

201317009A

厚生労働科学研究費補助金
障害者対策総合研究事業（身体・知的等障害分野）

脊髄損傷の個別診断による歩行訓練方法の
最適化に関する研究

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 緒方 徹

平成26(2014)年4月

目 次

I. 総括研究報告	
脊髄損傷の個別診断による歩行訓練方法の最適化に関する研究	1
緒方 徹	
II. 分担研究報告	
1) ヒト脊髄損傷者に対する部分免荷式歩行訓練	7
赤居 正美	
2) 脊髄損傷者の痙縮評価に関する研究	9
河島 則天	
3) 脊髄損傷者の残存脊髄回路に関する研究	13
中澤 公孝	
4) 頸部圧迫性脊髄症におけるバイオマーカーpNF-H値に関する研究	17
筑田 博隆	
5) 脊髄損傷に対する新規drug delivery systemによるSemaphorin3A阻害剤 投与とtreadmill訓練の併用による治療効果の検討	21
金子 慎二郎	
6) 痛みと神経リハビリテーション	23
住谷 昌彦	
7) 神経損傷バイオマーカー開発に関する研究	27
山内 淳司	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	31
IV. 研究成果の刊行物・別刷	33

厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業（身体・知的等障害分野））
総括研究報告書

脊髄損傷の個別診断による歩行訓練方法の最適化に関する研究

研究代表者 緒方 徹 国立障害者リハビリテーションセンター研究所 部長

研究要旨

本研究では、脊髄損傷患者に対して臨床現場で研究が進められている歩行訓練について、その歩行機能回復の神経メカニズムに基づいて、各症例にとって最適な訓練法選択をする体系の確立を目指したものである。脊髄損傷者の評価は血液バイオマーカーや画像を用いた神経回路そのものの状態（ハードウェア）と歩行に阻害的に働く脊髄反射による不随意的動き（ソフトウェア）の評価の両面から行った。

研究2年目は初年度から実施している、脊髄損傷者の急性期血液サンプル中の神経損傷マーカーpNF-Hのデータ収集と解析を継続することによって、不全麻痺の中でも重症度の識別がこの血中マーカーで可能なことを示唆するデータを得ることができた。また、ソフトウェアとしての評価の一環として脊髄反射亢進の表象である痙縮のみに関し簡便で定量性のある評価システムの開発をすすめた。これによってリハビリ現場で痙縮のある症例に対して実施されることの多い、ストレッチの効果や方法による差異を識別できるようになり、今後個々の症例に適したストレッチを提供するための基盤が構築されつつある。また同時に脊髄回路の機能評価として、頸部と腰部の神経回路同士をつなぐ、脊髄固有経路の評価方法を検討し、健常者におけるデータを得ることができた。

一連の評価法によってこれまで訓練効果の判定が困難であった不全麻痺の歩行困難症例に対し、既存の治療法による回復可能性についての予後予測がより正確にできるようになり、また、訓練開始時点での神経機能についてより正確な評価が可能になる。こうした訓練前評価の精度があがることで、ニューロリハビリテーション適応症例を選別し、その効果を判定することが可能になることが期待される。

研究分担者氏名・所属研究機関名及び所属研究機関における職名

- 赤居 正美
(国立障害者リハビリテーションセンター病院 院長)
- 河島 則天
(国立障害者リハビリテーションセンター研究所 室長)
- 中澤 公孝
(東京大学大学院総合文化研究科 教授)
- 筑田 博隆
(東京大学医学部附属病院 特任講師)
- 住谷 昌彦
(東京大学医学部附属病院 助教)
- 金子 慎二郎
(村山医療センター 医長)
- 山内 淳司
(成育医療研究センター研究所 室長)

海外で臨床試験が行われるなど、臨床への導入が進んでいる。しかし、この訓練の対象となる亜急性期の不全脊髄損傷者の病態は個人差が非常に大きく、訓練の適応基準については世界的に見ても定まっていない。こうした訓練前の適応判定・個別評価と訓練効果判定法の確立の遅れは、ニューロリハビリ分野のエビデンスの集積や訓練技術の普及の妨げになることが懸念され、客観性の高い評価体系の確立が必要とされている。

申請者らは脊髄損傷者に対する歩行ニューロリハビリ研究（障害対策総合研究事業H21-23）の成果から、歩行の再学習過程において下肢筋トーン（緊張度）や痙縮の程度が極めて重要であることを見出している(Kamibayashi, Nakazawa et al., Exp Brain Res, 2010)。また一方で、損傷によって失われた神経組織の量を血中に漏出する神経組織特異的蛋白質の測定によって推測し、その値から各症例の重症度と予後を推定する脊髄損傷バイオマーカー研究に着手しており、その有用性について報告している (Hayakawa, Ogata et al.,

A. 研究目的

脊髄損傷者に対するリハビリ分野では、残存する神経回路の再学習を通じて麻痺部位の機能回復を誘導するニューロリハビリが注目され、中でも歩行神経回路を活性化する部分免荷式歩行訓練は

Spinal Cord, accepted)。これら2つはそれぞれ脊髄神経回路における運動制御プログラム（ソフトウェア）と回路自体の状態（ハードウェア）を評価するアプローチとして位置づけることができ、今回申請者らはこれらを体系化することで脊髄損傷者の個別評価の問題を解決するという独創的な着想に到った。

本研究は、下肢の動きが残存するが実用歩行困難な不全脊髄損傷者を対象に、歩行再獲得をめざしたニューロリハビリへの適応判定と訓練プロトコル選別、さらに訓練効果判定の評価システムを構築することを目的としたものである。

B. 研究方法

本研究を開始するに当たり、課題を整理した。

- 1) バイオマーカー臨床データベースの構築（緒方、筑田、金子、山内）
- 2) 筋トーン・痙縮の客観的評価とそれに応じた訓練方法の作成（河島・住谷）
- 3) 固有脊髄経路の残存評価（中澤、河島）
- 4) 脊髄損傷症例に対する縦断的調査（赤居、筑田、金子）

1) バイオマーカー臨床データベースの構築

外傷によって損傷を受けた神経組織から漏出する細胞内蛋白を血液や脳脊髄液中で測定することで、その損傷度合いを推定しようというのがバイオマーカーの考え方である。不全脊髄損傷の訓練前評価という視点では、神経回路のハードウェア面での評価と位置付けられる。本研究では近年あらたにバイオマーカーとしての有用性が報告されている神経軸索損傷マーカーのpNF-H（リン酸化ニューロフィラメント）について検討する。分担研究者の筑田・金子によって脊髄損傷および、脊髄損傷に合併しうる疾患群でのpNF-H値のデータと臨床像の収集・解析が行われる。

一方、山内・緒方によってpNF-Hの値が示す生物学的な意義について基礎研究を含めた検討が行われる。

2) 筋トーン・痙縮の客観的評価とそれに応じた訓練方法の作成

神経回路のソフト面の評価の中で痙縮の存在は、歩行パターン形成に対する阻害因子として本研究

において特に重視している項目である。分担研究者の河島は痙縮の評価方法についての検討を行い、同時に住谷との連携の中で痙縮やその他の阻害因子に介入を行った際の歩行の変化について検討を進める。

3) 固有脊髄経路の残存評価

歩行訓練が想定される脊髄損傷者の多くは下位頸髄から胸髄レベルでの脊髄障害を有している。近年の基礎研究成果から損傷脊髄が機能回復を果たすためにはももとの運動指令伝達経路である皮質脊髄路の再生よりも、むしろ脊髄内の神経回路同士をつなぐ「固有脊髄経路」を運動指令伝達の迂回経路として利用する神経回路の再構築が重要であることが示唆されている。

そこで、平成25年度は神経回路の評価として固有脊髄経路の機能評価の手法を検討した。受動歩行による脊髄回路への感覚入力と経頭蓋磁気刺激による皮質脊髄路の活動誘導を組み合わせ、上肢と下肢の神経回路をつなぐ経路について評価可能であるかを検討した。

4) 脊髄損傷症例に対する縦断的調査

不全脊髄損傷に対する歩行リハビリは受傷後急性期から開始されることが望まれるが、重点的に行われるのは状態が安定し、2次的に転院した施設においてであることが多い。本研究では急性期病院での血液データによる重症度分類と2次病院での評価をもとに訓練法を最適化することを目指しているため、実際にどのような連携が行われるべきかについて検討が必要となり、分担の金子がそれにあたる。また臨床的に訓練を実施し、そのデータ分析結果を臨床のフィールドに反映させていく作業について赤居が分担することとなった。

（各検討項目の方法についてはそれぞれの分担研究報告書を参照）

（倫理面への配慮）

研究は国立障害者リハビリテーションセンター倫理審査委員会の承認を得た上で実施している（取得済）。血液データの収集は国立リハビリセンター以外の施設でも実施するため、それぞれの実施期間での倫理委員会の承認を癒えて実施している。

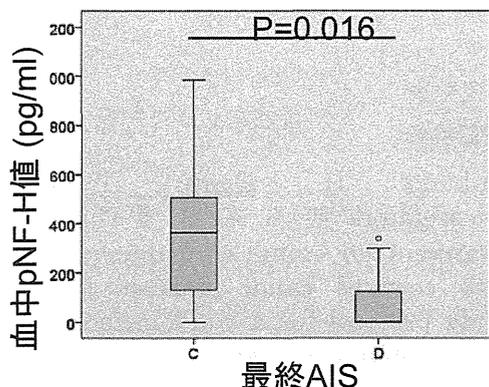
C. 研究結果

1) バイオマーカーのデータ収集は主に研究分担者の筑田と住谷によって実施された。計測の対象は急性期脊髄損傷、慢性期脊髄損傷にとどまらず、腰部脊柱管狭窄症、外傷性脳損傷、意識障害、認知機能障害など、多岐に及んだ。これは脊髄損傷が他の外傷と合併損傷を呈することが少なくないこと、および脊髄損傷症例の高齢化を受けて、受傷前から様々な疾患を有している症例が増加傾向にあることを考慮してのことである。これまでの結果から、神経損傷バイオマーカーpNF-Hは従来のマーカー（たとえばS100B）に比べ高い感度を有している反面、脳、脊髄、末梢神経のあらゆる神経組織の損傷を反映する可能性があり、特異度については注意が必要と考えられる。したがって、様々な神経疾患における血中pNF-Hの値の変化に関する知見は、今後この血液マーカーを臨床的に利用する上で、欠かせない知見となる。

