

研 究 成 果

サブテーマ名：(3)中枢性運動機能及び電気刺激に伴う神経・筋機能の解明		フェーズ
(1)インテリジェントFESによる生態機能再建システムの開発		フェーズ
小テーマ名： 電気刺激に伴う神経・筋機能の解明		
サブテームリーダー		
研究従事者	東北大学大学院医学系研究科	共同(委託)研究員 近藤尚武
	東北大学大学院医学系研究科	共同(委託)研究員 近藤尚武
	東北大学大学院医学系研究科	共同研究員 阪上洋行
	東北大学大学院医学系研究科	共同研究員 大和田祐二
	東北大学大学院医学系研究科	共同研究員 斎藤幸子
	東北大学大学院医学系研究科	共同研究員 吉田美加
	財団法人みやぎ産業振興機構	派遣研究員 鈴木木地
研究の概要、新規性及び目標		
研究の概要		
<p>脳から脊髄前角運動ニューロンへの指令が病的に遮断された個体において、末梢運動神経線維に強制的・持続的に機能的電気刺激を与えることが、脊髄前角運動ニューロンと支配骨格筋細胞でおきている正常生理的条件下での現象と如何なる変動を惹起するかについて、遺伝子工学・分子生物学的手法を駆使して追求する。これらの所見から、障害脊髄例での運動神経機能的電気刺激による機能回復の分子基盤を確立する基礎データを構築する。</p>		
研究の独自性・新規性		
<p>機能回復効果が明確になりつつある機能的電気刺激の作用機構、特に分子・遺伝子レベルでの機構理解は大きく遅れており、近年発展の著しい分子生物学や遺伝子工学的研究手法によるその機構の本格的な追求はほとんど無いと言えよう。この点に着目して、実験動物を使って機能回復の分子基盤を模索することが正に独自性・新規性であると言える。</p>		
研究の目標		
<p>フェーズ I：脊髄レベルでの外的損傷により、損傷部より下位と上位の脊髄前角細胞に如何なる形態の変化および既知の機能分子(神経伝達物質・調節物質、それらの受容体、さらに受容体アンカー因子など)のうちのどの分子が遺伝子発現変動が招来されるかを組織学、遺伝子工学的に解析する。次いで発現変動を示す未知分子の探索を遂行する。</p>		
<p>フェーズ II：脊髄損傷後の神経筋接合部の形態と機能分子発現局在の変化が招来するかを精査する。さらに、外傷に伴うニューロン樹状突起の退縮に着目して、シナプス構成に重要な樹状突起の形成維持の分子機構に焦点を絞り、small G タンパクのひとつである ARF6 活性化因子のEFA6の樹状突起内遺伝子発現の機能的意義を追及する。併せて、フェーズ I IIともに、神経系シグナル伝達関連のリピドキナーゼやプロテインキナーゼおよびホスファターゼの発現局在解析を脊髄損傷に関連させて遂行した。</p>		
研究の進め方及び進捗状況		
<p>成熟ラット(8週齢・雄)を全身麻酔下でその脊髄を上部胸部レベルで外科的に全横断切をおこなひ、以後経時的(1日、2日、1週、2週、4週)に下部腰髄を採取した。一方、脊髄露出のみの手術後直ちに縫合・回復させたラットを同様の時間経過後にコントロールとして実験に供した。組織学的には、前角神経細胞の数、サイズ、シナプスの形状などの変化を光顕・電顕的に解析した。次いで、アセチルコリン合成酵素(ChAT)、CGRP(calcitonin gene related peptide)、agrin、ARIA、さらに種々のGABAとグルタメートの受容体を解析標的として、ノーザンブロット解析と遺伝子組織化学的解析によりこれらの分子のmRNAの発現局在の変動の有無を精査した。さらに同試料を用いた遺伝子サブトラクション法による既知、未知分子のうちでの発現変動を示すものを探索した(フェーズ I)。脊髄全横断切後2週の成熟ラットの後肢のEDL(長指伸筋)を試料として、texas red-conjugated α-bungarotoxinおよび抗synaptophysin抗体を用いた免疫組織化学的処理を行った後、光学顕微鏡下での神経筋接合部の大きさと形状を正常例(control/sham)と脊髄横</p>		

設備費	0	0	0	0	0	0	0	294
その他研究費(消耗品費、材料費等)	0	0	0	0	0	0	0	22,506
旅費	0	0	0	0	0	0	0	5,590
その他	0	0	0	0	0	0	0	363
小計	0	0	0	0	0	0	0	52,391

代表的な設備名と仕様 [既存 (事業開始前) の設備含む]

ＪＳＴ負担による設備：バイオフィーザ

地域負担による設備：

複数の研究課題に共通した経費については按分する