

京都大学教育研究振興財団助成事業  
成果報告書

2024年 7月 2日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団

会長 藤 洋作 様

所属部局・研究科 医学研究科人間健康科学系専攻

職名・学年 博士後期課程3回生

氏名 徐 仕軒

助成の種類	令和6年度 ・ 国際研究集会発表助成			
研究集会名	第7回国際組織工学・再生医療学会世界会議			
発表形式	<input type="checkbox"/> 招待 ・ <input type="checkbox"/> 口頭 ・ <input checked="" type="checkbox"/> ポスター ・ <input type="checkbox"/> その他(			
発表題目	磁気刺激は脊髄背根神経節のニューロン細胞死を防止し、神経再生を促進して坐骨神経損傷モデルラットの運動機能を向上させる			
開催場所	アメリカ合衆国・ワシントン州・シアトル			
渡航期間	2024年 6月 24日 ～ 2024年 6月 30日			
成果の概要	タイトルは「成果の概要／報告者名」として、A4版2000字程度・和文で作成し、添付して下さい。「成果の概要」以外に添付する資料 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 有( )			
会計報告	交付を受けた助成金額	350,000 円		
	使用した助成金額	350,000 円		
	返納すべき助成金額	0 円		
	助成金の使途内訳 (差し支えなければ要した経費総額をご記入ください)	費目	金額(円)	
		航空運賃	201,720	
		宿泊費	148,280	
		滞在費		
		学会参加費		
その他				
	以上に助成金を充当			
当財団の助成について	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。) 私は京都大学教育研究振興財団の支援を受けて海外学術会議に参加する機会を得られたことを、心より感謝申し上げます。この会議に参加したことで、私の学術視野が広がり、様々な分野の専門家と出会う機会が提供され、私の研究進展に大きいに役立ちました。国際的な同僚との支援との交流を通じて、多くの貴重な意見や助言を得ることができ、今後の研究に重大な意義があります。財団今後の助成に対して、私は大きな期待と希望を抱いています。このような支援があれば、より多くの学生が学術研究に深く取り組み、より多くの高水準な国際学術会議に参加し、学術的なレベルと研究能力を向上させることができると信じています。			



## 成果の概要 / 徐 仕軒

### 【はじめに (背景・目的)】

末梢神経損傷 (PNI) は当該する感覚・運動機能障害が生じる。これにより、患者の生活の質に大きな影響を与えることがある。重度の PNI は脊髄および後根神経節 (DRG) における逆行性ニューロン細胞死と関連することがある。損傷後のニューロン細胞数の減少は神経再生を妨げ、その結果、機能的欠陥を引き起こす。神経自家移植は PNI のためのゴールドスタンダードの外科治療と見なされているが、ニューロン細胞死はその後の神経再生および機能回復のための課題として残っている。この現象は PNI 患者のリハビリテーションプロセスを遅らせ、通常の仕事や生活への復帰に大きな影響を与える。したがって、損傷後の細胞死を抑制することができれば、神経再生と機能回復が促進され、PNI 患者の生活の質を改善し、より良いリハビリテーションの成果を達成することができる可能性がある。

磁気刺激 (MS) は神経損傷に対する新たな治療方法としてよく使われている。参考研究により、軸索あるいは脊髄損傷後、MS は非侵襲的な脊髄または脊髄神経根刺激を提供し、神経再生微小環境に影響を及ぼし、神経可塑性変化を引き起こすことができる。そして、末梢神経への MS による軸索再生促進効果が動物実験においても確認されていた。しかし、脊髄に存在するニューロン本体への刺激により PNI 後の軸索再生及びニューロン自体への影響はまだ解明されていない。

したがって、本研究ではこれをさらに発展させ、ニューロン本体に直接刺激し、非侵襲的な MS が PNI 後のニューロン生存と神経再生に及ぼす影響を検討し、神経再生と運動機能回復に与える影響を明らかにすることを目的とする。

### 【方法】

12 週齢 Lewis ラットを MS 群、対照 (CON) 群と無損傷群に分けた。MS 群や CON 群に対し、坐骨神経に 8 mm 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 MS 群に周波数 20 Hz, 1600 パルス/日の MS 治療

(Pathleader, 株式会社 IFG) を毎日実施した。損傷 1 週、4 週、8 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。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) も実施した (各群各時点  $n = 6$ )。また、8 週の時点で、軸索再生解析、筋電及び三次元動作解析システムを用いた運動機能解析も行った。統計手法は MS 群と CON 群の 2 群間で Student の  $t$  検定を行い、無損傷群 ( $n = 6$ ) との群間で Dunnett' s 検定を行った。有意水準は 5% とした。

### 【結果】

損傷後 1 週において、無損傷群と比較して CON 群で細胞数が減少し、その変化は 8 週後まで継続した。すべての時点で前角細胞数は MS 群と CON 群の間に有意差は認められなかったが、DRG 細胞数は 1 週と 4 週の時点で MS 群で有意に高かった (1 週:  $p < 0.05$ , 4 週:  $p < 0.01$ )。損傷後 1 週において、Bax の mRNA は MS 群と比較して CON 群で有意に高かった ( $p < 0.01$ )。4 週において、Bax と Bcl-2 の mRNA は CON 群と比較して MS 群で有意に高かった ( $p < 0.01$ )。そして、損傷後 8 週の時点で、筋電の結果について、腓腹筋の振幅は有意差が認められなかったが、潜時は MS 群に有意な改善が見られた。次は、損傷 8 週後の移植した神経の再生について、有髄線維、軸索の直径及び髄鞘の厚さは MS 群と対照群の間に有意な差が認められなかった。有髄線維の密度は MS 群で有意に高かった。運動機能解析の結果について、無損傷群と比べて対照群と MS 群の Ankle と Toe の Angle はともに明らかに減少した。MS 群は対照群に比べ

て Ankle angle の改善が認められなかったが、Toe angle が有意に増加した。

#### 【考察】

これらの解析により、MS 治療が DRG ニューロンへの細胞死防止効果、神経再生促進効果及び運動機能回復促進効果があることを確認した。一方で、前角ニューロンへの効果は認められなかった。これは、MS を背側から刺激しているため、前角まで刺激が到達していないことが要因の一つであると推察している。さらに、1 週において PNI によって惹起された DRG における Bax の遺伝子発現応答が MS によって減弱し、4 週では Bax と Bcl-2 の両者の増強反応が認められた。これは、細胞死が生じる損傷後 1 週までに MS 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防止する可能性を示唆している。

本研究にはいくつかの制限がある。3D 動作分析を通じて、MS が PNI 後の Toe Angle の回復を改善することを発見したことはある程度運動機能の回復を反映している。しかし、運動機能の回復を促進するための MS の有効性を検証するには、さらなる分析が必要である。そして、DRG ニューロンは感覚ニューロンであるが、本研究では感覚機能に関連する評価は行わなかった。感覚機能と運動性能は密接に関連しているため、感覚関連の分子および機能に対する MS の影響を調査するためには、さらなる研究が必要である。

#### 【結論】

PNI モデルラットへの MS 治療は、DRG における細胞死を抑制し、神経再生及び運動機能回復を促進し、Bax 遺伝子の発現抑制が関与する可能性を示唆した。

この研究は、重度の PNI 後のニューロン細胞死を防止し、神経再生および機能回復に関連する障害を克服するための治療法の開発をさらに進展させることに寄与する。ニューロン細胞死を早期に防ぐための MS の具体的なメカニズムを解明し、最適なパラメータを決定するためには、さらなる研究が必要である。