

厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業）
（総括）研究報告書

移植治療後の慢性期完全脊髄損傷患者のリハビリテーションと脳機能に
再構成および脊髄再生との関連性についての評価法の開発に関する研究

研究代表者 岩月 幸一 大阪大学大学院 医学系研究科 講師

【研究要旨】

脊髄損傷に対する有効な神経再生療法は未だなく、残存機能の強化リハビリテーションが現在の唯一の治療法である。当グループは損傷後半年以上経過した慢性期完全脊髄損傷患者に対して自家嗅粘膜移植を行い、一定の機能回復を見た。しかし慢性期では下肢筋肉の委縮による神経栄養因子の枯渇から脊髄前角細胞の変性・下位運動神経の不全が起こり、脊髄(上位)神経軸索再生のみでは十分な機能回復は得られないことが示唆される。また効果的なリハビリテーションプログラム開発には、脊髄の組織的再生や脳の神経活動の機能的回復を継続的に評価する必要がある。本研究では、術前にもリハビリテーションを行い、筋肉由来神経栄養因子の産生と下位運動神経の維持を図る、自家嗅粘膜移植による脊髄神経軸索の再生、術後のバイオフィードバックを用いた随意的筋放電の誘発、長下肢装具およびロボットスーツ HAL 装着による積極的歩行訓練、の一連のプログラムにより、効率的機能再建を目標とする。さらに DTI(Diffusion Tensor Imaging)による損傷脊髄移植部位の組織的再生の可視化、および脳 fMRI による脳神経活動の再構築により機能回復プロセスの客観的指標の開発を目指す。

研究分担者氏名・所属・職名

吉峰俊樹	大阪大学大学院医学系研究科脳神経外科	教授
大西諭一郎	大阪大学大学院附属病院脳神経外科	助教
田島文博	和歌山県立医科大学リハビリテーション医学	教授
中村健	和歌山県立医科大学リハビリテーション医学	准教授
渡邊嘉之	大阪大学大学院医学系研究科放射線医学	講師

A. 研究目的

脊髄損傷に対する有効な神経再生療法は未だなく、完全脊髄損傷患者においては残存機能の強化リハビリテーションが唯一の治療法である。当グループは損傷後半年以上経過した慢性期完全脊髄損傷患者に対して自家嗅粘膜移植を行い、一定の機能回復を見ているが、慢性期では下肢筋肉の委縮による神経栄養因子の枯渇から脊髄前角細胞の変性・下位運動神経の不全が起こり、脊髄(上位)神経軸索再生のみでは十分な機能回復は得られないことが示唆される。また効果的なリハビリテーションプログラム開発には、脊髄の組織的再生や脳の神経活動の機能的回復を継続的に評価する必要がある。

本申請では慢性期完全脊髄損傷患者に術前・術後に積極的リハビリテーションを導入したうえで嗅粘膜移植を行い、より効率的な下肢機能回復を目指すことを目的とする。

B. 研究方法

本研究では機能保存的リハビリテーション・脊髄神経再生・脳神経機能の変化の観点から、下記 6 つの工程を設ける。

術前に廃用下肢筋のリハビリテーションにより、筋肉由来神経栄養因子の産生と下位運動神経の維持を図る。自家嗅粘膜移植による脊髄神経軸索の再生。術後のバイオフィードバックを用いた随意的筋放電の誘発。長下肢装具装着による積極的歩行訓練。さらに、これら機能回復のプロセスの客観的指標として、下肢運動指標に加え、新たに DTI(Diffusion Tensor Imaging)で損傷脊髄移植部位の組織的

再生を可視化する。 脳 fMRI で脳神経活動の再構築を解明する。

(倫理面への配慮)

本研究は、【ヘルシンキ宣言】【臨床研究に関する倫理指針】ならびに本臨床研究実施計画書および同意説明文書を遵守して実施している。

同意説明と同意所得

研究責任医師等は治療に先立ち、未来医療臨床研究審査・評価委員会の承認を得た同意説明文書を用いて文書による同意を得る。同意取得のため研究責任医師等は、治療への参加に関し、被験者に強制するなど不当な影響を及ぼすことのないよう留意する。

