

厚生労働科学研究費補助金  
障害保健福祉総合研究事業

再生医療による脊髄の歩行パターン発生能力と  
脊髄損傷者の歩行再獲得可能性に関する研究

平成18年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 赤居 正美

平成19(2007)年4月

## 目 次

### I. 総括研究報告

再生医療による脊髄の歩行パターン発生能力と脊髄損傷者の歩行再獲得可能性に関する研究-----	1
--	---

赤居 正美

### II. 分担研究報告

1. 損傷脊髄の機能回復可能性に関する研究-----	4
----------------------------	---

中澤 公孝

2. 損傷脊髄神経における軸索伸張と髄鞘形成の分子メカニズムに関する研究-----	7
---	---

山本 真一

III. 研究成果の刊行に関する一覧表-----	9
--------------------------	---

IV. 研究成果の刊行物・別刷-----	10
----------------------	----

厚生労働科学研究費補助金（障害保健福祉総合研究事業）  
総括研究報告書

再生医療による脊髄の歩行パターン発生能力と脊髄損傷者の歩行再獲得可能性に関する研究

主任研究者 赤居 正美 国立身体障害者リハビリテーションセンター病院 副院長

研究要旨

本研究は、再生医学による損傷脊髄部分での軸索再生と末梢の残存脊髄機能の可塑性を研究することにより、脊髄損傷者の歩行再獲得を最終目的としている。その実現に向け、概ね以下の3つを目標におく。A：神経生理学的研究により、信号の受け手側である損傷脊髄以下に残った機能回復能を調べる。B：再生医学に基づく細胞工学的手法により、上位信号の送り手側である損傷部位での軸索再生を計る。C：上記により得られた理論に立脚した、歩行能再獲得に向けた新たなリハビリテーション方法を開発する。

分担研究者

中澤公孝

（国立身体障害者リハビリテーションセンター  
研究所 室長）

山本真一

（国立身体障害者リハビリテーションセンター  
研究所 主任研究官）

A. 研究目的

本研究は近年の中枢神経系の再生能力に関する証明と残存脊髄機能の再活性に関する新知見より、脊髄損傷者の歩行再獲得を最終目的に、新たなリハビリテーション体系の開発を目指す。

目標としては、人間の脊髄に基本的な歩行パターンを生み出す能力および学習能力がどの程度あるのかを探求し、近年発達のめざましい再生医学による脊髄の軸索延長と組み合わせ、治療モデルを作る。それを基に、対麻痺患者のための新たなリハビリテーション手法につなげる。

近年のめざましい再生医学の進歩は、損傷後脊髄に從來考えられていた以上の回復能力があることを示している。すなわち実際には軸索自体の伸長能はあるものの、周囲組織の阻害によって再生が阻まれている事実を明らかになった。しかし先行研究からは、動物において少しずつ報告例が蓄積されつつある軸索再生をもってしても、損傷部位を越えて元のような点对点投射は困難と考えられる。

他方不全損傷患者での臨床経験からは、歩行様トレーニングによる繰り返し刺激入力脊髄歩行中枢の改善に結びつく可能性を示している。神経生理学からは損傷後脊髄に從來考えられていた以上の回復能力・可塑性が期待出来るので、たとえごくわずかであっても中枢からの情報伝達を再建出来れば、いい

かえれば完全損傷を不全損傷に変える事が出来れば、臨床への発展性はあると考えた。

我が国における脊髄損傷の現状には、年間5000人に達する新たな患者発生があり、医学的、社会的、心理的に重大な障害が残存するという課題が存在している。交通事故等の外傷性脊髄損傷によって毎年多くの若者が四肢麻痺や対麻痺となり、その後の長い人生を車椅子生活でおくことを余儀なくされているのである。

人間を対象とした研究は端緒についたばかりであり、まだまだ検証すべき点が多い。上記再生医学の知見と神経生理学的な脊髄の可塑性、学習能力を結びつけ、実際の患者における機能再建につながる一歩とする。

B. 研究方法

（1）神経生理学的研究により、信号の受け手側である損傷脊髄以下に残った機能回復能を定量的に把握する。

- ① ヒトの脊髄に歩行パターンを自立的に生み出す能力がどの程度あるのかを調べる。
- ② それは末梢からの感覚刺激に対してどの程度適応的に変化する能力があるのかを調べる。
- ③ その能力は上位中枢とどのような結合状態を取っているかを調べる。

（2）再生医学に基づく細胞工学的手法により、上位信号の送り手側である損傷部位での軸索再生を計る。

- ① 神経細胞の再生シグナルを神経軸索断端からの遺伝子導入によって活性化し、軸索伸長を促進させる。
- ② 再生軸索の足場として最適な表現形を持つ細胞を損傷部に誘導する。

より具体的には

脊髄の可塑性、すなわち損傷脊髄以下のトレーニングにともなう再組織化能力を明らかにする臨床的アプローチとしては、①下行性入力の有無と脊髄反射経路の再組織化、②歩行トレーニングによる皮質脊髄路興奮性変化と機能回復の関係を、臨床症例にて検証する。

脊髄軸索再生の可能性を探る基礎的アプローチとしては、①神経栄養因子シグナル活性化による神経軸索伸長、②髄鞘形成細胞の増殖、に関わる分子機構を、初代培養系と脊髄損傷動物モデルの組織解析から検討する。

平成16年度は次の二つの側面から研究を行った。

- ・脊髄損傷者を対象とし、歩行トレーニングに伴い脊髄神経回路と大脳運動野からの下行性指令がいかに変容するのかを解明するための実験環境の整備と予備実験を開始した。
- ・脊髄神経再生能力に関する細胞・動物を用いた基礎実験を行うための遺伝子操作を含む実験環境を整えた。

平成17年度では以下の内容を行った。

- ・立位歩行トレーニングの経時変化追跡を行った。不全および完全対麻痺者を対象として、トレッドミル上での歩行トレーニング中及び安静時に経頭蓋磁気刺激(TMS)を行い、それに対する下肢麻痺領域の応答を評価した。さらに下肢麻痺領域の脊髄反射を誘発し、これらがトレーニングによりどうか変化するかを縦断的に調べた。
- ・ラット胎児から脊髄運動ニューロン初代培養系を確立し(神経細胞の再生力の賦活化)、BDNFによる神経突起伸長と細胞内シグナル阻害剤の効果を評価した。マウス胎児中枢神経から髄鞘を形成するオリゴデンドロサイト前駆細胞の初代培養系を確立し(再生軸索周囲の環境の最適化)、増殖因子や細胞内シグナル阻害剤の増殖に関する影響を評価した。
- ・損傷脊髄の組織学的検討のため、ラット脊髄圧挫モデルを確立し、オリゴデンドロサイト前駆細胞の増殖動態を解析した。

平成18年度は

- ・17年度同様の実験を継続し、大脳運動野との結合が残存するか否かの違いが、脊髄歩行中枢の出力改善にどの程度影響するのかを検討した。
- ・前年度に得られたニューロンあるいはオリゴデンドロサイト前駆細胞の細胞内シグナルの知見を、遺伝子導入実験・マイクロアレイなどで検証した。損傷脊髄内のオリゴデンドロサイト前駆細胞の分布変化を解析した。

(倫理面への配慮)

この研究において、人間を対象として行われる種々の検査、実験に対麻痺者あるいは健常者が参加することに関する倫理上の問題点については、国立身体障害者リハビリテーションセンター倫理審査委員会で審査を受け、その許可を得た。各実験、検査においては、事前に被検者に内容を十分説明し、インフォームドコンセントを得ると共に、実験、検査の中止は被検者の意志が最優先であり、いかなる場合においてもそれらを即時中止できることを徹底した。本研究所の「動物実験委員会」「遺伝子組換え実験安全委員会」の承認を得た。