平成25年度の検討でバイオマーカーpNF-Hについて新たに以下の知見が得られた。

・不全脊髄損傷におけるpNF-H値と予後予測

これまで慢性期に至るまで完全麻痺が続く症例は不全麻痺の症例よりも受傷早期のpNF-Hが高値である知見を得ていた。平成25年度までにさらに脊髄損傷症例のデータが蓄積され、不全麻痺（AIS CまたはDの症例）19例の臨床データと血液データを得ることができた。下図は受傷後3日目の血中pNF-H値をAIS Cの症例とAIS Dの症例に分けて示したものである。



通常、受傷後3日目の時点で将来的に実用歩行が可能になるAIS Dの症例と、そのレベルまで回復しない不全麻痺のAIS Cの症例を識別することは困難である。今回の結果は受傷後3日目の末梢血中のpNF-Hを計測することでその値が一定の値よりも高値であれば高率にAIS Cの症例になることが予見

されることを示している。

受傷後早期のニューロリハビリテーションの開発を念頭におく際、介入前の予後予測は治療効果判定の上で極めて重要な位置を占める。pNF-Hの計測は末梢血採血という簡便な方法で可能であることから、今後の治療法開発に大きく貢献すると期待される。

・頸椎性脊髄症におけるpNF-H値

近年、脊髄損傷に罹患する年齢層は高齢化しており、腰部脊柱管狭窄症や慢性脊髄圧迫など高齢者に頻度の高い慢性疾患が脊髄損傷に合併するケースも増えている。

分担研究者の筑田らは慢性的な脊髄圧迫から脊髄障害をきたし手術治療を要するに至った症例から術前後の血中pNF-H値データを収集した。その結果、慢性的脊髄圧迫病変を有する多くの症例では、脊髄の機能障害が生じていても末梢血中のpNF-Hは陰性であることが確認された。その一方、約2割の症例ではpNF-Hが陽性になっており、そうした症例では軽微な外傷をきっかけに短期間で症状が悪化している傾向が見られた。

今後さらなる検討を基に、慢性頸髄症の中に急性外傷の要素が含まれる症例を識別し、さらに治療法の最適化に結び付ける可能性が示唆された。詳細は分担研究報告書に記載する。

・pNF-Hの上昇メカニズム

pNF-Hが優れた神経障害マーカーになりうる可能性を示すデータが蓄積される一方で、どのような機序でpNF-Hが血中に放出されるのか、また血中濃度の変化はどのような生体現象を反映しているのか、という点についての知見は乏しい。今後、このマーカーが臨床診断の補助技術として成熟する為にもそうした知見は欠かせない。

分担研究者の山内はこうしたメカニズム解析のため、培養神経細胞を用いた神経損傷実験を行い、in vitroでpNF-Hの上昇を観察する実験系の立ち上げを試みた。

ラットより採取した後根神経節に対し、培養皿中での神経損傷実験を行ったところ、培養液中でpNF-Hが検出されるようになることが確認された。現段階ではまだ実験条件が安定しておらず、今後調整が必要である。

2) 筋トーン・痙縮の評価

分担の河島によって、簡便で定量性のある痙縮評価の機器・分析方法についての検討がなされた。初年度実施した足関節に他動的角度変化を加え、それによって生じる底屈力を測定する方法に加え、25年度は足関節に加える角度変化の速度を段階的に変化させ、それに応答する下肢筋活動を筋電図によって評価する手法を組み合わせた。

こうした客観的計測法による麻痺下肢の筋特性評価と現在臨床現場で用いられている徒手的評価法であるModified Ashworth Scoreを比較することで、より質的な診断を試みている。すでに16名の慢性期脊髄損傷者を対象とした横断的データ収集を終えており、データを解析中である。また、歩行訓練に先だって実施されることが多いストレッチングについて、その手技の差が筋特性に与える影響も同様の手法を用いて縦断的に調査を開始している。

3) 固有脊髄経路の評価

固有脊髄経路の検討は健常者を用いたデータを得た。下肢の動きをロコモットによって一定に保ちながらそれに合わせて意識的に随意指令を送る条件と、完全に受動的に下肢を動かされる条件とを設定した。その結果、下肢に対して随意指令を送った時のみ、上肢の神経活動に歩行周期と連動した変化が現れた。

このことは、下肢の歩行中枢と上肢の神経回路との間に連結性があることを示唆するものである。すなわち、こうした上肢の周期的な神経活動変化が得られるか否かによって脊髄腰膨大部と頸膨大部との連結性を評価できる可能性が示された。

近年の研究結果から、脊髄の再学習過程においては、皮質脊髄経路の可塑性や軸索伸長だけでなく、固有脊髄経路の再構築が重要であることが示唆されており、今回検討した手法はそうした可塑的変化の土台となる固有脊髄経路の残存度合いの評価に利用できると期待される。

4) 脊髄損傷症例に対する縦断的調査

平成25年度は実際の症例において訓練前の評価から受動歩行訓練の実施まで至る症例は得られなかった。これは適切な症例が少なかったことと、病院と研究部門との連携に時間を要したことに起因している。

その中で、分担研究者の赤居と金子によって、脊髄損傷後の歩行訓練におけるリハビリのメカニ

ズム研究、あるいは先進的なロボット技術の利用の可能性が検討された。訓練方法の選択は重症度と神経回路特性が、使用する訓練法の作用機序と対応しているかの確認が重要であることが指摘された。

D. 考察

研究二年目を総括すると、不全脊髄損傷者に対する血液バイオマーカーの知見が広がると同時に、pNF-H という比較的新しい神経損傷バイオマーカーに関し、世界的にも先駆的なデータが蓄積されている点が特記すべき点である。今後、脊髄損傷にとどまらず様々な分野への応用が期待される。

一方、脊髄損傷の神経回路特性の評価については痙縮の評価法と固有脊髄経路の評価法の検討がなされた。一部はまだ健常者での検討にとどまっているが、研究最終年度には脊髄損傷者におけるデータ収集が実施されることが期待される。

当該年度は実際の歩行訓練を行う症例はなかったが、その準備段階として利用する技術の精度向上とデータの蓄積が進んだと言える。

E. 結論

バイオマーカーpNF-Hに関する治験の収集が進んだと同時に、各種の不全脊髄損傷評価法が開発された。今後、そうした技術が実際の不全脊髄損傷者に対する訓練に利用可能となることが最終年度へ向けての目標である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Chikuda H, Ogata T, OSCIS investigators(他 6 名 3 番目), Optimal treatment for spinal cord injury associated with cervical canal stenosis (OSCIS): a study protocol for a randomized controlled trial comparing early versus delayed surgery. *Trials*. 2013 Aug 7;14:24
2. Uchida S, Ogata T, Kataoka K(他 6 名 5 番目), In vivo messenger RNA introduction into the central nervous system using polyplex nanomicelle. *PLoS One*. 2013;8(2):e56220.

2. 学会発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

1. 緒方徹. 神経損傷バイオマーカー pNF-H の臨床応用, 第 42 回日本脊椎脊髄病学会, 沖縄, 2013/04/25-04/27. 脊椎脊髄病学会抄録集, 2013, p. 207.
2. 緒方徹, 早川謙太郎, 筑田博隆, 田中栄. バイオマーカー pNF-H の臨床的意義, 第 28 回日本整形外科学会基礎学術集会, 2013/10/17-10/18, 千葉. 日整会誌, 87 (8), 2013, p. S1286.
3. 早川謙太郎, 田中栄, 赤居正美, 緒方徹. マウス脊髄損傷モデルにおける自然免疫 preconditioning の効果, 第 28 回日本整形外科学会基礎学術集会, 2013/10/17-10/18, 千葉, 日整会誌, 87 (8), 2013, p. S1428.
4. 緒方徹. Gait Rehabilitation for Spinal Cord Injury Patients, the 2013 annual international symposium on rehabilitation, 2013/11/21, ソウル, 韓国, 抄録集
5. Hamanoue, M., Ogata, T., Nakajima, K., Takamatsu, K. Examination of therapeutic development for chronic spinal cord injury

by microglial activation. Neuriscience2013, Sun Diego, USA, 2013/11/09-11/13. Proceedings, 2013, 133.10/E44.

6. Hayakawa, K., Ichihara, Y., Nagao, M., Akai, M., Tanaka, S., Ogata, T. The effect of lipopolysaccharide preconditioning in mouse model of spinal cord injury. Neuriscience2013, Sun Diego, USA, 2013/11/09-11/13. Proceedings, 2013, 341.09/Z14.