本臨床研究への参加は被験者本人の自由意思による同意を、同意書に署名または記名・捺印し、日付を自ら記入することにより取得する。同意取得後、同意書の写し及び同意説明文書を同意者本人に交付する。

同意の撤回

一旦書面による同意を行った被験者であっても、嗅粘膜移植術実施前であればいつでも撤回できる。

臨床研究内容の開示

同意説明を行った患者、または被験者に本臨床研究実施計画書の開示を要求されれば、それに応じるものとする。

同意書および同意説明文書の改訂

研究責任医師等は、研究に継続して参加するか否かについて被験者の意思に影響を与える可能性のある情報や、被験者の同意に関連する新たな情報を入手した場合には、当該情報を直ちに口頭で被験者に伝える。また、情報提供した旨を診療録に記録し、被験者が研究に継続して参加するか否かを確認する。被験者が未成年の場合は、同時に法定代理人に対してもこれを行う。

C. 研究結果

嗅粘膜移植においては脊髄損傷後、骨損傷に対する治療やリハビリテーションを行ったにもかかわらず、12か月後に完全対麻痺を呈する胸髄損傷患者を対象とした。採取可能な嗅粘膜の量が限られているため、損傷部位の長さは3cm 以下である。術前2ヶ月にわたりリハビリテーションを行い、リハビリによってはやはり下肢運動機能が改善しないことを確認するとともに、術後リハビリが可能な下肢関節の拘縮などが無いかを評価した。術後早期から連日リハビリテーションを行うと、4例中3例において6か月後より運動機能の改善がみられ、4名いずれの患者においても体幹支持性が向上し、日常生活上何らかの運動機能改善が自覚された。ASIA Scoringのうち、運動スコアは、1名では改善が認められなかったが、他の3例では24週以後50から52-57に改善した。下肢筋収縮による筋電図の発現を認め、さらにうち2例で経頭蓋磁気刺激によるmotor evoked potentialの下肢からの導出に成功し、慢性期の完全脊髄損傷において、電気生理学的に神経軸索の再建を証明し得た。感覚および膀胱直腸障害においては変化を認めなかった。

D. 考察

移植後のリハビリテーションは、完全両下肢運動麻痺慢性期患者の歩行という、これまでになりにリハビリテーションを実施しなくてはならなかった。中枢神経の神経ネットワークの再構築のため、長期間にわたるハードなものとなった。HAL を導入し、検出される生体信号が徐々に下位に延びてくるのにあわせてプログラムを変更することで、科学的リハビリが可能となった。またトレッドミルと免荷装置を併用することで、安全且つ省力的なりハビリが可能となった。さらに初期の段階から患者に歩行を体感させることが可能となり、これは長く単調になりがちなりハビリテーションに対する患者のモチベーションの維持に、大きく貢献したものである。

E. 結論

慢性期完全脊髄損傷患者に対し、嗅粘膜移植と積極的リハビリテーションを行い、一定の機能回復を導き、かつ下肢筋電図の導出に初めて成功した。このことは、損傷後数年以上を経た慢性期脊髄損傷患者の機能再建とQOLの向上に新たな道を拓くものである。

F. 健康危険情報

実施した4例において、これまで当研究と関連があると判断される感染症、悪性新生物の発生を認めない。有害事象として嗅覚低下や、頭痛および脊損領域の痛みが出現した症例もある。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 原著

Yu-ichiro Ohnishi, Koichi Iwatsuki, Toshiki Yoshimine. Depletion of glial cell line-derived neurotrophic factor by disuse muscle atrophy exacerbates the degeneration of alpha motor neurons in caudal regions remote from the spinal cord injury. *Neuroscience & Medicine* 2014、 5、 214-221
<http://dx.doi.org/10.4236/nm.2014.55025>

Hongyun Huang¹; Tiansheng Sun²; Lin Chen³; Gustavo Moviglia⁴; Elena Chernykh⁵; Klaus von Wild⁶; Haluk Deda⁷; Kyung-Sun Kang⁸; Anand Kumar⁹; Sang Ryong Jeon¹⁰; Shaocheng Zhang¹¹; Giorgio Brunelli¹²; Albert Bohbot¹³; Maria Dolores Soler¹⁴; Jianjun Li¹⁵; Alexandre Fogaça Cristante¹⁶; Haitao Xi¹⁷; Gelu Onose¹⁸; Helmut Kern Ludwig Boltzmann¹⁹; Ugo Carraro²⁰; Hooshang Saberi²¹; Hari Shanker Sharma²²; Alok Sharma²³; Xijing He²⁴; Dafin Muresanu²⁵; Shiqing Feng²⁶; Ali Otom²⁷; Dajue Wang²⁸; Koichi Iwatsuki²⁹; Jike Lu³⁰; Adeeb Al-Zoubi³¹. Consensus of clinical neurorestorative progresses in patients with complete chronic spinal cord injury. *Cell Transplantation*. 2014 Oct 9