## C. 研究結果

(1) 臨床的アプローチ(神経生理)の成果

①ロボット式下肢歩行補助装置であるLokomatを導入し、不全および完全対麻痺者を対象としてトレッドミル上での歩行トレーニング中に経頭蓋磁気刺激(TMS)を行い、それに対する下肢麻痺領域の応答を計測した。不全対麻痺者において、トレーニング後の歩行能力の改善とTMSに対する応答の増大を確認した。

②立位歩行トレーニングを継続した上、大脳運動野との結合が残存するか否かの違いが、脊髄歩行中枢の出力改善にどの程度影響するのかを計測した。運動野との結合が無い完全対麻痺ではステップング時に誘発される歩行様の筋活動がステップング時間経過と共に減弱すること、不全対麻痺にはこれが見られないことを確認した。この傾向はトレーニングによっても大きく変化しないことを明らかにした。

(2) 基礎的アプローチ(再生医学)の成果

- ①脊髄運動ニューロンは、恒常活性化型MEK導入によって、BDNFと同様に軸索を伸長した。
- ②DNAマイクロアレイによる解析から、Rapgef4(別名EPAC2)などの増殖関連候補遺伝子を同定した。
- ③Olig2/BrdU二重陽性前駆細胞の分布変化の解析からは、損傷部位へ向けての細胞遊走は確認されなかった。

## D. 考察

1) 健常者を対象とした受動歩行時のMEPの結果から、受動的歩行において、TAの皮質脊髄路興奮性が促進するという新たな知見が得られた。今後脊髄損傷者のトレーニング中に同様な検査を行う予定であるが、その基盤となるきわめて重要な結果を得ることができた。

2) この現象は、さらなる検証が必要ではあるものの、ヒラメ筋(SOL)には認められなかったことから、大脳皮質との結合が強いとされる前脛骨筋(TA)に固有の特徴である可能性が高い。最近、TAの静的および動的随意収縮時のMEPが脊髄損傷の程度をよく反映することが報告された(Diehl et al. 2

006, J Neurol)。

- 3) 脊髄運動ニューロンのBDNFによる軸索伸長には、主にMEK-ERK経路が関与していると考えられた。
- 4) オリゴデンドロサイト前駆細胞の増殖においても、MEK-ERK経路が機能していると考えられた。
- 5) 内在するオリゴデンドロサイト前駆細胞の治療応用のためには、損傷組織内での前駆細胞数の損傷部への誘導も必要であると考えられた。

#### E. 結論

- 1) 新たな歩行トレーニング機 (Lokomat) を導入し、脊髄損傷者の歩行トレーニング実験を開始した。
- 2) 同時に健常者での基礎実験を行い、脊髄損傷後の回復程度を定量する基礎データを得ることができた。
- 3) 脊髄運動ニューロンの初代培養系を確立し、BDNFの軸索伸長効果とその細胞内シグナルを検討した。
- 4) オリゴデンドロサイト前駆細胞の初代培養系を確立し、増殖に関わる細胞内シグナルを検討した。
- 5) ラット脊髄圧挫モデルにおいて、Olig2/BrdU二重陽性オリゴデンドロサイト前駆細胞の挙動を観察した。

再生医学と臨床での神経生理分析との2つのアプローチは、現状では直ぐに結びつくものではない。しかし今後、受動的トレーニングを行う動物実験を2つの中間に置くことにより、末梢感覚情報と下行性入力の相互作用および脊髄歩行中枢の可塑性との関係を解析する新たな枠組みを構築し、そこに軸索再

生による脊髄回路の部分修復の可能性を取り入れることが出来そうである。

F. 健康危険情報  
特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Kawashima N, Taguchi D, Nakazawa K, Akai M. Effect of lesion level on the orthotic gait performance in individuals with complete paraplegia. Spinal Cord, 44, 2006, p. 487-494.
- 緒方徹, 赤居正美. 神経再生. 脊髄損傷理学療法マニュアル, 岩崎洋編. 文光堂, 東京, 2006, p. 341-343.

2. 学会発表

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

1. 特許取得  
特になし

2. 実用新案登録  
特になし

3. その他

厚生労働科学研究費補助金（障害保健福祉総合研究事業）  
分担研究報告書

損傷脊髄の機能回復可能性に関する研究

分担研究者 中澤 公孝 国立身体障害者リハビリテーションセンター研究所 室長

研究要旨

神経生理学的研究により、中枢からの下行性指令信号の受け手側である損傷脊髄以下に残った機能回復能を調べる。具体的には

- ①ヒトの脊髄に歩行パターンを自律的に生み出す能力がどの程度あるのか、
  - ②それは末梢からの感覚刺激に対してどの程度適応的に変化する能力があるのか、
  - ③その能力は上位中枢とどのような結合状態を取っているか、
- を明らかにする正常者での研究と、実際の脊髄損傷患者の損傷部位以下で、こうした能力はどの程度残存しているか、を定量的に把握する臨床研究を並行して行う。

A. 研究目的

研究の分担として

神経生理学的研究により、中枢からの下行性指令信号の受け手側である損傷脊髄以下に残った機能回復能を調べる。

18年度目標として

立位歩行トレーニングの経時変化追跡をおこなう。不全および完全対麻痺者を対象として、トレッドミル上での歩行トレーニング中及び安静時に経頭蓋磁気刺激（TMS）を行い、それに対する下肢麻痺領域の応答を評価する。さらに下肢麻痺領域の脊髄反射を誘発し、これらがトレーニングによりどう変化するかを縦断的に調べる。

B. 研究方法

受動歩行トレーニング実験

脊髄損傷者6名（表1）を対象とし、ロボット型歩行トレーニングマシン（Lokomat）を用いた歩行トレーニングを行った。トレーニング前後およびトレーニング中に各種神経学的検査を行った。

神経学的検査としてはトレーニング前中後に

安静時：下腿筋伸張反射、H-反射、経頭蓋磁気刺激（TMS）による運動誘発電位（MEP）

Lokomat歩行中：下肢筋電図（EMG）、運動誘発電位（MEP）

（倫理面への配慮）

ロボット型トレーニング機を用いた臨床実験のプロトコルを作成し、倫理委員会の承認後に試験を開始した。

表1 被検者の特性

	性別	年齢(歳)	損傷レベル	損傷歴(ヶ月)	訓練期間	訓練回数(回/週)
Sub 1	女性	32	C7 完全	48	2006.1.20~8.23	3
Sub 2	男性	23	C6 不全	7	2006.3.28~4.27	4
Sub 3	男性	27	C6 完全	147	2006.7.5 ~12.27	1
Sub 4	女性	32	Th7 完全	78	2006.8.25~	2
Sub 5	男性	21	Th5 不全	4	2006.9.14~	4
Sub 6	男性	19	Th12完全	5	2007.1.12~	3

C. 研究結果

先行研究に一致し、トレーニングの効果は完全麻痺者と不全麻痺者とでは明確に異なる結果となった。第一に、完全麻痺者でも受動歩行中に歩行周期に一致した下肢筋群の筋放電が観察されたが、その振幅は時間経過と共に減少する特徴があった（図1）。それはトレーニングの影響を受けなかった。これに対し、不全麻痺者の歩行中筋放電にはそのような減少傾向は認められなかった。