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得
無
2. 実用新案登録
無
3. その他

厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業（身体・知的等障害分野））
分担研究報告書

ヒト脊髄損傷者に対する部分免荷式歩行訓練

研究分担者 赤居 正美 国立障害者リハビリテーションセンター病院 病院長

研究要旨

脊髄損傷者に対する歩行訓練の中で、神経回路の可塑性を引き出すことを目的とする「ニューロリハビリテーション」として注目されている。本分担研究はニューロリハビリの一つである部分免荷式歩行訓練を検討した。近年、この分野ではロボット機器を用いた訓練方法が提唱されていることを踏まえ、先端的な機器の使用について検討した。

A. 研究目的

脊髄損傷者に対する歩行訓練の中で近年、神経科学の知見をベースとしてリハビリテーションによって神経回路の機能を高める手法が「ニューロリハビリテーション」として注目されている。歩行機能は本来すべてが随意指令によって行われるのではなく、無意識下でかなりの部分がまかなわれている。現在では歩行の動きを生み出す神経回路が脊髄に存在することが明らかになっており、電気刺激などによって脳からの指令なしでも歩行様の筋活動を下肢にもたらすことが示されている。この神経回路をCentral Pattern Generator (CPG)と呼び、脊髄損傷者においてCPGを活性化させることが歩行機能再建の重要なポイントとなっている。部分免荷式トレッドミル訓練は患者をハーネス固定によって10-40%の免荷を行い、その上でトレッドミル上で歩行するものである。さらに下肢の歩容が生理的な歩行パターンから逸脱している、あるいは足の振出しそのものが困難な症例に対しては、徒手的あるいはロボットによって下肢の動きを誘導する手法が組み合わされている。これまで、文献的にもまた当院での経験でもこうした訓練によって歩行速度の向上などの機能向上が得られることが確認されている。

しかしながらすべての脊髄損傷者においてこの手法が有効とは言えず、また症例によっては通常の訓練（平行棒などを用いた立位バランス・歩行訓練）によって十分な歩行機能改善が得られることも知られている。したがって、部分免荷式トレッドミル訓練の適応を考える上で、どのような麻痺や神経症状を呈する症例にこの訓練が有効であるかを定義することが重要となっている。

先の厚生労働省科研費「脊髄損傷後の機能回復のための新たなニューロリハビリテーション法の開発」（研究代表者：赤居正美）において我々は外骨格系ロボット「Lokomat」を用いた部分免荷受動歩行訓練によって不全麻痺脊損症例の歩行機能が改善していく過程で下肢拮抗筋間の共収縮が軽減していくことを観察した。拮抗筋は生理的には互いに活動を抑制しあうことで効率的な動きを生み出すよう制御されており、拮抗筋間の共収縮の存在は不意随意的筋活動、痙縮として臨床的に観察される。したがって、訓練前にこうした痙縮が強くみられる症例が部分免荷式訓練の良い適応であるという仮説が導かれる。平成24年度からの研究ではこうした訓練前の状態の

評価と訓練によって得られる効果とを対応付けることによって訓練体系全体を整備することを目指している。

本分担研究において、平成24年度は実際のヒト脊髄損傷患者に対する部分免荷受動歩行訓練を行うとともに、訓練によって変化する神経活動のパラメータを確認し、それらを訓練後の歩行機能の改善と対応付ける作業を行う。

B. 研究方法

1) 対象者

国立リハビリテーション病院にリハビリ目的で入院する脊髄不全損傷者を対象として想定した。既存の訓練方法で実用歩行機能獲得がある程度見込まれる症例を主たる対象と想定した。

2) 訓練機器の検討

当該施設に設置されている外骨格系歩行アシスト機器ロコマットおよび本田技研製造の歩行アシスト器を訓練に使用することを検討した。

3) 結果および考察

病院と研究部門との連携を図ったものの、年度内には訓練実施に至る症例はおらず、使用機器についても検討のみに終わった。

新たに検討したホンダ歩行アシストは骨盤部から伸びた両大腿バーによって下肢の動きが大腿部においてアシストされる機能を有している。これまで当該研究にて用いてきたロコマットと比較すると、

- ・抗重力を支える機能、免荷機能がない
- ・アシスト・トルクは弱く、それのみで下肢の歩行用動作を作り出すものではない。
- ・アシストの駆動が、ロコマットにおいては事前に組まれたプログラムに沿って強制的に下肢を動かすのに比べ、ホンダ歩行アシストでは片側の足の動きに反応して反対側の足の動きをアシストする機構となっている。したがって、ある程度随意的に下肢を動かせる症例に限定される。

といった相違点が挙げられる。ただし、両者には機器の使用によって歩行の神経回路である、脊髄歩行中枢の働きを高めるという作用機序において共通する点がある。

機器をリハビリ訓練に使用する上で重要なポイントは機器を用いた後にそれを離脱することができるか。すなわち、訓練によって身体機能に変化が生じ、それが訓練後も残存することが見込めるか、という点である。ニューロリハビリテーションにおいては、そうした作用機序として神経の可塑性、学習効果を想定する点が特徴ともいえる。

これまでのロコマットを用いた訓練研究の結果から受動的歩行訓練によって脊髄歩行中枢の働きが強化される知見が得られており、一連の研究の基盤となっている。現在のところホンダ歩行アシスト器を用いることで脊髄歩行中枢の強化が得られるかについては明らかではないが、この機器は歩行の左右対称性を保持する方向に下肢の動きを保とうとするシステムを有することから十分にその可能性が考えられる。

ただし、前述のようにホンダ歩行アシストには抗重力機能がなく、また随意的な下肢の動きを前提としていることから、ロコマットで対応可能な症例よりも全体的に軽症例が対象となることが想定される。あるいはロコマット訓練を先行して行い、可能なレベルに達した後、ホンダ歩行アシストを用いた訓練に移行する、というプロトコルも考えうる。

今後、様々な歩行アシスト機器が開発されることから、リハビリプロトコルと機

器の作用原理とを対比させたいうえでの利用が重要であると考えられる。

E. 結論

ヒト慢性期脊髄損傷患者に対して部分免荷式受動歩行訓練におけるロボット機器の利用を検討した。次年度に引き続いて訓練実施とデータ収集を行う。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
特になし

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

脊髄損傷者の痙縮評価に関する研究

研究分担者 河島 則天 国立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

脊髄損傷者に対する歩行訓練の中で、神経回路の可塑性を引き出すことを目的とする「ニューロリハビリテーション」として注目されている。神経の可塑性を考える上で、訓練前の神経回路の状態を知ることは極めて重要であり、脊髄損傷者の場合、感覚・随意運動の他に痙縮の程度が重要であることがこれまでの検討で明らかとなっている。本分担研究ではこうした痙縮を簡便にかつ定量的に評価する手法を開発することを試みた。足関節の角度を段階的に変化させ、その力学的応答を記録することで、足関節周囲のスティフネスを測定した。得られた結果を脊髄損傷受傷からの経過時間と比較すると痙縮がみられる群ではスティフネスのパラメータと受傷からの経過時間との間に相関を認めた。この結果は足関節周囲のスティフネス測定が脊髄損傷者の臨床的変化を定量的に捉える手法になりうることを示唆している。今後、詳細なデータの解析により痙縮の評価につながる特性を抽出する。

A. 研究目的

脊髄損傷者に対して、神経の可塑性原理に基づいて訓練を実施するニューロリハビリテーションにおいて、神経回路の状態を正確に把握することは極めて重要となっている。H21-23年に行われた厚労科学研究「脊髄損傷後の歩行機能回復のための新たなニューロリハビリテーション方法の開発」において慢性脊髄損傷患者に対して部分免荷式受動歩行訓練を実施したところ、多くの症例で歩行の改善を認め、同時に自覚的・他覚的な痙縮の改善を得る結果となった。この結果は訓練効果が歩行の神経回路を賦活化すると同時に、歩行の障害要因である痙縮を軽減した結果もたらされていることを示唆している。すなわち、訓練前に一定の痙縮が存在する症例はこうした受動歩行訓練の良い適応であると考えられる。昨年度の研究成果として、脊髄損傷者の麻痺領域の関節スティフネス（他動トルク）の特性を検討し、痙性の有無や受傷後経過月数によってその程度が異なることを明らかにした。本年度はさらに検討を進め、麻痺筋の長さ変化を超音波計測によって直接的に検討することとした。

B. 研究方法

1) 被験者
 受傷後少なくとも1年が経過している慢性期脊髄損傷SCI患者10名 (age: 36.3±10.5[year], height: 173±7[cm], weight :65.6± 7.50[kg]) , 健常成人男性 (Normal: NOR) 10名 (age: 32.4± 9.77[year], height: 170±4.74[cm], weight: 63.5±5.84[kg]) を対象とした (Table.1参照) . 実験実施に先立って、本研究の内容やプロトコルについて国立障害者リハビリテーション研究所の生物医学倫理委員会の承認を受け、被験者のインフォームド・コンセントを得て行った。

2) 計測システム構成

図1 に実験に用いた足関節他動運動装置 (A) および装置のフットプレート部の構造 (B) を示す。はじめに、被験者の足関節を、膝・足関節角度90度にて装置のフットプレートに固定した。また実験中の姿勢のずれを最小限に抑えるため、被験者の体幹及び大腿部をストラップを用いて装置に固定した。装置の回転軸部分に取り付けたポテンシオメータから足関節角度を、フットプレートに取り付けたロードセルから他動トルクを算出した(3)。足関節動作中に、超音波画像装置(Ultrasound system M2410A)のプローブを内側腓腹筋 (Medial Gastrocnemius: MGAS) にあて、超音波画像を取得した。測定位置は大腿骨外顆から下腿長の30[%]の位置とし、筋厚 (Muscle Thickness:MT) の変化が少な

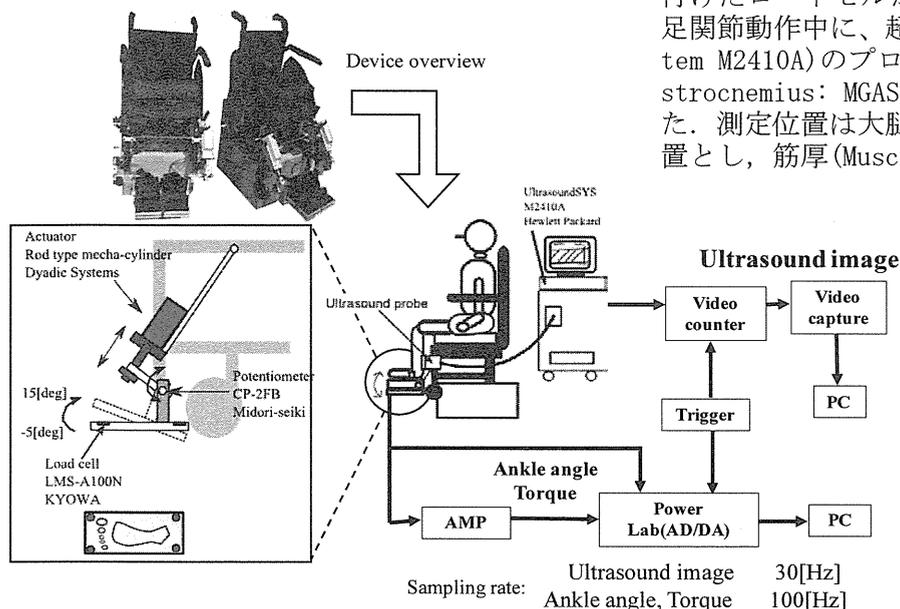


図1 実験セットアップ

い筋腹中央付近とした。同様にMGASのMTJ動態が確認できる位置にプローブを当て、超音波画像を取得した。アクチュエータによる受動運動の開始と同時にビデオカウンターに同期トリガを入れ、超音波画像装置と同期させた。足関節角度と反力を100[Hz]、超音波画像を30 [Hz]でサンプリングした。