Yu-ichiro Ohnishi, Koichi Iwatsuki, Toshiki Yoshimine, Koshi Ninomiya, Toshika Ohkawa. Depletion of glial cell line-derived neurotrophic factor by disuse muscle atrophy exacerbates the degeneration of alpha motor neurons in caudal regions remote from the spinal cord injury. *Neuroscience & Medicine (NM)* 2014, 5, 214-221

Koshi Ninomiya, Koichi Iwatsuki, Yu-ichiro Ohnishi, Takashi Moriwaki, Toshiki Yoshimine. A case of contralateral lower extremity paresthesia involving a cervical schwannoma from the anterior nerve root. *Journal of Neuroscience and Behavioral Health* vol 6(3), pp9-12 Sep. 2014 doi 10.5897//JNBH2014.0117

Yu-ichiro Ohnishi, Koichi Iwatsuki, Toshiki Yoshimine, Koshi Ninomiya, Toshika Ohkawa. Retro-odontoid synovial cyst resected via an anterolateral approach without fusion in *European Spine Journal* 2014 Sep 12

Koshi Ninomiya, Koichi Iwatsuki, Yu-ichiro Ohnishi, Toshika Ohkawa and Toshiki Yoshimine. Adjacent Lumbar Disc Herniation after Lumbar Short Spinal Fusion. *Case Reports in Orthopedics*. vol. 2014, Article ID 456940, 4 pages, 2014. doi:10.1155/2014/456940

Takashi Moriwaki, Koichi Iwatsuki, Yu-ichiro Ohnishi, Koshi Ninomiya, and Toshiki Yoshimine. Presence of trans-synaptic neurons derived from olfactory mucosa transplanted after spinal cord injury. *Spine* 2014 Jul 15;39(16):1267-73. Doi: 10.1097/BRS.0000000000000386.

Koichi Iwatsuki, Toshiki Yoshimine, Yu-ichiro Ohnishi, Koshi Ninomiya, Takashi Moriwaki. Syringomyelia associated with spinal arachnoiditis treated by partial arachnoid dissection and syrinx-far distal subarachnoid shunt. *Clinical Medicine Insights: Case Reports* 2014;7 107-110 doi: 10.4137/CCRep.S14895

Koichi Iwatsuki, Toshiki Yoshimine, Yu-ichiro Ohnishi, Koshi Ninomiya, Toshika Ohkawa. Surgical technique: Isthmus guided cortical bone trajectory for pedicle screw insertion. *Orthopaedic surgery* 2014 Aug;6(3):244-8. doi: 10.1111/os.12122.

Ishihara, Masahiro; Mochizuki-Oda, Noriko; Iwatsuki, Koichi; Kishima, Haruhiko; Ohnishi, Yu-ichiro; Moriwaki, Takashi; Umegaki, Masao; Yoshimine, Toshiki
Primary olfactory mucosal cells promote axonal outgrowth in a three-dimensional assay *Journal of Neuroscience Research* 2014 Feb 14 doi: 10.1002/jnr.23367.

岩月幸一；嗅粘膜移植による脊髄神経再生治療 臨床評価 Clinical Evaluation vol.42, No.1, Jul. 2014, p55-59

岩月幸一：脊髄神経再生の現状 脊髄外科 教育総説 vol.29, No.1, 2015

2. 学会発表

Involuntary muscle spasm expressed as motor evoked potential after olfactory mucosa autograft in patients with chronic spinal cord injury and complete paraplegia

ASTNR2014(American society for neural therapy and repair) 21th annual meeting 2014 April 24-26
Sheraton sand key resort Clearwater beach, Florida