第二に、完全麻痺者では安静時、歩行中ともにTMSによる運動誘発電位は出現せず、足関節背屈筋（TA）を支配する大脳運動野と脊髄との結合は電気生理学的に完全に遮断されており、回復も認められなかった。一方、本研究の不全麻痺者では座位安静時には同筋のMEPは誘発できなかったが、弱い随意収縮中およびLokomatによる歩行中（図2）には誘発された。さらにトレーニングによってその応答は増大した。このことはTAを支配する大脳運動野と脊髄との神経指令伝達がトレーニングによって改善したことを意味する。さらに不全麻痺者の歩行はトレーニングによって改善した。特に被検者5ではトレーニング前には直立姿勢維持、歩行とも不能であったが、トレーニングによって歩行器あるいは杖を用いた10分程度の自立歩行が可能となった。さらに同被検者では、トレーニング初期の歩行の障害となっていた下肢の強度の痙性がトレーニングにとまって減弱した。同時に電気生理学的検査結果から伸張反射、

H-反射の減少も確認された。

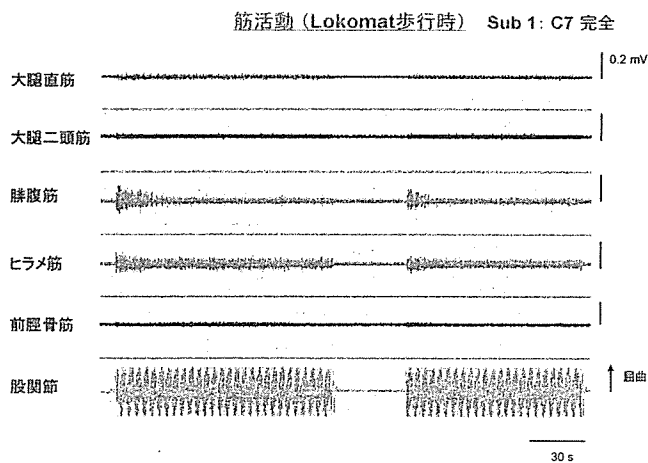


図1 完全麻痺者の受動歩行中筋電図の典型例

#### D. 考察

本年度の結果は、従来の報告どおり免荷式受動歩行トレーニングが完全麻痺者には効果が無いことを支持する結果であった。しかし不全麻痺者では効果が得られ、それには大脳運動野と脊髄をつなぐ皮質脊髄路の伝達特性あるいは脊髄反射の強度変調が関与することが示唆された。昨年度の基礎実験結果は、受動歩行が足関節背屈筋の皮質脊髄路興奮性を増大させることを明らかにしている。本年度の結果はさらにそれがトレーニングによって増強することを示唆するものである。また今回の不全麻痺者の結果から、脊髄損傷をきっかけとして増大した脊髄反射強度もトレーニングによって低下され得ることを示すことができた。これは今後、リハビリテーションによる痙性など不随意運動の抑止と随意運動能力の回復メカニズム解明に関わる重要な結果であった。

Lokomat歩行時 磁気刺激 Sub 5: Th5 不全

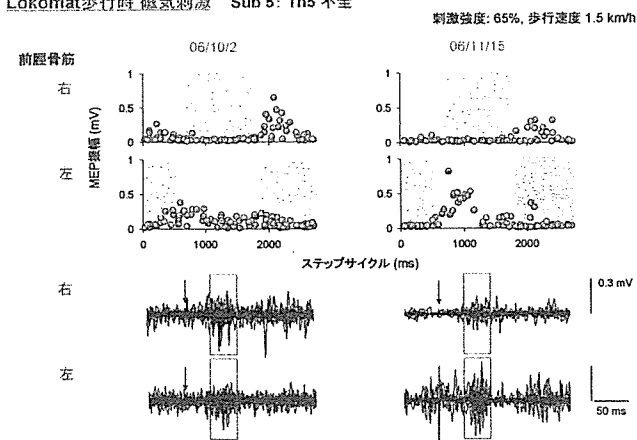


図2 不全麻痺者の受動歩行中TMSによるMEPの増大

#### E. 結論

平成18年度は6名の脊髄損傷者の歩行トレーニング実験を行った。不全麻痺者において皮質脊髄路機能

の回復、伸張反射の低下など神経学的改善と歩行の回復が観察された。

F. 健康危険情報  
特になし

G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- Higuchi Y, Kitamura S, Kawashima N, Nakazawa K, Iwaya T, Yamasaki M. Cardiorespiratory responses during passive walking-like exercise in quadriplegics. Spinal Cord, 44, 2006, p. 480-486.
  - Kawashima N, Taguchi D, Nakazawa K, Akai M. Effect of lesion level on the orthotic gait performance in individuals with complete paraplegia. Spinal Cord, 44, 2006, p. 487-494.
  - 中澤公孝. 歩行困難者への工学的支援. ウォーキング研究, 10, 2006, p. 31-35.
- #### 2. 学会発表
- 中澤公孝, 移動型受動歩行訓練機の開発. 第45回日本生体医工学会, 福岡, 2006-5-16.
  - 中澤公孝, 受動歩行中の皮質脊髄路の興奮性. 生体医工学会専門別研究会“脊髄損傷のME”, 岡山, 2006-5-18.
  - 中澤公孝, 上林清孝, 尾方寿好, 赤居正美. ロボット型歩行訓練機を用いた受動歩行の効果-神経系、呼吸循環系に対する効果-. 福祉工学シンポジウム2006, 柏, 2006-9-13.
  - 中澤公孝. 脊損者の最新歩行リハビリテーション-理論と実際-. 在宅リハビリテーション研究会レッツ講演会, 所沢, 2006-5-13.
  - 中澤公孝, 赤居正美. 移動型歩行訓練装置-その神経生理学的背景-. 日本リハビリテーション医学会, 東京, 2006-6-1.
  - 中澤公孝. ロコモーションにおける反射の役割. 第19回日本バイオメカニクス学会, 所沢, 2006-9-15.
  - 中澤公孝. 歩行困難者への工学的支援. 第10回記念日本ウォーキング学会シンポジウム“最近10年間に見られるウォーキング研究の進歩”. 東京, 2006-6-24.
  - 中澤公孝. 脊髄歩行パターン発生機構と脊損者の新しい歩行トレーニング. 東海リハ工学会, 名古屋, 2006-11-17.
  - 中澤公孝. シンポジウム“歩行と姿勢制御の神経機構はどこまでわかったか” 受動歩行中の皮質脊髄路興奮性. 第36回日本臨床神経生理学会, 横浜, 2006-11-29.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

1. 特許取得  
特になし

2. 実用新案登録  
特になし
3. その他



厚生労働科学研究費補助金（障害保健福祉総合研究事業）  
分担研究報告書

損傷脊髄神経における軸索伸張と髄鞘形成の分子メカニズムに関する研究

分担研究者 山本 真一 国立身体障害者リハビリテーションセンター研究所 主任研究官

研究要旨

再生医学に基づく細胞工学的手法により、上位信号の送り手側である損傷部位での軸索再生を計る。現在脊髄での神経軸索再生には神経細胞の再生力の賦活化と再生軸索周囲の環境の最適化が必要と考えられている。そこで細胞培養、動物実験モデルを用い、以下の課題を検討する。

- ①神経細胞の再生シグナルを神経軸索断端からの遺伝子導入によって活性化し、軸索伸長を促進させる。
- ②再生軸索の足場として最適な表現形を持つ細胞を損傷部に誘導する。

A. 研究目的

研究の分担として

脊髄・神経に対する細胞生物学的実験に基づく細胞工学的手法により、損傷部位での軸索再生促進を計る。

18年度目標として

脊髄運動ニューロン（神経細胞の再生力の賦活化）と髄鞘を形成するオリゴデンドロサイト前駆細胞（再生軸索周囲の環境の最適化）の初代培養系において、遺伝子導入実験などからその細胞内シグナル系を検討する。ラット脊髄圧挫モデルにおけるオリゴデンドロサイト前駆細胞の遊走を、組織学的に検討する。