3) 実験課題

被験者の足関節を、足関節角度90度(水平0度)を基準とし、底屈10度~背屈20度まで、5度/秒で6回底背屈動作をさせた。被験者には、実験中は安静座位を保つよう指示を与えた。

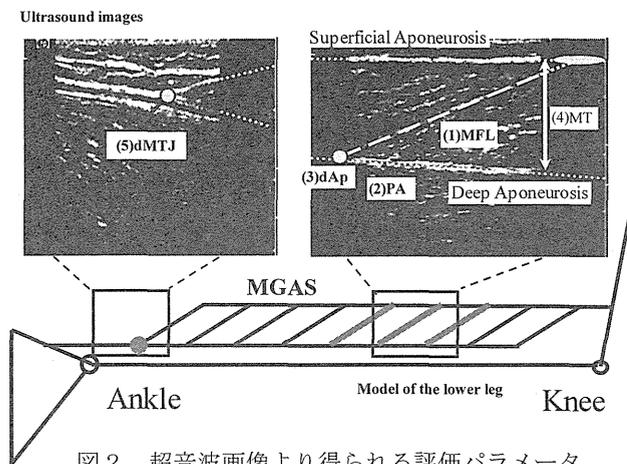


図2 超音波画像より得られる評価パラメータ

4) 解析

ビデオキャプチャを用いてPC上に表示された超音波装置の動画をMPEG形式で保存し、ピクセル座標化を行なった。解析項目は(1)筋線維長(MFL)、(2)羽状角(PA)、(3)筋線維と深部腱膜の交点の変位(dAP)、(4)筋厚(MT)、(5)MGASの遠位端とアキレス腱の接合部の変位(dMTJ)であった。MGASの筋腹画像では、MFL、PA、dAP、MTを取得し、筋形状の評価にはMFLとPA、MTを用いた。筋線維と深部腱膜がなす角度をPAとし、浅部腱膜と深部腱膜の間の距離をMTとした。背屈他動運動中には、MFL、PA各々の変化と、dAPを計測し評価に用いた。なお、背屈他動運動動作では、SCI群、Normal群共に随意的な筋活動が発生する可能性のある1回目を除き14回分加算平均した。また加算平均したデータを最小二乗法により3次関数で近似し、その導関数を各プロファイルの足関節角度変化に対するスティフネスの指標として導関数の最大値、及びその時の足関節角度を解析した。以上の指標を用いて、SCI群とNormal群で比較を対応の無いt検定を用いて行った。有意水準は $P < 0.05$ とした。

C. 研究結果

足関節角度変化に対する受動トルクを図3に示した。両群とも、足関節背屈にともない、受動トルクが増加した。本研究における足関節の可動域で最大背屈位である背屈15 degでは、有意差は認められないもののSCI群の方がNormal群よりも高値を示す傾向にあった。また、SCI群はNormal群と比較して分散が大きかった。足関節角度変化に対するMFL変化、PA変化、dAP、dMTJ、を図4に示し

た。足関節背屈にともない、両群ともMFLが増加した。Normal群では、背屈5 deg付近までMFLの増加はみられなかったが、足関節が背屈5 deg以降は直線的な増加を示した。また、SCI群は他動運動初期の足関節底屈位からMFLは増加し、足関節角度が背屈位になると、MFLの変化量が増加した(図4a)。

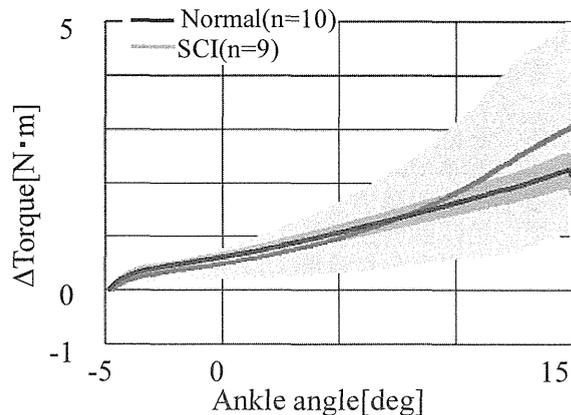


図3 足関節角度と関節トルクの関係性

また、足関節背屈にともない、両群ともPAが減少した(図4b)。Normal群では、背屈位になるまでPAの減少はみられなかったが、足関節が背屈5 deg以降は直線的な減少を示した。一方、SCI群は他動運動初期の足関節底屈位からPAは減少した(図4b)。足関節運動にともなうdAPにおいて、Normal群では、背屈位になるまで変化しなかったが、足関節が背屈5 deg以降でその変化量は増加した。一方、SCI群は他動運動初期の足関節底屈位からdAPは増加した(図4c)。足関節運動にともなうdMTJでは、Normal群、SCI群ともに、他動運動初期の足関節底屈位から増加した(図4d)。足関節角度が背屈位になるにつれて、Normal群の方がSCI群よりも高値を示す傾向にあった(図4d)。

D. 考察

脊髄損傷者では、足関節の受動的背屈に対するMFL、PA、dApの変化がより早い段階から生じる傾向にあった(図4)。本研究の対象者は両群とも同等の身体特性であり、両群に対して膝関節を固定した状況下で等しい足関節角度変位を与えていることから、筋-腱複合体全体(下腿部)の伸長量は同じと仮定できる。また膝関節の位置が固定されていることによりMGAS近位端の位置が一定だとすると、MTJの変位(MGASの遠位端の伸長)がMGAS全体の伸長を表しているものと考えられる。本研究ではMTJ変位の動態に両群で顕著な差が見られなかったことから、MGAS全体の伸長量、動態はSCI群、Normal群共に大きな変化は生じないものと考えられる。腱、腱膜、筋線維それぞれが異なる伸長性を持つことは既に先行研究で明らかにされていることから、本研究の結果は運動麻痺後の筋-腱組織の伸長性の変化が部位毎に異なることを示唆している。

SCI群とNormal群で受動トルクの最大値、動的特性に有意な差は無かったものの、背屈角度が増加するにつれ、SCI群の受動トルクがNormal群よりも大

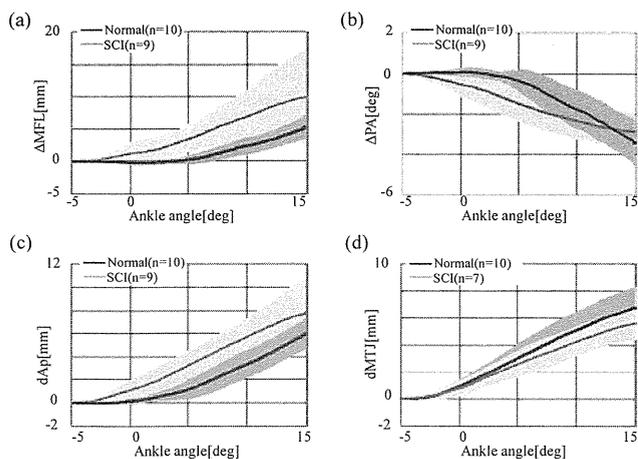


図4 関節角度変位に対する各パラメータの変化

きくなる傾向が見られた。この結果から、他動的な足関節背屈時には、健常者では他動運動初期に腱、他動運動後期に筋が受動トルクの増加に貢献しているものと推測される。一方で脊髄損傷者は、既述のように筋線維、または腱膜の弛みが減少することにより、他動運動初期から筋線維が伸長され、他動運動後期では健常者にくらべMFLがより伸長される結果、高いトルクを発揮するものと予測される。今回の実験ではSCI群の損傷部位や経過年数、痙縮の強さなどを厳密に統一していないため、SCI群の分散が大きく、Normal群との受動トルク発揮に有意な差を認めなかったが、さらに脊髄損傷者を下位区分し、上記要素毎の影響を検討することで、運動麻痺後の受動トルクに影響を及ぼす要因が詳細に検討できるものと期待される。また受傷後のリハビリ、日常での運動頻度なども筋-腱の伸長特性や受動トルク発揮に大きく影響する可能性がある。これらの点については今後の課題である。

E. 結論

本研究は脊髄損傷者（SCI群）と健常者（Normal群）の内側腓腹筋の筋-腱の構造特性、背屈他動運動を行なった際の筋-腱動態を超音波画像法により計測し、比較した。その結果、安静状態では脊髄損傷者において健常者よりも小さい羽状角、筋厚を持つことが明らかになった。また脊髄損傷者では健常者よりも小さい背屈角度で筋線維、羽状角、腱膜の変化が開始されることが明らかになった。本研究で示されたこれらの結果は、脊髄損傷後の麻痺領域の筋構造、筋の伸長性などの機械

的特性の変化を反映しており、運動麻痺後に生じる関節拘縮や廃用性変化の発現機序の解明や、これらを抑止する有効なリハビリテーション方法を考案するための有用な資料となるものと考えられる。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 河島則天 ヒトの立位・歩行を支える神経調節システム 日本フルド・ワーカーシステム学会論文集44(6): 333-5, 2013
2. 河島則天、緒方徹 脊髄損傷者の歩行機能回復に向けた新しいビジョンー神経の再生・修復から歩行機能回復までー 脊髄外科Vol.27(2), p1 25-129, 2013
3. 河島則天、小川哲也、緒方徹、赤居正美、中澤公孝 動力歩行装置Lokomatを用いた歩行リハビリテーション リハビリテーション医学 vol. 50(7)495-499, 2013
4. Ogawa T, Kawashima N*, Ogata T, Nakazawa K. Predictive control of ankle stiffness at heel contact is a key element of locomotor adaptation during split-belt treadmill walking in humans. J Neurophysiol 111(4): 722-732, 2014 *Corresponding Author
5. Akahira H, Yamaguchi Y, Nakazawa K, Ohta Y and Kawashima N*. Novel gait orthosis for SCI patients with motor-assisted knee flexion. J Novel Physiotherapy S1:004, 2013 *Corresponding Author

