

Title : Optimal electrical stimulation boosts stem cell therapy in nerve regeneration.

著者 : Du J, Zhen G, Chen H, Zhang S, Qing L, Yang X, Lee G, Mao HQ, Jia X.

雑誌 : Biomaterials. 2018 Oct;181:347-359.

PMID: 30098570

最適な電気刺激が神経再生における幹細胞療法を促進する

訳者 : 日産厚生会 玉川病院 山田 啓介

1. はじめに

末梢神経損傷は、米国で年間約 2000 万人が受傷し、治療費は 1500 億ドルを超える。一般的な治療法として自家神経移植が用いられるが、ドナー部位の適合性や供給不足などの課題がある。一方、幹細胞移植は有望な治療戦略として注目されており、特に神経堤幹細胞 (neural crest stem cell : NCSC) は軸索再生や神経細胞の生存促進に寄与すると考えられる。しかし、NCSC の生存率や分化効率の低さが臨床応用の障壁となっている。

電気刺激 (electrical stimulation : ES) は、幹細胞の増殖や分化を促進する可能性があり、末梢神経修復への応用が期待される。本研究では、ES が NCSC の分化を促進し、移植後の神経再生に与える影響を検討し、新たな末梢神経修復アプローチを提案することを目的とした。

2. 方法

本研究は、in vitro (細胞実験) と in vivo (動物実験) の二段階で構成された。

細胞実験では、独自に開発した 96 ウェル電気刺激プラットフォームを使用し、NCSC の生存率およびシュワン細胞への分化を最大限に促進する電場強度・周波数・パルス時間を検討した。細胞を異なる電気刺激条件下で培養し、免疫染色を用いて神経細胞およびシュワン細胞への分化を評価した。

次に、動物実験では、ラットの坐骨神経を 15mm 欠損させ、以下の 5 つのグループに分けて比較を行った。(1) 対照群 (CTL) : 電気刺激なし・細胞移植なし、(2) ES 群 : 電気刺激のみ、(3) NCSC 群 : NCSC 移植のみ、(4) NCSC+ES 群 : NCSC 移植 + 電気刺激、(5) 自家移植

(Autograft) : 自家神経移植 (標準治療群)。電気刺激は 1 時間適用した。評価項目として、免疫組織学的解析により軸索の再生やシュワン細胞の分化を観察し、電気生理学的解析により軸索の伝導速度を測定した。また、筋萎縮の程度を評価するために腓腹筋の質量を測定し、さらに機能的回復の指標として CatWalk 解析を用いた歩行能力の評価を行った。

3. 結果

細胞実験の結果、最適な電気刺激条件は 200mV/mm、20Hz、100 μ s パルスであることが明らかになった。この条件で刺激を加えた NCSC は、シュワン細胞への分化が顕著に促進された。また、カソード側（陰極）で培養した場合に、細胞の生存率と分化効率が最も高くなることが示唆された。

次に、動物実験の結果、NCSC+ES 群は自家移植群と同等の神経再生効果を示し、特に神経組織の修復や機能回復において顕著な改善が見られた。免疫染色による解析では、NCSC+ES 群の有髄軸索密度が ES なしの NCSC 群より有意に増加し ($p < 0.05$)、シュワン細胞マーカー (S100) の発現も有意に増加していた ($p < 0.05$)。また、筋萎縮の軽減に関しては、腓腹筋の質量が NCSC+ES 群で有意に保持され、自家移植群と同程度の結果を示した ($p > 0.05$)。歩行能力の回復を示す CatWalk 解析の結果、NCSC+ES 群の立脚時間が対照群および ES 群より有意に長く、歩行機能の改善が確認された ($p < 0.05$)。また、ストライド長の回復も顕著で、損傷側と健常側の差が縮小していた。さらに、軸索伝導速度の改善も認められたが、有意差には至らなかった。

4. 結論

本研究により、電気刺激が NCSC 移植の効果を増強し、末梢神経の再生を促進することが示された。特に、NCSC+ES 療法は自家移植と同等の神経再生効果を達成し、筋萎縮の軽減や歩行機能の回復を促進することが明らかになった。NCSC 移植のみでは限定的な効果しか得られなかったのに対し、ES との併用により神経再生が著しく向上したことから、電気刺激が NCSC の生存率向上やシュワン細胞分化を促進することが示唆される。ES の作用機序として、電場が細胞膜のイオンチャンネルを調節し、特定のシグナル伝達経路を活性化することが考えられる。これまでの研究では、ES がシュワン細胞の分化を促し、神経栄養因子の分泌を増加させることが報告されており 1)、本研究でも同様の効果が確認された。

本研究の成果は、幹細胞治療の臨床応用に向けた新たな可能性を示すものであり、末梢神経損傷の治療戦略における画期的なアプローチとなる可能性がある。従来の自家移植の代替治療として、ES+NCSC 移植の併用療法が有効であることが示されたことで、今後の臨床応用に向けたさらなる研究が求められる。特に、大動物モデルでの検証や長期的な神経機能の評価が必要であり、ES の適用方法や最適な刺激条件のさらなる改良が期待される。

5. 私見

本研究は、電気刺激 (ES) が幹細胞の分化や神経再生を促進し、末梢神経損傷治療の新たな可能性を示唆する。特に、ES が細胞移植の生着や機能回復を補助する点は、再生リハビリテーションへの応用が期待される。河合²⁾は、細胞移植に加え、超音波・磁気刺激・トレッドミル運動などが軸索再生を促すと報告しており、本研究の成果はそれを補強するものと言える。

一方、本研究ではラットに運動療法が行われておらず、ES + NCSC 移植単独の効果のみが評価されている。生体内での長期的な機能回復への影響は不明であり、今後の課題となる。今後は、ES + NCSC 移植に運動療法を組み合わせた統合的なリハビリテーション戦略を検討し、その相乗効果を明らかにすることで、より効果的な治療法の確立が期待される。

6. 引用文献

- 1) Yan X, Liu J, Ye Z, Huang J, He F, Xiao W, Hu X, Luo Z, CaMKII-mediated CREB phosphorylation is involved in Ca²⁺-Induced BDNF mRNA transcription and neurite outgrowth promoted by electrical stimulation, PLoS One 11 (9), 2016.
- 2) 河合秀紀, 伊藤明良, 青山朋樹, 末梢神経再生における細胞移植とリハビリテーション, 日本基礎理学療法学雑誌 21 (1) 9-15, 2018.