B. 研究方法

- 1) 培養脊髄運動ニューロンに、各種細胞内シグナル分子を遺伝子導入する。
- 2) 培養オリゴデンドロサイト前駆細胞において、DNAマイクロアレイによる増殖関連の網羅的遺伝子解析を行う。
- 3) ラット脊髄圧挫損傷モデルを作成した。Olig2/BrdU 二重陽性細胞の遊走に着目して解析する。

（倫理面への配慮）

本研究所の「動物実験委員会」「遺伝子組換え実験安全委員会」の承認を得ている。

C. 研究結果

- 1) 脊髄運動ニューロンは、恒常活性化型MEK導入によって、BDNFと同様に軸索を伸長した。
- 2) DNAマイクロアレイによる解析から、Rapg4（別名EPAC2）などの増殖関連候補遺伝子を同定した。
- 3) Olig2/BrdU二重陽性前駆細胞の分布変化の解析からは、損傷部位へ向けての細胞遊走は確認されなかった。

D. 考察

- 1) 脊髄運動ニューロンのBDNFによる軸索伸長には、主にMEK-ERK経路が関与していると考えられた。
- 2) オリゴデンドロサイト前駆細胞の増殖においても、MEK-ERK経路が機能していると考えられた。
- 3) 内在するオリゴデンドロサイト前駆細胞の治療応用のためには、損傷組織内での前駆細胞数の損傷部への誘導も必要であると考えられた。

E. 結論

- 1) 脊髄運動ニューロンの初代培養系を確立し、BDNFの軸索伸長効果とその細胞内シグナルを検討した。
- 2) オリゴデンドロサイト前駆細胞の初代培養系を確立し、増殖に関わる細胞内シグナルを検討した。
- 3) ラット脊髄圧挫モデルにおいて、Olig2/BrdU二重陽性オリゴデンドロサイト前駆細胞の挙動を観察した。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表
  - Ohori Y, Yamamoto S, Nagao M, Sugimori M, Yamamoto N, Nakamura K, Nakafuku M. Growth factor treatment and genetic manipulation stimulate neurogenesis and oligodendrogenesis by endogenous neural progenitors in the injured adult spinal cord. *Journal of Neuroscience*, 26, 2006, p.11948-11960.
2. 学会発表
  - 荒居聖子, 緒方徹, 山本直哉, 中村耕三, 山本真一. Spinal Motor NeuronのBDNFによる軸索伸長効果と細胞内シグナル伝達. 第49回日本手の外科学会学術集会, 浜松, 2006-4-20/4-21. *日本手の外科学会雑誌*, 23(1), 2006, S71.

- ・ 大堀靖夫, 山本真一, 緒方徹, 荒居聖子, 伊藤順一, 上野高明, 山本直哉, 赤居正美, 中福雅人, 中村耕三. 損傷組織内で増殖するグリア前駆細胞からの脊髄再生誘導. 第25回日本運動器移植・再生医学研究会, 東京, 2006-9-23.

1. 特許取得  
特になし
2. 実用新案登録  
特になし
3. その他

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

# 研究成果の刊行物

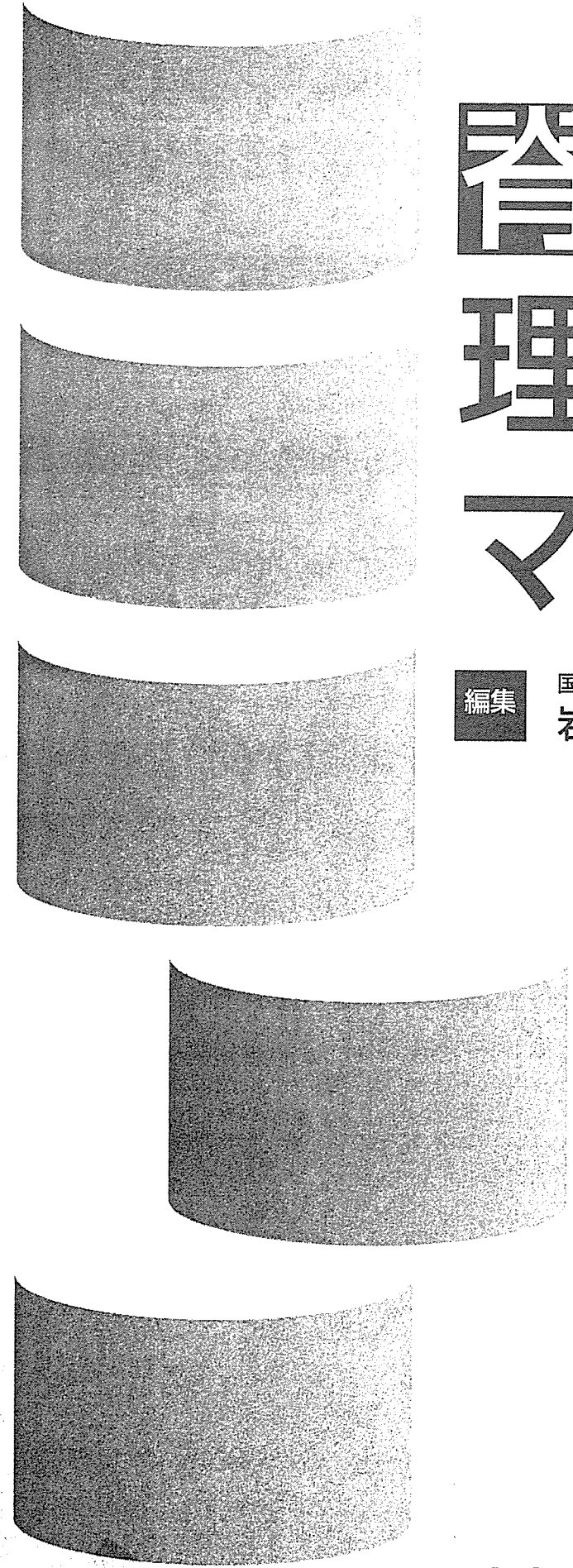
研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
緒方徹・ 赤居正美	神経再生	岩崎洋	脊髄損傷理 学療法マニ ュアル	文光堂	東京	2006	p. 341-343

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kawashima N, Taguchi D, Nakazawa K, Akai M.	Effect of lesion level on the orthotic gait performance in individuals with complete paraplegia.	Spinal Cord	44	p. 487-494	2006
Higuchi Y, Kitamura S, Kawashima N, Nakazawa K, Iwaya T, Yamasaki M.	Cardiorespiratory responses during passive walking-like exercise in quadriplegics.	Spinal Cord,	44	p. 480-486	2006
Ohori Y, Yamamoto S, Nagao M, Sugimori M, Yamamoto N, Nakamura K, Nakafuku M.	Growth factor treatment and genetic manipulation stimulate neurogenesis and oligodendrogenesis by endogenous neural progenitors in the injured adult spinal cord.	Journal of Neuroscience	26	p. 11948-11960	2006
中澤公孝	歩行困難者への工学的支援	ウォーキング研究	10	p. 31-35	2006