2. 学会発表

1. 河島則天 歩行運動の適応性と学習性 日本理学療法協会・神経理学療法部門研修会2013.11
2. Kawashima N, Nakazawa K. Preservation of the spinal locomotor function due to 12 years of sustained effort of orthotic gait rehabilitation in an individual with complete spinal cord injury. 43rd Annual meeting of Society for Neuroscience (SanDiego, USA) 2013.11

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
特になし
2. 実用新案登録
特になし
3. その他

脊髄損傷者の残存脊髄回路に関する研究

研究分担者 中澤 公孝 東京大学大学院総合文化研究科 教授

研究要旨

脊髄損傷者に対する歩行訓練の中で、神経回路の可塑性を引き出すことを目的とする「ニューロリハビリテーション」として注目されている。神経の可塑性を考える上で、訓練前の神経回路の状態を知ることは極めて重要であり、脊髄損傷者の歩行の場合、脳からの指令をどのように脊髄歩行中枢に伝達し、これを駆動できるよう可塑性を誘導するかが訓練の目標となる。従来から重要と言われてきた皮質脊髄路に加え、近年では脊髄固有路も重要であることが分かり、ヒトにおけるその評価が着目されている。本研究では電気生理学的手法を用いて脊髄固有路の状態を評価する方法を検討する。本年度は健常者を対象に頸部神経回路と腰部神経回路をつなぐ経路の評価を試みた。こうした評価手法の開発によって、仮に臨床的に両下肢完全麻痺の症例であっても、損傷部を越えた脊髄回路の機能的連続性が示される可能性が考えられる。

A. 研究目的

脊髄損傷に対するニューロリハビリテーションは脊髄回路の連結性の変化（可塑的変化）を誘導することを目的としており、その中には損傷部周辺での神経軸索の突起伸長や、軸索からの側枝の形成といった変化も含まれる。下肢の機能回復の視点からは、随意指令を皮質から四肢に伝える皮質脊髄路が重要であることが広く認識されている。ただし、歩行においては近年歩行中枢の存在が脊髄内で示されており、歩行の随意指令は下肢の歩行動作をすべて制御するのではなく、歩行動作プログラムが組み込まれている腰膨大部周辺の脊髄歩行中枢（central pattern generator: CPG）を制御しているものと考えられている。さらに、近年の実験動物による脊髄損傷研究からは、下肢機能が回復する際には、損傷を受けた皮質脊髄路の神経軸索が、再伸張によって損傷部を乗り越えていく回復方法の他に、損傷の近位で皮質脊髄路から側枝が形成され、損傷を免れた脊髄固有路を迂回経路として利用して損傷より下の髄節に信号を伝える回復方法があることが明らかとなっている。

こうした脊髄固有路の多くはいまだに生理的な機能が明らかではなく、その評価方法も確定していない。MRI画像による評価は損傷部周辺の残存脊髄組織の量的評価を可能にすると期待されるが、その機能を知ることは困難である。可塑性の起点としての脊髄固有路を考える際、一定の機能を有していることが求められることを考慮すると、その評価法も機能を反映したものになることが望ましい。

本研究では受動歩行運動訓練器であるLokomatを用いて一定の感覚入力を脊髄に与える実験条件を確保し、その上で下肢への随意指令が上肢に伝わるかを電気生理学的に評価することを試みる。

B. 研究方法

下肢の随意ステップング、及び受動ステップング中に橈側手根屈筋（FCR）から運動誘発電位（実験1）とH反射（実験2）を記録した。

1) 被験者

対象は整形外科疾患の既往歴のない健常成人男性11名（年齢22-32歳）とした。実験1, 実験2それぞれにおいて9名が参加し、うち7名は両方の実験に参加した。本研究は国立障害者リハビリテーションセンター倫理委員会の承認、被験者のインフォームド・コンセントを得た上で行った。

2) 実験セットアップ

図1に実験1の実験セットアップを示す。被検者はLokomat (Hocoma AG, Volkeltswil, Switzerland) を下肢に装着し下肢ステップング運動を行い、経頭蓋的磁気刺激（TMS）によって右側橈側手根屈筋から運動誘発電位（MEP）を誘発した。計測中の右上肢は肘関節を90-100°に屈曲させ、手首が中間位の肢位を取るように固定台の上に置いたうえで、伸縮性のあるバンドで固定した。

筋電図（EMG）は右側橈側手根屈筋（FCR）、橈側手根伸筋（ECR）、大腿直筋（RF）、大腿二頭筋（BF）、前頸骨筋（TA）、およびヒラメ筋（SOL）から帯域周波数15-3000Hzで記録した。また、股関節および膝関節角度データはLokomatに内蔵されているポテンショメータから記録した。EMG、および各関節角度データは5000HzでA/D変換を行い記録用コンピュータに保存した。

実験1ではTMSの刺激コイルをステップング動作中においても精密に定位するために3次元動作解析システムを応用した磁気刺激コイル定位システムを使用し、磁気刺激時のコイル座標の取得した。実験2では末梢神経電気刺激によるH反射を記録したため磁気刺激コイル定位システムは使用していないものの、その他の実験セットアップは実験1と同じである。

3) 下肢ステップング課題

Lokomatはロボティクスを利用し歩行機能障害者の下肢を歩行用に動かし中枢神経系の可塑的変化を誘導する歩行リハビリテーション機器である。本研究において、被検者に対しLokomatを使用した随意ステップングと受動ステップングの2種類の

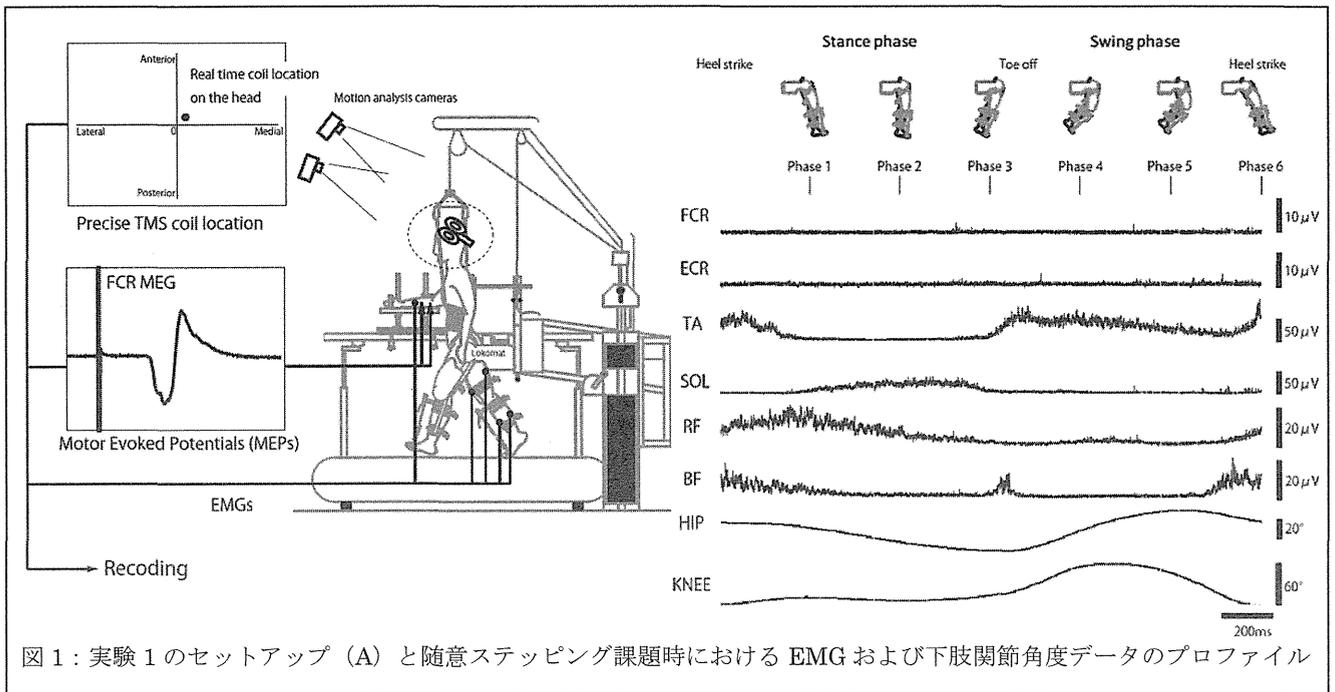


図1：実験1のセットアップ (A) と随意ステップング課題時における EMG および下肢関節角度データのプロフィール

下肢ステップング課題を課した。

受動ステップング課題において、被検者には下肢をLokomatの動きに身を任せて脱力するように指示した。この時、つま先が下垂しないようにフットリフターを使用した。両側の股関節および膝関節はそれぞれ45°と60°に設定し、トレッドミル速度を2.0km/h (=0.56m/s) に設定した。

一方、随意ステップング課題において、被検者にはLokomatの動きに合わせて随意的に辞図からの下肢を動かすことを指示した。この時、自発的な足関節の底背屈を促すためにフットリフターは装着しなかった。下肢ステップング課題に加えて、コントロール課題として立位姿勢時の上肢MEPおよびH反射の計測を行った。全ての課題において、固定台に置かれた右側上肢は完全に脱力するように指示した。

受動ステップング課題において、下肢の歩行用のステップング運動は被検者の随意指令が排除された状態で再現されている。そのため、受動ステップング課題と随意ステップング課題を比較することで、下肢ステップングの随意指令と体性感覚情報がそれぞれ上肢の運動制御機構にどのような影響を及ぼしているのか検討を行った。

4) 経頭蓋的磁気刺激 (実験1)

TMSは8の字コイル (直径90mm) を使用し一次運動野におけるFCRの至適刺激部位 (Hot spot) に対して行われた。Hot spotはFCRから最も低い刺激強度でMEPの誘発が可能な部位とし、磁気刺激コイル定位システムを使用してコイルの定位を行った。

Hot spotにおいてFCRの安静時閾値 (rMT) を測り、試験刺激強度はその1.1倍とした (110% of rMT)。なお、安静時閾値は安静にしているFCRにおいて50μV以上のMEPが50%の確率で確認される強度とした。

刺激は左股関節の最大伸展位を基準に360ミリ秒 (Phase 1)、720ミリ秒 (Phase 2)、1080ミリ秒 (Phase 3)、1440ミリ秒 (Phase 4)、1800ミ

