 ~ 100515
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cobme.2023.100515	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件(うち招待講演 1件/うち国際学会 6件)

1. 発表者名 Hideki Kawai, Akira Ito, Momoko Nagai-Tanima, Ryo Nakahara, Hiroshi Kuroki
2. 発表標題 Ultrasound therapy for a week after injury accelerates the regeneration in a rat sciatic nerve autograft model
3. 学会等名 Ninth Annual International Symposium on Regenerative Rehabilitation (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ryo Nakahara, Akira Ito, Momoko Nagai-Tanima, Hideki Kawai, Zixi Zhao, Chia Tai, Hiroshi Kuroki
2. 発表標題 Analysis of gene expression after ultrasound therapy for intraarticular adhesion model in rats
3. 学会等名 Ninth Annual International Symposium on Regenerative Rehabilitation (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Chia Tai, Akira Ito, Zixi Zhao, Ryo Nakahara, Hideki Kawai, Hiroshi Kuroki
2. 発表標題 Decelerating the process of articular cartilage degeneration in a non-invasive mechanical compression-induced rat model via intra-articular injections of allogeneic BMSCs
3. 学会等名 Ninth Annual International Symposium on Regenerative Rehabilitation (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shixuan Xu, Akira Ito, Hideki Kawai, Ryo Nakahara, Zixi Zhao, Chia Tai, Tomoki Aoyama, Hiroshi Kuroki
2. 発表標題 The effect of ultrasound therapy on dorsal root ganglion in sciatic nerve crush injury rat model
3. 学会等名 Ninth Annual International Symposium on Regenerative Rehabilitation (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中原峻, 伊藤明良, 谷間桃子, 河合秀紀, 趙梓汐, 徐仕軒, 戴嘉, 安孫子幸子, 青山朋樹, 黒木裕士
2. 発表標題 ラット膝関節の術後癒着に対する超音波照射強度と時間の影響の検証
3. 学会等名 第27回日本基礎理学療法学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 徐仕軒, 伊藤明良, 河合秀紀, 中原峻, 趙梓汐, 戴嘉, 青山朋樹, 黒木裕士
2. 発表標題 坐骨神経挫滅損傷モデルラットに対する超音波治療が脊髄後根神経節に与える影響の検討
3. 学会等名 第27回日本基礎理学療法学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊藤明良, 河合秀紀, 中原峻, 徐仕軒, 趙梓汐, 戴嘉, 黒木裕士
2. 発表標題 超音波パルス刺激は脱神経筋におけるアセチルコリン受容体の形態変性を抑制する
3. 学会等名 第27回日本基礎理学療法学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊藤明良
2. 発表標題 再生リハビリテーションの現状と展望
3. 学会等名 第61回近畿理学療法学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 黒木 裕士
2. 発表標題 再生医学とリハビリテーション
3. 学会等名 第26回日本基礎理学療法学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊藤明良、河合秀紀、黒木裕士
2. 発表標題 物理療法と再生リハビリテーション
3. 学会等名 第60回日本生体医工学会大会オーガナイズドセッション0S2-7-1
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 河合秀紀、伊藤明良、王天舒、黒木裕士
2. 発表標題 末梢神経再生に最適な超音波刺激方法の開発
3. 学会等名 第60回日本生体医工学会大会オーガナイズドセッションOS2-7-1
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hideki Kawai
2. 発表標題 OPTIMIZATION OF REHABILITATION FOR FURTHER PROGRESS IN PERIPHERAL NERVE REGENERATION
3. 学会等名 Rising Stars of Regenerative Rehabilitation Virtual Speaker Series 2021, The Alliance for Regenerative Rehabilitation Research and Training (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shixuan Xu, Akira Ito, Zixi Zhao, Ryo Nakahara, Chia Tai, Fumika Miyamoto, Hiroshi Kuroki, Tomoki Aoyama
2. 発表標題 Magnetic Stimulation Prevents Dorsal Root Ganglion Neuron Death and Enhances Nerve Regeneration in a Sciatic Nerve Injury Rat Model
3. 学会等名 Tenth Annual International Symposium on Regenerative Rehabilitation (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 徐仕軒、伊藤明良、戴嘉、中原峻、趙梓汐、宮本史佳、黒木裕士、青山朋樹
2. 発表標題 坐骨神経損傷モデルラットに対する磁気刺激治療がニューロン細胞死に与える影響の検討
3. 学会等名 日本物理療法合同学術大会2024
4. 発表年 2024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
研究 分担者	谷間 桃子 (長井) (Tanima Momoko) (50755676)	京都大学・医学研究科・助教 (14301)	
研究 分担者	伊藤 明良 (Ito Akira) (50762134)	京都大学・医学研究科・講師 (14301)	

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
---------	---------