# 脊髄損傷 理学療法 マニュアル

編集

国立身体障害者リハビリテーションセンター  
岩崎 洋

文光堂

10



# 10 神経再生

## Open the door

- 脳や脊髄といった中枢神経系はひとたび損傷を受けると再生しない、と考えられてきた。しかし、近年中枢神経系にも再生能力があることが明らかになり、さまざまな手法を用いた神経再生の試みが基礎研究の分野でなされている。
- 一部の研究はすでに臨床への応用が検討されているが、実際にその有効性が検証され治療方法として確立するまでには相当の時間を要する。こうした現状はあるものの、さまざまな情報が脊損者を取り巻いているのが実状である。したがって、臨床の場面で脊損者からの新しい治療に関する質問に対し、適切に対応し本人の知識の整理を助けることが必要である。
- ポイントは次の4つである。
  - ① 脊髄損傷治療は急性期の神経保護、亜急性期神経再生、慢性期神経再生の3つに分類できる
  - ② 現在研究されている新しい治療法のほとんどは、受傷後1ヵ月以内での治療を想定した亜急性期神経再生に関するものである
  - ③ いかなる脊髄再生治療も補完的な理学療法なしには成立しない
  - ④ 臨床現場における脊髄再生治療

### ① 脊髄損傷治療は急性期の神経保護、亜急性期神経再生、慢性期神経再生の3つに分類できる (図1)

- 損傷後の脊髄内では挫滅による物理的損傷に続いて炎症反応による2次障害が損傷範囲を拡大させる。これを最小限にとめる治療が神経保護治療とよばれる。
- 現在、臨床で使用されているステロイド大量療法は神経保護治療に相当する。今後、炎症を抑制する薬剤、神経が細胞死に陥る過程を抑制する薬剤の利用が検討されている。
- 亜急性期は組織の可塑性(変化する余地)が高いため、治療への反応性がはやいと考えられている。
- 髄節レベルの運動機能回復には脊髄前角運動ニューロンの再生が必要であり、損傷髄節の上下をつなぐ索路(錐体路など)の回復には神経軸索の再生が必要となる。
- 慢性期に対する治療は現時点では亜急性期の治療の延長上に捉えられている。しかしながら、すでにできあがった瘢痕組織の除去、神経組織の可塑性の再獲得といった課題は大きい。

### ② 現在研究されている新しい治療法のほとんどは受傷後1ヵ月以内での治療を想定した亜急性期神経再生に関するものである (図2)

- 研究されている治療方法は大きく分けて、細胞補充療法、神経軸索伸張促進治療に分けられる。
- 損傷によって失われた組織を補うための細胞補充は、体外から補充する細胞移植治療と損傷脊髄内の細胞を賦活化する内在性細胞治療に分けられる。細胞移植に関してはさまざまな種類の細胞の補充が

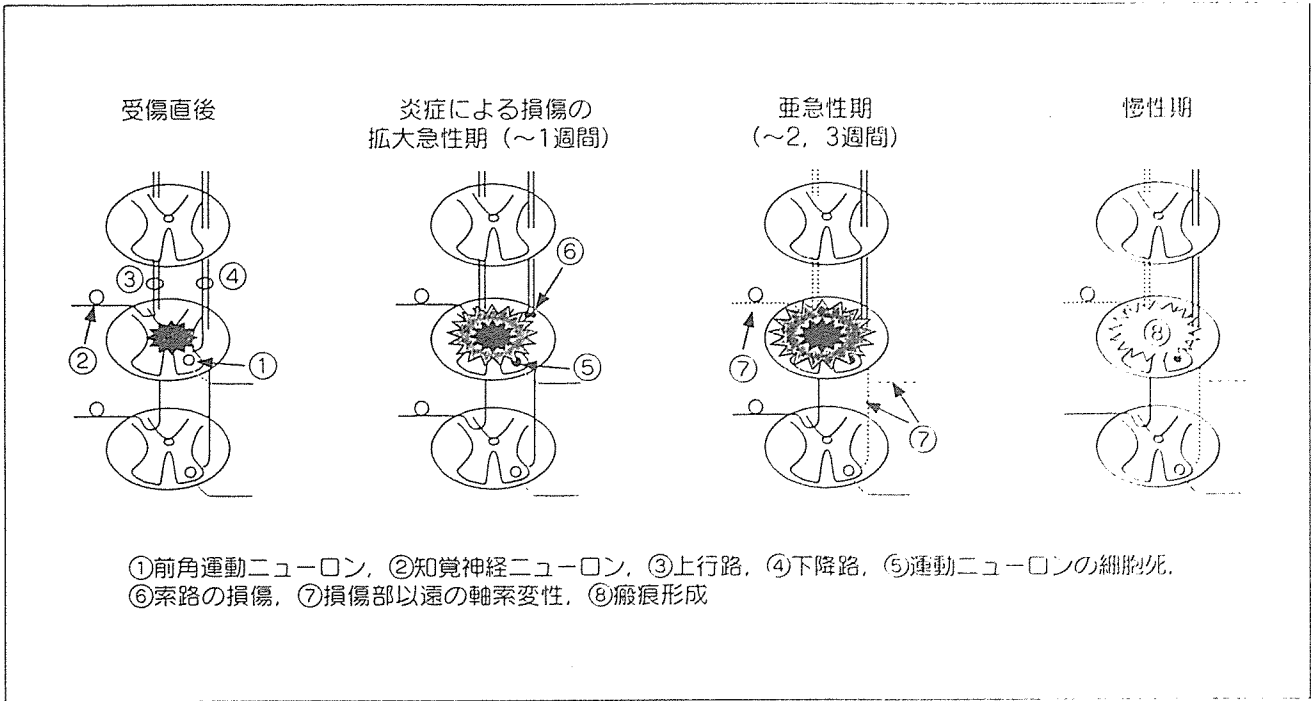


図1 脊髓損傷直後のプロセス

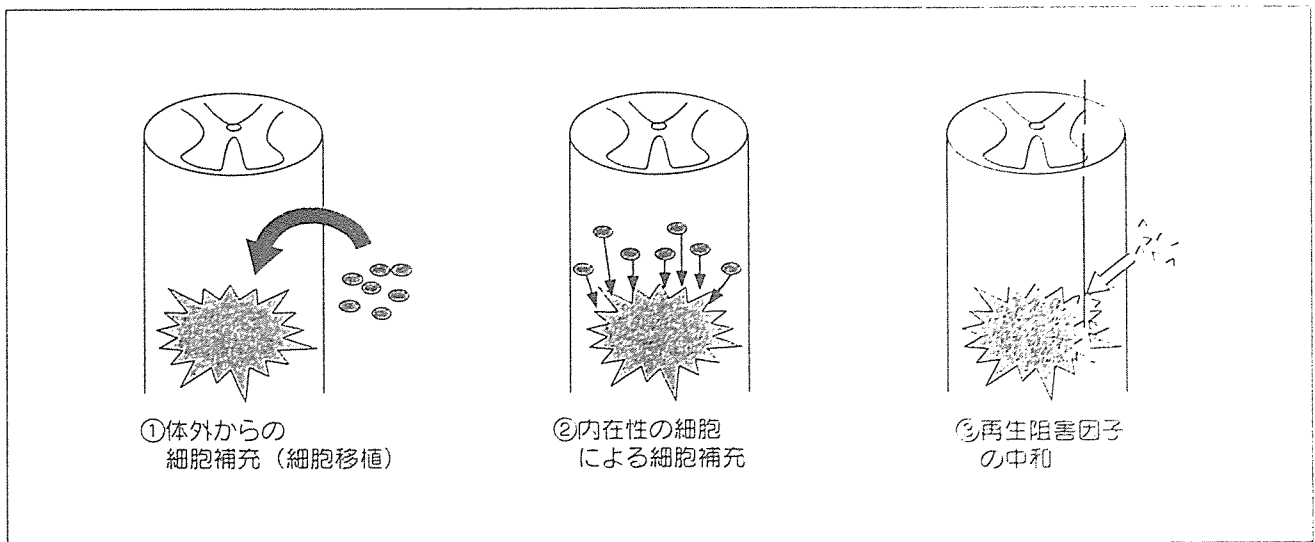


図2 亜急性期神経再生の構造

検討されているが、主には神経細胞またはグリア細胞である。

- 細胞移植の方法としては局所注入、硬膜内投与、静脈内注入が検討されている。
- 損傷脊髄内には軸索の再生を阻害する物質があるため、これを中和することで軸索再生を促進させることで索路の再生が試みられている。