リ秒 (Phase 5)、および2160ミリ秒 (Phase 6) の時間遅れで行った (図1B)。なおPhase 1~3は右脚立脚期に相当しPhase 4~6は遊脚期に相当する。各Phaseにおいて15回のTMSを行い刺激間隔は8.0秒以上の時間を置いた。

5) 末梢神経電気刺激 (実験2)

FCRよりH反射を誘発するために上腕内側部より正中神経を電気刺激した。刺激電極 (電極間距離20mm) は正中神経に沿うように求心性方向に陽極を、遠心性方向に陰極を置き、伸縮性のあるバンドで固定した。刺激電流は持続時間1ミリ秒の矩形波電流を用いた。

刺激を行うタイミングは実験1と同じタイミングであり、各位相15回の刺激を行った。また計測に際し、事前に各ステップング位相での最大M波振幅 (Mmax) の計測を行い、刺激強度の同定に使用している。

刺激強度はMmaxの10%のM波が誘発される強度 (10%Mmax) とし、計測中は10%MmaxのM波振幅が維持されるように電気刺激強度を調節した。

6) 解析

FCRから記録されたMEP、H反射およびM波はPeak-to-peak値を計測した後、立位姿勢時に得られた各パラメータで標準化を行った。また各EMGにおいて、背景筋活動として刺激前50ミリ秒間の二乗平均平方根 (RMS) を計算し最大随意収縮 (MVC) 時のRMSで標準化を行った。

MEP、H反射、M波、および背景筋活動におけるステップング位相の主効果は反復測定による一元配置分散分析による検定を行い、手効果が認められればBonferroni法による多重比較検定を行った。またMEP、およびH反射において、ステップング課題2条件×位相6因子による二元配置分散分析による交互作用の検定を行った。

C. 研究結果

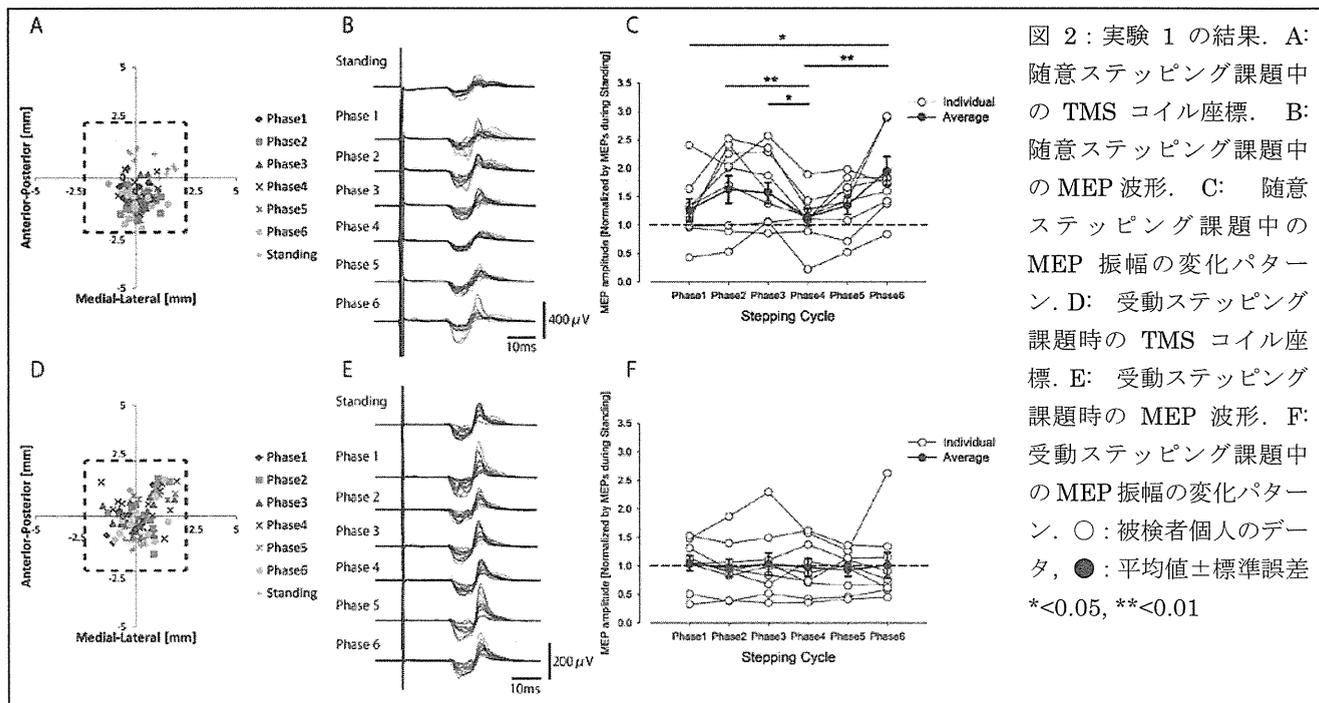


図1Bに随意ステップング課題におけるEMGと関節角度のデータのプロフィールを示す。下肢において、屈筋群 (TA, BF) は遊脚期に活動し、伸筋群 (SOL, RF) は立脚期に活動すると言う典型的な下肢ステップングの筋活動パターンを示している。一方で上肢において、EMGは課題間、位相間で変わらず ($p > 0.05$)、安静を保っていた (1%MVC以下)。

1) 上肢MEPにおける下肢ステップングの影響

実験1の結果を図2に示す。TMSコイル座標のほとんどはターゲットエリア内おかれたが、MEP誘発時において、TMSコイル座標が5mm四方のターゲットエリアを外れたものは解析から除外した (図2A, D)。

FCRにおけるMEP振幅変化において随意ステップング課題中、ステップング位相の主効果が認められた ($F(5, 40) = 6.128, p < 0.001$)。多重比較検定の結果、Phase6におけるMEP振幅はPhase1, Phase4に対して統計的有意に対して統計的有意に大きく (それぞれ $p = 0.010$; $p = 0.001$)、加えてPhase2 とPhase3のMEP振幅はPhase4より有意に大きかった (それぞれ $p = 0.009$; $p = 0.018$, 図2C)。一方で、受動ステップング中のFCRにおけるMEP振幅の変化は1名の被検者で随意ステップング課題時に得られたものと似た変化パターンが観察されたが、位相の主効果は認められなかった ($F(1.747, 13.975) = 0.344, p = 0.687$, 図2F)。また被検者7名において二元配置分散分析 (ステップング課題×位相) を行ったところ、統計的有意な交互作用が認められた ($F(5, 30) = 3.061, p = 0.024$)。

2) 上肢H反射における下肢ステップングの影響

M波振幅に関して、ステップング課題、位相を問わずすべての条件において有意差は認められず ($F(3.421, 27.37) = 0.872, p = 0.479$)、この事は実験中、一定の電気刺激効率で正中神経を刺激できたことを意味している。

FCRにおけるH反射は、随意および受動ステップング課題中立位姿勢時と比して減弱する傾向にあ

った。一方、位相依存性に関して、FCR H反射は随意ステップング課題中ステップング位相の主効果が認められ ($F(1.878, 15.02) = 5.225, p = 0.020$)、Phase 6において他のステップング位相よりも振幅の統計的有意な促進が認められた ($p < 0.050$)。しかしながら、受動ステップング中はFCR H反射の位相依存変化は認められなかった ($F(1.994, 15.96) = 0.652, p = 0.534$)。また二元配置分散分析 (ステップング課題×位相) を行ったところ、統計的有意な交互作用は見られなかった ($F(2.019, 16.15) = 1.399, p = 0.245$)。

D. 考察

本研究で下肢ステップング課題中に観察されたFCRにおけるMEPおよびH反射振幅の変化は、上肢の筋活動が計測中安静を保っていたことからFCRを支配する運動ニューロンの活動の変化によるものとは考えにくく、下肢ステップング課題固有の神経活動の変化を反映していると考えられる。

随意下肢ステップング中のFCR MEPは位相依存的变化を示した。一般的にMEPの振幅変化は皮質脊髄路における運動皮質と脊髄運動ニューロンの両方の興奮性変化を反映すると考えられる。しかしながら、H反射振幅においても位相依存変化が見られた事から、FCRにおけるMEPの随意ステップング中の位相依存変化は少なくとも脊髄レベルの興奮性変化を含んでいる可能性を示唆する。

受動ステップング課題におけるMEPおよびH反射振幅変化について、どちらも位相依存変化は示さなかったものの、H反射は立位姿勢時と比して減弱した。この事は下肢ステップングの感覚情報が皮質脊髄路に対しては影響力を持たない一方H反射経路においては抑制性的影響を及ぼす事を示している。このようなH反射抑制は過去の研究からIa群求心性線維終末におけるシナプス前抑制の機序が働いていると考えられている。この事は受動ステップング課題におけるMEP振幅が立位時のものとほとんど変わらない結果からも窺う事が出来る。