K.Iwatsuki, T. Yoshimine, Y.Sankai, F. Tajima, M. Umegaki, Y-I. Ohnishi, M. Ishihara, K.Ninomiya, T. Moriwaki

第49回日本脊髄障害医学会 2014年9/11-12 旭川
慢性期完全脊髄損傷に対する嗅粘膜移植法：経過報告
大阪大学脳神経外科 岩月幸一、大西諭一郎、二宮貢士、大川都史香

第15回日本分子脳神経外科学会 2014/9/25-26 山形
急性期脊髄不全損傷ラットに対する骨髄間質細胞鼻腔内投与について
大阪大学脳神経外科 二宮貢士、岩月幸一、大西諭一郎、大川都史香、吉峰俊樹

第73回日本脳神経外科学会学術総会 2014/10/9-11 品川
学術委員会企画 再生医療と細胞医療 慢性期完全脊髄損傷に対する嗅粘膜移植法
大阪大学脳神経外科 岩月幸一

日本リハビリテーション医学会 専門医認定医障害教育研修会 中国四国地方会
徳島 2014 10/25
慢性期完全脊髄損傷に対する嗅粘膜移植法とリハビリテーション 岩月幸一

第38回日本脳神経外傷学会 2015/03/06-7 徳島
教育セッション 脊髄損傷 脊髄損傷の再生医療 大阪大学脳神経外科 岩月幸一

第14回日本再生医療学会 2015/03/19-21 横浜
急性期脊髄不全損傷ラットに対する骨髄間質細胞鼻腔内投与による治療効果について
大阪大学脳神経外科 二宮貢士、岩月幸一他

H. 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. 報道実績

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

[雑誌]

Takashi Moriwaki, Koichi Iwatsuki, Yu-ichiro Ohnishi, Koshi Ninomiya, and Toshiki Yoshimine. Presence of trans-synaptic neurons derived from olfactory mucosa transplanted after spinal cord injury. *Spine* 2014 Jul 15;39(16):1267-73. Doi: 10.1097/BRS.0000000000000386.

Koshi Ninomiya, Koichi Iwatsuki, Yu-ichiro Ohnishi, Takashi Moriwaki, Toshiki Yoshimine. Intranasal Delivery of Bone Marrow Stromal Cells to Spinal Cord Lesions. *JNS spine* 2015 Apr 3:1-9

Hongyun Huang¹; Tiansheng Sun²; Lin Chen³; Gustavo Moviglia⁴; Elena Chernykh⁵; Klaus von Wild⁶; Haluk Deda⁷; Kyung-Sun Kang⁸; Anand Kumar⁹; Sang Ryong Jeon¹⁰; Shaocheng Zhang¹¹; Giorgio Brunelli¹²; Albert Bohbot¹³; Maria Dolores Soler¹⁴; Jianjun Li¹⁵; Alexandre Fogaça Cristante¹⁶; Haitao Xi¹⁷; Gelu Onose¹⁸; Helmut Kern Ludwig Boltzmann¹⁹; Ugo Carraro²⁰; Hooshang Saberi²¹; Hari Shanker Sharma²²; Alok Sharma²³; Xijing He²⁴; Dafin Muresanu²⁵; Shiqing Feng²⁶; Ali Otom²⁷; Dajue Wang²⁸; Koichi Iwatsu²⁹; Jike Lu³⁰; Adeeb Al-Zoubi³¹. Consensus of clinical neurorestorative progresses in patients with complete chronic spinal cord injury. *Cell Transplantation*. 2014 Oct 9

Yu-ichiro Ohnishi, Koichi Iwatsuki, Toshiki Yoshimine. Depletion of glial cell line-derived neurotrophic factor by disuse muscle atrophy exacerbates the degeneration of alpha motor neurons in caudal regions remote from the spinal cord injury. *Neuroscience & Medicine* 2014、 5、 214-221
<http://dx.doi.org/10.4236/nm.2014.55025>

Ohnishi, Yu-ichiro; Maruo, Tomoyuki; Shinzawa, Koei; Iwatsuki, Koichi; Moriwaki, Takashi; Oshino, Satoru; Kishima, Haruhiko; Yoshimine, Toshiki
"Olfactory sphere cells are a cell source for GABA producing neurons" *Journal of Neuroscience Research* 2015 Mar 18. doi: 10.1002/jnr.23585