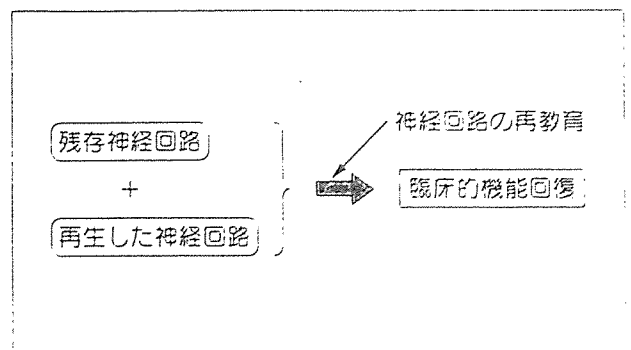


図3 神経回路の再構築

### ③ いかなる脊髄再生治療も補完的な理学療法なしには成立しない (図3)

- 細胞補充も軸索伸張も損傷した神経回路を再構築することを目指している。しかしながら、回路が構築されても有効に機能しなければ臨床的な機能回復は得られない。
- 神経が再生しても完全に元通りの回路になるとは考えにくい。したがって、残存神経回路と合わせ、理学療法などによる神経回路の再教育が必要である。
- 一方で理学療法自体にも脊髄神経再生を促進する作用があるとする実験結果も報告されている。
- 新たな治療体系の開発には脊髄再生治療とそれに対応した理学療法の確立が欠かせない。

### ④ 臨床現場における脊髄再生治療

- すでに海外においていくつかの再生治療が実際に行われており、今後日本国内も含め臨床治験が予定されている治療法がいくつか存在する。いずれも当面は限られた施設で行われる治療である。
- 海外の場合、治療法によっては情報が限られているものもあり、一概に海外で行われているから効果が確立した治療とはいえない。
- 脊損者から質問を受けた場合には、その治療の対象とする時期に当てはまるか（亜急性期か慢性期か）、治療の目的に合っているか（髄節レベルの再生か索路の再生か）を確認した上、専門機関への問い合わせをすすめる。

#### 文献

- 1) Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF, Holford TR, Young W, Baskin DS, Eisenberg HM, Flamm E, Leo-Summers L, Maroon J, et al. : A randomized, controlled trial of methylprednisolone or naloxone in the treatment of acute spinal-cord injury. Results of the Second National Acute Spinal Cord Injury Study, N Engl J Med. May 17, 322 (20) : 1405-1411, 1990
- 2) Iwanami A, Kaneko S, Nakamura M, Kanemura Y, Mori H, Kobayashi S, Yamasaki M, Momoshima S, Ishii H, Ando K, Tanioka Y, Tamaoki N, Nomura T, Toyama Y, Okano H. : Transplantation of human neural stem cells for spinal cord injury in primates. J Neurosci Res, Apr 15, 80 (2) : 182-190, 2005
- 3) Yamamoto S, Yamamoto N, Kitamura T, Nakamura K, Nakafuku M. : Proliferation of parenchymal neural progenitors in response to injury in the adult rat spinal cord. Exp Neurol, Nov, 172 (1) : 115-127, 2001
- 4) 緒方 徹, 山本真一, 田中 栄, 中村耕三: 脊髄損傷修復の試み. 整形・災害外科, 45 (12) : 1273-1277, 2002

(緒方 徹・赤居正美)



## Original Article

# Effect of lesion level on the orthotic gait performance in individuals with complete paraplegia

N Kawashima<sup>\*1</sup>, D Taguchi<sup>2</sup>, K Nakazawa<sup>1</sup> and M Akai<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Rehabilitation for the Movement Functions, Research Institute of the National Rehabilitation Center for Persons with Disabilities, Tokorozawa, Saitama, Japan; <sup>2</sup>Graduate School of Engineering, Shibaura Institute of Technology, Tokorozawa, Saitama, Japan

**Study design:** Cross-sectional, experimental research.

**Objectives:** To clarify the effect of lesion level on cardio-respiratory responses and biomechanical characteristics of walking with a reciprocating gait orthosis in complete paraplegia with spinal cord injury (SCI).

**Setting:** National Rehabilitation Center for Persons with Disabilities, Japan.

**Methods:** Ten SCI individuals (age: 20–34 years, injured level: Th5–12) who experienced orthotic gait training at least for 10 weeks participated in two experiments: (1) measurement of the cardiorespiratory responses during 20 min of orthotic gait exercise; and (2) three-dimensional motion analysis and ground reaction force measurement using the VICON system. We calculated the following parameters: pulmonary ventilation, oxygen consumption ( $\dot{V}O_2$ ), heart rate (HR), gait speed, cadence, stride length, crutch force (CF), hip range of motion (ROM), and hip angular velocity (VEL). Further, energy consumption and energy cost were calculated using the steady-state value of  $\dot{V}O_2$  and gait speed.

**Results:** The steady-state value of the  $\dot{V}O_2$  ( $18.2 \pm 3.80$  ml/kg) and HR ( $133.0 \pm 21.63$  b/min) tended to be larger in higher thoracic SCI subjects. There were strong positive correlations between the lesion level and walking speed ( $r=0.74$ ), energy cost ( $r=0.85$ ), and hip ROM ( $r=0.78$ ). On the other hand, negative correlation between the lesion level and peak CF ( $r=-0.78$ ) was clarified.

**Conclusions:** The physiological intensity of the orthotic gait strongly depended on the level of lesion. It seems likely that a limited hip range of motion and excess upper limb load result in the low energy cost of orthotic gait for the higher thoracic level of paraplegic patients.

*Spinal Cord* (2006) 44, 487–494. doi:10.1038/sj.sc.3101916; published online 21 March 2006

**Keywords:** spinal cord injury; orthotic gait; energy consumption; motion analysis; cardio-respiratory response

## Introduction

Orthotic gait exercise is usually prescribed for patients with spinal cord injury (SCI) in their therapeutic phase to promote their general health. Although the effectiveness of orthotic gait exercise is well recognized, there are several obstacles to achieve walking for complete paraplegic persons, in particular the high energy cost of the orthotic gait.<sup>1–5</sup> SCI persons inevitably require larger energy expenditure for orthotic gait because they need to produce complementary upper limb and trunk motion in order to swing their paralyzed lower limb.<sup>6–9</sup> Further, it can be pointed out that the neurological level

of paralysis considerably influences the achievement of orthotic gait motion and energy expenditure.

We have evaluated the energy expenditure during orthotic gait of thoracic level of SCI paraplegics, and suggest that, even with the higher level of lesion, the physiological intensity required was in a feasible range for cardiorespiratory function.<sup>10</sup> We have also found that subjects who had higher levels of lesion demonstrated relatively slower gait speed and a relatively higher physiological intensity. These findings confirm the clinical impression that higher thoracic SCI subjects have some difficulties in performing orthotic walking. Although physicians and therapists already know this because of their clinical experience, it is not clear to what extent the motor paralysis influences orthotic gait performance, and what is the primary reason for limited

\*Correspondence: N Kawashima, Department of Rehabilitation for Movement Functions, Research Institute, National Rehabilitation Center for Persons with Disabilities, 4-1 Namiki, Tokorozawa, Saitama 359-8555, Japan

gait performance for higher level SCI subjects. In the present study, we aimed to clarify the effect of injured level on the physiological intensity and biomechanical characteristics of orthotic gait on the complete paraplegic persons.