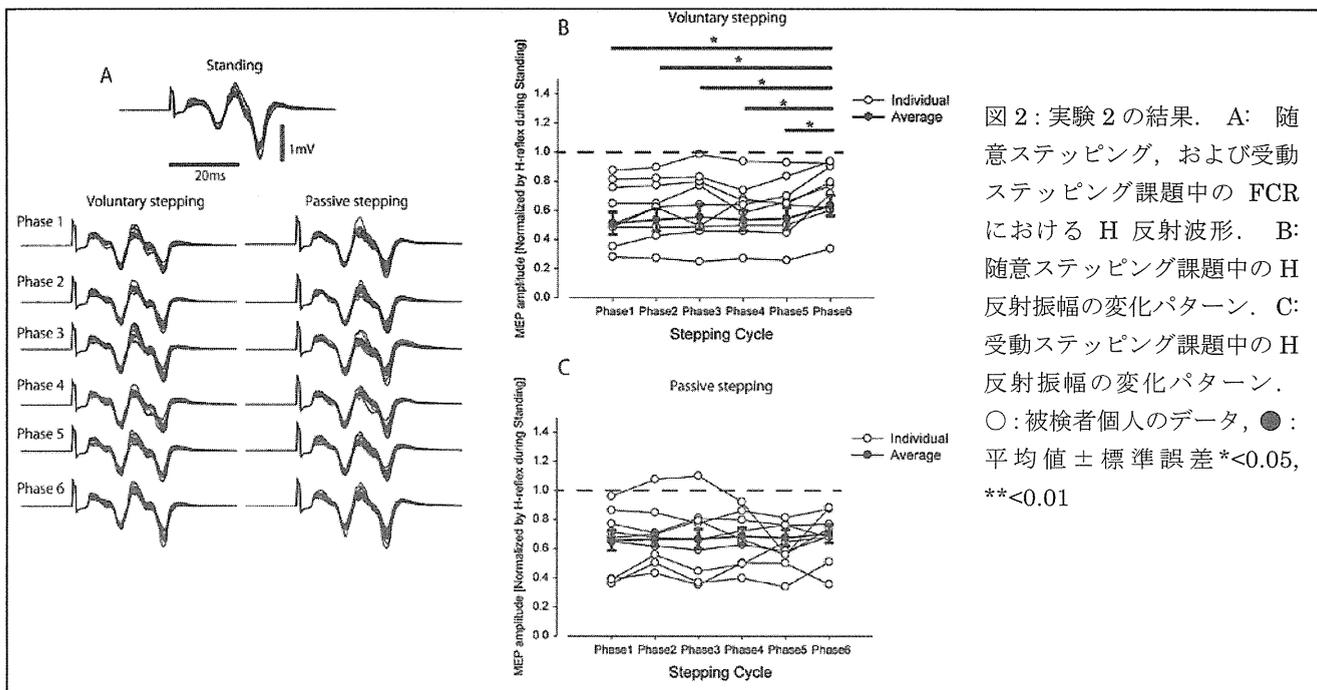


図 2: 実験 2 の結果. A: 随意ステッピング, および受動ステッピング課題中の FCR における H 反射波形. B: 随意ステッピング課題中の H 反射振幅の変化パターン. C: 受動ステッピング課題中の H 反射振幅の変化パターン. ○: 被検者個人のデータ, ●: 平均値 ± 標準誤差 * <0.05 , ** <0.01

以上の事から下肢ステッピングに関連した体性感覚情報は上肢の筋紡錘由来の脊髓反射経路に対して抑制的に作用し, 随意指令は上肢を支配する皮質脊髓路およびH反射経路における脊髓運動ニューロンの興奮性を閾値下で調節していると考えられる. 脊髓運動ニューロンの閾値下での興奮性変化にどのような機序が働いているかは今後議論を深める必要がある. 考えられる可能性の一つとして, 下肢を支配する腰CPGから脊髓固有路を介して上肢を支配する頸CPGの投射経路が関係している可能性がある. このような頸CPGと腰CPGを機能的に連結する脊髓固有路の存在は四足動物においてその存在がほぼ認められており, 今回の研究結果はヒトにおいても同様の神経経路が脊髓内に存在する可能性を示唆するものである. ただし, 随意ステッピング中のMEPとH反射の変化パターンが異なる事は皮質脊髓路において脊髓運動ニューロンだけでなく運動皮質のレベルにおいても下肢ステッピングの随意指令の影響がある可能性を示唆しており, 今後の研究課題である

E. 結論

本研究では, 下肢の歩行様運動(ステッピング運動)が上肢皮質脊髓路, 及びH反射経路に対して与える影響について調べた. その結果, ステッピングの随意指令は上肢皮質脊髓路とH反射経路の興奮性をステッピング位相に応じて変化させ, 体性感覚情報はH反射経路の興奮性を一様に抑制することが明らかとなった. この事は上肢神経機構に対してステッピングの随意指令と体性感覚情報が異なる役割を持つ事を示している. 加えて, 皮質脊髓路およびH反射経路の興奮性変化は脊髓固有路を介した腰CPGから頸CPGへの投射が存在する可能性を示唆している. この事は歩行の神経リハビリテーションにおいて重要な知見となり得ると考えられる.

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
 1. Kitamura T, Masugi Y, Yamamoto S, Nakazawa K. Phase modulation of corticospinal spinal excitability for forearm muscle during voluntary leg stepping. ISPGR2013, Akita, 2013-06-22/06-26. Program, 2013, p.64.
 2. Masugi Y, Kitamura T, Ogawa T, Kawashima N, Nakazawa K. Soleus H-reflex is suppressed during unilateral hip and/or knee passive movements in human. ISPGR2013, Akita, 2013-06-22/06-26. Program, 2013, p.64.
 3. Kitamura T, Yaeshima K, Yamamoto S, Kawashima N. The precise adjustment of coil location for transcranial magnetic stimulation during dynamic motion. EMBC2013, Osaka, Japan, 2013/07/03-07/07. Proceedings, 2013, p.3578-3581.
 4. 喜多村拓, 八重嶋克俊, 山本紳一郎, 河島則天. 歩行運動中の運動誘発電位を高精度で計測可能にする磁気刺激コイル定位システムの構築. LIFE2013, 甲府, 2013-09-02/09-04. 講演要旨集, 2013, p.50.
 5. 喜多村拓, 一寸木洋平, 八重嶋克俊, 山本紳一郎, 中澤公孝, 河島則天. 下肢ステッピング運動の随意指令と上肢皮質脊髓路興奮性との関係. ライフサポートフロンティア2014, 2014/02/28-03/01, 東京.

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

頸部圧迫性脊髄症におけるバイオマーカーpNF-H値に関する研究

研究分担者 筑田 博隆 東京大学医学部附属病院 整形外科教室 講師

研究要旨

pNF-Hは、脊髄における組織破壊に由来する微量物質（バイオマーカー）であり、組織損傷の程度を推測する指標として有用である可能性がある。一方、頸部圧迫性脊髄症では、一部に軽微な外傷を契機に急性増悪する症例を除けば、椎間板の変性膨隆、黄色靭帯の肥厚、骨棘の形成、頸椎の不安定性による脊柱管狭窄など、慢性的に病態が進行するものと考えられている。このような緩徐な神経損傷によりpNF-Hがどの程度血清中に漏出するかは不明である。本分担研究では頸部圧迫性脊髄症に対して除圧術が必要になった症例より術前後の血液サンプルを取得し、pNF-Hの動態を評価することを試みた。

術前にpNF-Hが陽性（71pg/ml以上）を示したのは27例中7例のみ（26%）だった。術前陽性例は陰性例に対して、年齢が高く、手術に至るまでの罹病期間が短く、より高頻度に外傷歴があり、糖尿病の合併率が高かった。脊髄症の重症度に関しては、術前陽性例は陰性例に対し、日本整形外科学会頸髄症治療判定基準（JOAスコア）、modified JOAスコア（mJOAスコア）が低かった。また、MRIでの脊髄輝度変化は全例に見られた。術後1週で陽性を示した症例は、術前から陽性であったか、術前陰性であったが術中の脊髄モニタリングでMEP電位が低下し、術後に上肢の麻痺が遺残していた。一方、術前にpNF-Hが陽性で、術後に陰性化が確認された症例は無かった。

A. 研究目的

神経損傷に伴って末梢血液・脳脊髄液中に漏出する神経細胞由来のタンパク質をバイオマーカーとして定量評価することで、神経損傷の程度を評価する試みが進められている。

Phospho-neurofilament high molecule (pNF-H)は2005年にShawらによってバイオマーカーとして提唱され、2012年に上野、緒方らによってヒト脊髄損傷の重症度判定における有用性が報告されている。

これまで血中pNF-Hは脊髄損傷の他に外傷性脳損傷、くも膜下出血、遷延性熱性けいれんにおいて上昇することが報告されている。pNF-Hはもともと神経軸索を構成する細胞骨格タンパクであり、中枢神経（脳・脊髄）および末梢神経に存在するものである。したがって、可能性としてはあらゆる軸索変性・損傷を含む病態でpNF-Hが上昇する可能性がある。

しかし、頸部圧迫性脊髄症患者における血清pNF-Hの挙動は明らかになっていない。外傷に伴う脊髄損傷は、急激な力学的負荷が神経組織に与えられることにより、pNF-Hの血清中の漏出を説明することができる。一方、頸部圧迫性脊髄症では、一部に軽微な外傷を契機に急性増悪する症例を除けば、椎間板の変性膨隆、黄色靭帯の肥厚、骨棘の形成、頸椎の不安定性による脊柱管狭窄など、慢性的に病態が進行するものと考えられている。このような緩徐な神経損傷によりpNF-Hがど

の程度血清中に漏出するかは不明である。

バイオマーカーpNF-Hを脊髄損傷の重症度評価として用いる場合、その値に影響を及ぼしうる要因を確認することは、値の過大評価を避ける意味でも重要となる。特に、背景に頸部圧迫性脊髄症を合併した高齢者が脊髄損傷を来した場合、その受傷前の基準値がどの程度であったか推測できることが病態の把握に必要不可欠である。

今回我々は整形外科病棟に入院し、頸部圧迫性脊髄症に対して除圧術が必要になった症例より術前後の血液サンプルを取得し、pNF-Hの動態を評価することを試みた。

B. 研究方法

1) 症例

東京大学医学部附属病院整形外科病棟に頸部圧迫性脊髄症の手術目的に入院する症例で、サンプル採取に同意が得られた症例。血液サンプルは診療上採取したサンプルから3mLをそれぞれpNF-H測定用に分注して用いた。本研究は国立障害者リハビリテーションセンターおよび東京大学医学部附属病院のそれぞれの倫理審査委員会の承認を得て実施された。

2) pNF-H値の測定

血液サンプルの採取は、術前と、術後1週間の2点で行われた。採取したサンプルは血清分離し、測定までの期間は凍結保存され、再凍結・融解は

行わなかった。

測定は抗原抗体反応を用いたELISA法を用いた。実際にはViovendor社から販売されている市販のELISAシステムを用いた。測定にあたっては民間検査会社での受託測定とした。

得られたpNF-Hと臨床診断名、サンプルが採取された時期を照合し、解析を行った。

3) 臨床情報の記録

対象症例ごとに、年齢、性別、手術に至った頸部圧迫性脊髄症の原因疾患、罹病期間、外傷の既往、合併症、MRI T2強調像での脊髄輝度変化、術前の日本整形外科学会頸髄症治療判定基準 (JOAスコア)、modified JOAスコア (mJOAスコア) を記録した。