## Methods

### Subjects

Ten subjects with the thoracic level of SCI participated in this study. All subjects had complete motor paralysis in the lower limb muscles (ASIA classification; grade A or B<sup>11</sup>) and no history of cardiorespiratory disease. Criteria for participation of this study were (1) judged to be better general health condition and have adequate exercise tolerance at the health check, (2) no cardiovascular disease, and (3) had past at least a half year after injury. The characteristics of the subjects in detail are summarized in Table 1. All subjects had participated in the basic rehabilitation process, and had undergone at least 10 weeks of orthotic gait training using the advanced reciprocating gait orthosis<sup>®</sup> (ARGO). Each

subject gave written informed consent for the experimental procedure, which was approved by the local biological ethics committee of the National Rehabilitation Center for Persons with Disabilities (NRCD).

### Orthotic gait

Sequential pictures of walking with the ARGO are shown in Figure 1a. The ARGO has a single cable which connects both sides of the leg frame. With this device, a torque exerted by the right (left) hip joint is mechanically transmitted to the left (right) hip joint, resulting in the torque to the opposite direction exerted by the left (right) hip joint. Although there is individual variation, in many cases, paraplegic patients with injury to a lower thoracic level could walk after 10 weeks of gait training independently, while patients with injury at a higher thoracic level needed additional practice. After the training period, each subject could perform the orthotic gait (subjects F, H, and J still required light support to avoid falling) independently, and were able to walk continuously for at least 20 min.

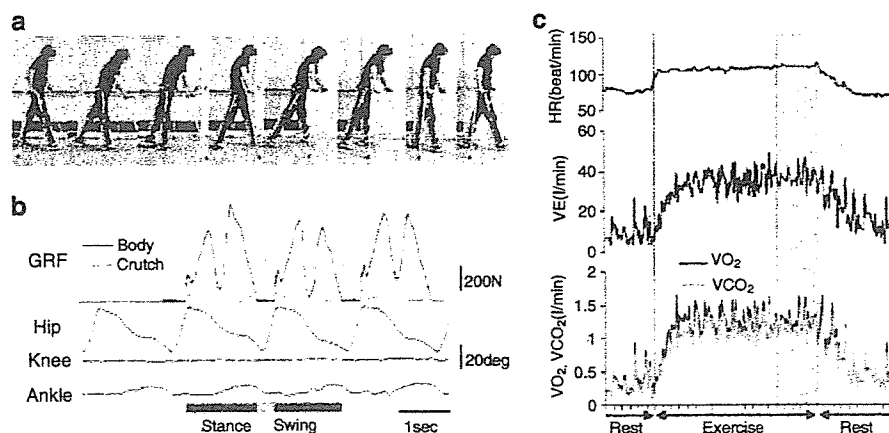
All subjects participated in two experiments on the separate day; one was the measurement of cardiorespiratory responses during 20 min of orthotic gait exercise, and another was the three-dimensional motion analysis with the use of the VICON system.

**Table 1** Characteristics of the SCI subjects

	Sex	Age (years)	Weight (kg)	Lesion level	Grade of ASIA	Duration of paraplegia (months)
A	M	30	67	Th12	A	32
B	M	25	79	Th12	A	28
C	M	26	80	Th12	A	16
D	M	29	72	Th11	B	12
E	F	27	45	Th10	A	18
F	M	32	74	Th10	A	10
G	M	30	74	Th8	A	22
H	M	22	65	Th7	A	30
I	M	34	54	Th6	A	36
J	M	20	53	Th5	B	28

### Measurement of the cardiorespiratory responses

Subjects were asked to abstain from alcohol and caffeine for at least 12 h before the experiment. The temperature and humidity during the experiment were  $23.5 \pm 4.2^\circ\text{C}$  and  $58.3 \pm 3.3\%$ , respectively. The experimental procedure was as follows: 3 min of rest in the standing position followed by 20 min of continuous walking at the most comfortable speed. The cardiorespiratory responses at rest and during walking were measured continuously with a telemetric device (K4-RQ Cosmed



**Figure 1** (a) Sequential picture of walking with the ARGO in a SCI subject (injured at Th12). (b) Time series data of the GRF (body and stick) and joint angle motion (Hip, Knee, and Ankle) obtained by the VICON system. (c) Typical example of the changes in the cardiorespiratory parameters during orthotic gait exercise

s.r.l., Rome, Italy) and were analyzed in real time. The telemetric device consisted of a transmitting unit, a facemask for sampling the expired gas, a heart rate (HR) chest strap, a battery, and a receiving unit. The following cardiorespiratory parameters were obtained: pulmonary ventilation (VE), oxygen uptake ( $\dot{V}O_2$ ), and HR. Typical example of the changes in the cardiorespiratory parameters during orthotic gait exercise was shown in the Figure 1b. The amount of time required to walk 10 m was recorded during the exercise period, and gait speed was calculated after the experiment. After the experiments, the energy consumption and energy cost were calculated. The terms adopted were those of Nene and Patrick,<sup>12</sup> and calculations were performed according to their protocol:

$$\begin{aligned} \text{Energy consumption (J/kg/s)} \\ = \frac{\text{Ambulatory min } \dot{V}O_2 \text{ (ml/min)}}{\text{Weight (kg)} \times 60} \times K \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Energy cost (J/kg/m)} \\ = \frac{\text{Ambulatory min } \dot{V}O_2 \text{ (ml/min)}}{\text{Speed (m/min)} \times 60} \times K \end{aligned}$$

where  $K=20.19 \text{ J/ml}$ , since  $1 \text{ ml } O_2=4.825 \text{ cal}$  and  $1 \text{ cal}=4.184 \text{ J}$ .

#### Motion analysis

Subjects performed orthotic walking along a 10-m walkway in the laboratory at least five times at a comfortable (self-determined) speed. In order to obtain the kinematics and kinetics variables of the orthotic gait, the gait motion was measured with a three-dimensional motion-analysis system (VICON 370, Vicon Motion Systems Ltd, Oxford, UK). The motion-analysis system consisted of a conventional video-analysis system with seven cameras and force plates (Kistler, Switzerland). The force plates,  $160 \times 450 \text{ cm}$  in size, consisted of two  $80 \times 200 \text{ cm}$  plates and four  $40 \times 250 \text{ cm}$  plates. These separate force plates enabled us to measure ground reaction forces (GRF) under the feet and canes on both sides, separately. A total of 17 markers were attached to the orthosis and to the body of the subject on the skin overlying the following marks: the vertex, both sides of the acromium (SHO), the lateral aspects of the hip (HIP), knee (KNE), and ankle (AKL) joints of the orthosis, the top of the great toe (TOE), the protrusion of the ulna at the elbow and wrist joint, and the tip of the crutch. We defined the hip angle as the angle formed by the SHO, HIP, and KNE, and the ankle angle as that formed by the KNE, AKL, and TOE, respectively. Typical time series data of the GRF (body and stick) and joint angle motion (Hip, Knee, and Ankle) obtained by the VICON system was shown in the Figure 1c.

We sampled 10-step cycles for the analysis. The following kinematic and kinetic variables were evaluated on the basis of the motion analysis: cadence, stride length, hip joint range of motion (ROM), hip angular

velocity (VEL), and crutch force (CF) (peak crutch force (PCF) and mean crutch force (MCF)). Cadence was calculated as the time required between heel contacts detected by the body GRF. Stride length was calculated as the distance of the toe marker between two consecutive gait cycles.

#### Statistics

Values were given as means  $\pm$  SEM. Pearson's product moment correlation coefficient was used to examine the relationship between the level of lesion and the kinematic and kinetic variables. Moreover, since the injured level is not strictly regarded as a parametric variable, we also examined this relationship using the Spearman rank-correlation coefficient. For this analysis, the parameters used were the average value for each subject. Significance was accepted at  $P<0.01$  and  $P<0.05$ .