C. 研究結果

1) 測定した症例数と内訳

2013年4月から2014年3月までの間に、測定が完了した27例 (頸椎症性脊髄症15例、後縦靭帯骨化症9例、頸椎椎間板ヘルニア3例) を対象とした。男性20例、女性7例、年齢は38~86歳で、平均65歳であった。

2) 血液サンプルpNF-H値

術前にpNF-Hが陽性 (71pg/ml以上) を示したのは27例中7例のみ (26%) だった。陽性例の値は、115~852pg/mlと様々であった。

背景因子を比較すると、術前陽性例は陰性例に対して、年齢が高く (平均74歳 vs. 62歳, $p = 0.046$)、手術に至るまでの罹病期間が短く (平均6か月 vs. 15か月, $p = 0.053$)、より高頻度に外傷歴があり (17% vs. 10%, $p = 0.65$)、糖尿病の合併率が高かった (57% vs. 30%, $p = 0.20$)。

また、脊髄症の重症度に関しては、術前陽性例は陰性例に対し、JOAスコアが低く (平均9.5 vs. 11.9, $p = 0.10$)、mJOAスコアも低かった (平均13.3 vs. 10.3, $p = 0.02$)。また、MRIでの脊髄輝度変化は全例に見られた (100% vs. 85%, $p = 0.09$)。

術後1週後のpNF-Hが測定可能であった17例のうち、陽性 (71pg/ml以上) を示したのは5例 (19%) だった。このうち4例は術前から陽性であったが、残りの1例は術前陰性であった。この症例は、後縦靭帯骨化症に対する後方除圧固定術を行った患者で、術中の脊髄モニタリングでMEP電位が低下し、術後に上肢の麻痺が遺残していた。一方、術前にpNF-Hが陽性で、術後に陰性化が確認された症例は無かった。

D. 考察

今回の調査では、脊髄損傷患者でpNF-Hが上昇

し神経障害のマーカーとして有用な可能性があるのに対し、頸部圧迫性脊髄症の症例の多くが血清pNF-Hが検出限度以下であることが分かった。術前から高値の症例は、高齢で、外傷の既往があり、より重症である傾向が見られたが、その他の合併疾患の影響も否定できない。今後より詳細に基礎疾患とpNF-H基準値との関連を調べる必要がある。

また、除圧術によって術後にpNF-Hが陰性化する可能性は低く、一方術中操作により神経障害を来した場合には術後に上昇が観察される可能性があり、脊髄手術の安全性のモニターとしても有用な可能性がある。

E. 結論

神経軸索損傷バイオマーカーpNF-Hは整形外科領域で遭遇する多くの神経疾患において脳脊髄液中で陽性となり、一部は血中でも検出されていることが明らかとなった。今後、脊髄損傷患者での重症度判定に用いるときはこうした合併症の有無を念頭にpNF-H値を判断する必要がある。また、脳脊髄液中の濃度と血中濃度との開きも大きいことから、今後そのメカニズムの解析が必要と考えられる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kato S, Shoda N, Chikuda H, Seichi A, Takeshita K: Morphological Characteristics of Cervical Spine in Patients With Athetoid Cerebral Palsy and the Accuracy of Pedicle Screw Placement. *Spine (Phila Pa 1976)* 2014 Jan 29. [Epub ahead of print]
2. Chikuda H, Ohya J, Horiguchi H, Takeshita K, Fushimi K, Tanaka S, Yasunaga H: Ischemic Stroke after Cervical Spine Injury: Analysis of 11,005 Patients Using the Japanese Diagnosis Procedure Combination Database. *Spine J* 2014 Jan 22. [Epub ahead of print]
3. Nakamoto H, Oshima Y, Takeshita K, Chikuda H, Ono T, Taniguchi Y, Tanaka S: Usefulness of QuickDASH in patients with cervical laminoplasty. *J Orthop Sci* 2014 Jan 6. [Epub ahead of print]
4. Uehara K, Chikuda H, Higurashi Y, Ohkusu K, Takeshita K, Seichi A, Tanaka S: Pyogenic discitis due to Abiotrophia

adiacens. *Int J Surg Case Rep*
2013;4(12):1107-9.

5. Chikuda H, Ohtsu H, Ogata T, Sugita S, Sumitani M, Koyama Y, Matsumoto M, Toyama Y; OSCIS investigators : Optimal treatment for spinal cord injury associated with cervical canal stenosis (OSCIS): a study protocol for a randomized controlled trial comparing early versus delayed surgery. *Trials* 2013 Aug 7;14:245. doi: 10.1186/1745-6215-14-245.
6. Nagata K, Baba S, Chikuda H, Takeshita K: Use of C2 spinous process screw for posterior cervical fixation as substitute for laminar screw in a patient with thin laminae. *BMJ Case Rep* 2013 Jun 24;2013. doi:pii: bcr2013009889. 10.1136/bcr-2013-009889.
7. Sugita S, Chikuda H, Ohya J, Taniguchi Y, Takeshita K, Haga N, Ushiku T, Tanaka S: Cervical canal stenosis caused by progressive fusion and enlargement of cervical vertebrae with features of Proteus syndrome and Klippel-Feil syndrome. *Skeletal Radiol* 42(12):1743-1746, 2013.
8. Chikuda H, Yasunaga H, Horiguchi H, Takeshita K, Sugita S, Taketomi S, Fushimi K, Tanaka S: Impact of age and comorbidity burden on mortality and major complications in older adults undergoing orthopaedic surgery: an analysis using the Japanese diagnosis procedure combination database. *BMC Musculoskelet Disord* 2013 May 28;14(1):173. [Epub ahead of print]
9. Akiyama T, Chikuda H, Yasunaga H, Horiguchi H, Fushimi K, Saita K: Incidence and risk factors for mortality of vertebral osteomyelitis: a retrospective analysis using the Japanese diagnosis procedure combination database. *BMJ Open* 2013 Mar 25;3(3). doi:pii: e002412. 10.1136/bmjopen-2012-002412.

2. 学会発表
特になし

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
特になし
2. 実用新案登録
特になし
3. その他

脊髄損傷に対する新規 drug delivery system による Semaphorin3A 阻害剤投与と
treadmill 訓練の併用による治療効果の検討

研究分担者 金子慎二郎(村山医療センター整形外科医長)

研究要旨

脊髄損傷後に運動機能などの回復が乏しい主な原因として、中枢神経では損傷後の軸索の再生が極めて乏しいことが挙げられる。その一因として、損傷部に軸索再生を阻害する分子が存在する事が指摘されて来たが、われわれはその一つである Semaphorin3A に着目して研究を行って来た。先行研究でわれわれは、osmotic mini pump を用いて Semaphorin3A 阻害剤(SI)を完全脊髄切断モデルのラットの損傷部に投与することによって運動麻痺の改善促進効果などが得られることを見出した。しかしながらこの先行研究では、運動麻痺の改善促進効果に関して SI の投与効果は限られたものであった。その理由の一つとして、再生した軸索が適切に rewiring されていなかった可能性が考えられる。そこで今回われわれは、われわれが開発した robotic arm を用いた新規訓練法による treadmill 訓練を併用することで、運動麻痺の改善などの更なる促進効果が得られるか検討を行った。その結果、脊髄損傷後、SI 投与とリハビリテーションの併用により再生軸索の rewiring が促進され、運動機能改善促進効果が得られた。本研究結果より、損傷後早期の適切なリハビリテーションの併用が再生軸索の rewiring 促進効果を有する可能性が示唆された。

A. 研究目的

脊髄損傷(SCI)後に運動機能などの回復が乏しい主な原因として、中枢神経では損傷後の軸索の再生が極めて乏しいことが挙げられる。その一因として、損傷部に軸索再生を阻害する分子が存在する事が指摘されて来たが、われわれはその一つである Semaphorin3A に着目して研究を行って来た。先行研究でわれわれは、osmotic mini pump を用いて Semaphorin3A 阻害剤(SI)を完全脊髄切断モデルのラットの損傷部に投与することによって運動麻痺の改善促進効果などが得られることを見出した。実際の臨床では、osmotic mini pump を用いて SCI の患者に薬剤を投与することには様々な問題を伴うため、われわれは臨床応用に向けて新規 drug delivery system(DDS)を開発し、本 DDS による SI の薬効に関して検討を行った。また、先行研究で SI の投与効果が限られたものであった理由の一つとして、再生した軸索が適切に rewiring されていなかった可能性が考えられるが、われわれが開発した robotic arm を用いた新規訓練法による treadmill 訓練(RH)を併用することで、運動麻痺の改善などの更なる促進効果が得られるか検討を行った。

B. 研究方法

新規に開発したシリコンシート状製剤を用いて SI の投与を行った。SI 単独群、併用(SI+RH)群、対照群の3群に関して軸索再生促進効果などに関する評価として組織学的解析を行い、また運動機能の詳細な解析として Rodent Robot 3000 を用いた kinematic study を行った。

C. 研究結果

本 DDS によって、先行研究と同様に SI 投与による 5HT 陽性軸索などの軸索再生促進効果が得られた。併用群

では、SI 投与によって得られた軸索再生の更なる促進は認められなかったが、c-Fos に対する染色結果などから、併用群では腰膨大部尾側脊髄回路(CPG)の再構築などが促進されていた可能性が示唆された。kinematic study で併用群では、SI 単独群に比して足関節の extensor などの運動機能の更なる改善促進傾向が認められ、他群で認められなかった(体重を支えた条件下での)plantar step 歩行が可能となっていた。

D. 考察

軸索再生の促進は SCI 後の治療戦略として重要であるが、それと同等に、再生した軸索の rewiring を狙った治療戦略も重要であり、本研究の結果から、損傷後早期の適切なリハビリテーションの併用が再生軸索の rewiring 促進効果を有する可能性が示唆された。

E. 結論

脊髄損傷後、SI 投与とリハビリテーションの併用により再生軸索の rewiring が促進され、運動機能改善促進効果が得られた。

本研究結果より、損傷後早期の適切なリハビリテーションの併用が再生軸索の rewiring 促進効果を有する可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表(2013年度)

1. 論文発表

英文

• Rewiring of regenerated axons by combining treadmill training with semaphorin3A inhibition.