#### Results

Figure 1a shows a sequential picture of walking with the ARGO, the typical waveform of the GRF of each body and of the opposite side of the crutch, joint motion (Hip, Knee, and Ankle) (Figure 1b), and the typical data of the cardiorespiratory responses (Figure 1c). As shown in this figure, dynamic hip joint motion and periodic load application appeared during orthotic gait. In the orthotic gait, in contrast with normal walking, the knee joint was held in an extended position throughout the locomotion cycle. Although the ankle was held by the plastic socket, angle changes were observed to some extent in the stance phase.

#### Gait speed

The average walking speeds calculated during field walking (during cardiorespiratory measurement) and laboratory walking (during motion analysis) were  $19.8 \pm 6.16$  and  $21.3 \pm 5.82 \text{ m/min}$ , respectively. There was a strong relationship between these variables ( $r=0.87$ ,  $P<0.01$ ). Therefore, in this study, the former value was used as the gait speed. Eight of 10 subjects were able to walk continuously for 20 min without a long break. Subjects H and J, who had relatively higher levels of injury, required rest intervals due to arm fatigue and a pressure on the heels of hands.

#### Cardiorespiratory responses during orthotic gait

Table 2 shows the cardiorespiratory responses at rest and the steady-state value during orthotic walking. In the subjects H and J, the resting value of the HR was much higher than in other subjects. This is presumably caused by a disorder of the autonomic nervous functions. As clearly shown in Figure 1c, cardiorespiratory parameters rapidly increased after the beginning of the walking exercise. HR reached a plateau level in the first few minutes, whereas some subjects with a higher level of lesion (subjects I and H) showed further

increases of HR during prolongation of the exercise. The steady-state value of HR ranged from 99.2 to 166.4 b/min (average value:  $130.0 \pm 21.63$  b/min). As with HR,  $\dot{V}O_2$  reached a plateau level about 3–4 min after the beginning of exercise. The steady-state value of  $\dot{V}O_2$  ranged from 14.91 to 24.83 ml/kg ( $18.17 \pm 3.80$  ml/kg), and this value is approximately 3–4 times the resting level.

The energy consumption and energy cost during walking were  $6.11 \pm 1.28$  J/kg/s and  $20.12 \pm 7.35$  J/kg/m, respectively (Table 3). Figure 2a shows the relationship between energy consumption (y-axis) and energy cost (x-axis) in each subject. As the walking speed was determined by dividing the energy consumption by the energy cost, the slope of the line from zero to each point plotted reflects the walking speed of each subject. It was found that the plots of persons with higher level injuries tended to shift to the right side, which signifies a relatively slower gait speed and a higher energy cost.

**Table 2** VE,  $\dot{V}O_2$ , and HR at rest and during orthotic gait exercise

	VE (ml/kg)		$\dot{V}O_2$ (ml/kg)		HR (beat/min)	
	Rest	Exercise	Rest	Exercise	Rest	Exercise
A	194.0	437.3	6.70	16.01	60.1	99.2
B	171.5	525.1	4.48	17.63	70.4	114.3
C	139.2	574.2	4.29	14.91	87.6	140.2
D	172.9	664.9	4.66	15.62	92.1	129.5
E	185.8	624.2	6.78	24.20	62.1	132.5
F	175.3	592.9	6.62	15.41	78.3	131.5
G	155.0	634.4	4.43	16.75	77.9	110.1
H	221.8	560.6	5.80	15.19	107.8	163.0
I	277.9	660.5	9.75	24.83	81.0	143.7
J	265.1	687.7	8.29	21.14	144.1	166.4
Mean	195.8	596.2	6.18	18.17	86.13	133.0
SD	45.61	75.67	1.83	3.80	24.78	21.63

In order to confirm the data reproducibility, we compared the energy consumption and energy cost evaluated at 2 and 3 months after the beginning of the training in six of 10 subjects (Figure 2b). Although these data include the training effect (improvement of the energy cost), data reproducibility can be well recognized from this figure.

*Kinematics and kinetics*

The parameters obtained from motion analysis are summarized in Table 3. Cadence and stride length were  $44.0 \pm 6.27$  step/min and  $97.4 \pm 16.36$  cm, respectively. Hip ROM was  $44.1 \pm 5.20$  deg. The angular velocities of the flexion and extension phases were  $124.3 \pm 11.56$  and  $21.7 \pm 7.12$  deg/s, respectively. Figure 3 shows the stick picture (top) and ensemble averaged waveform of the hip angle and GRF for both body and crutch during orthotic gait obtained from subjects A (injured at Th12) and J (Th5). As clearly shown in this figure, there are remarkable differences in the gait motion between the SCI subjects injured at a lower and higher level. This figure also shows good reproducibility of both hip motion and GRF during orthotic gait.

*Relationship between injury level and each parameter*

Table 4 summarizes the Pearson's product moment correlation coefficient ( $r_p$ ) and the Spearman rank-correlation coefficient ( $r_s$ ) between the injured level and each parameter obtained in this study. Figure 4 also shows the correlation diagram between the level of injury and with gait speed, energy consumption, energy cost, hip ROM, and mean GRF of the body and crutch. The parameters that showed strong relevance to the injury level were gait speed ( $r_p = 0.74$ ;  $P < 0.01$ ,  $r_s = 0.89$ ;  $P < 0.01$ ), energy cost ( $r_p = -0.88$ ;  $P < 0.01$ ,  $r_s = -0.92$ ;  $P < 0.01$ ), stride length ( $r_p = 0.79$ ;  $P < 0.01$ ,  $r_s = 0.78$ ;  $P < 0.01$ ), peak CF ( $r_p = -0.78$ ;  $P < 0.01$ ,  $r_s = 0.80$ ;  $P < 0.01$ ), and hip ROM ( $r_p = 0.78$ ;  $P < 0.01$ ,  $r_s = 0.77$ ;  $P < 0.01$ ). By evaluating the Spearman rank-correlation

**Table 3** All parameters calculated in this study

	Gait speed (m/min)	E consmp. (J/kg/s)	E cost (J/kg/m)	Cadence (step/min)	Stride length (cm)	Peak CF (N/kg)	Mean CF (N/kg/s)	Hip ROM (deg)	Hip fVEL (deg/s)	Hip eVEL (deg/s)
A	20.06	5.39	16.12	40.86	106.6	1.81	0.32	45.44	110.2	24.35
B	32.58	5.93	10.93	56.92	122.5	2.81	0.34	51.04	142.6	38.90
C	27.22	5.02	11.06	47.62	107.7	2.62	0.33	47.95	126.0	23.91
D	21.55	5.26	14.63	40.59	118.8	3.93	0.46	49.52	127.6	24.17
E	19.99	8.14	24.44	36.34	79.9	3.73	0.49	40.91	119.0	13.36
F	18.35	5.19	16.95	47.10	102.9	3.37	0.60	46.35	131.0	22.20
G	11.64	5.64	29.05	36.81	83.8	4.31	0.47	43.08	110.0	15.78
H	15.58	5.11	19.67	42.25	89.8	4.39	0.50	42.23	132.9	18.00
I	17.09	8.35	29.33	48.98	77.5	5.02	0.45	38.83	133.9	18.75
J	14.69	7.11	29.06	42.01	84.8	3.92	0.55	41.92	109.7	17.79
Mean	19.88	6.11	20.12	43.95	97.4	3.59	0.45	44.73	124.3	21.72
SD	6.16	1.28	7.35	6.27	16.36	0.96	0.09	3.98	11.56	7.12