

Title	Novel technique for peripheral nerve reconstruction in the absence of an artificial conduit
Sub Title	人工の管腔構造を用いない新しい末梢神経の再建方法
Author	小見山, 貴継
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.1 (2005. 3) ,p.28-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050302-0028

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Novel technique for peripheral nerve reconstruction in the absence of an artificial conduit

(人工の管腔構造を用いない新しい末梢神経の再建方法)

小見山 貴継

内容の要旨

末梢神経の損傷は重篤な四肢の機能障害を生じるが、マイクロサージャリーによって縫合すると神経再生により再び元の機能を回復できる。しかしながら、欠損部が大きい場合は何らかの代用物を移植し欠損部を架橋する必要があった。シュワン細胞を含有する人工神経は理論上ではチュービング単独よりも有利と思われるが、問題点もあり臨床応用には未だ到っていない。それは、生体吸収素材による異物反応やチューブという閉鎖空間で移植した脆弱な成体シュワン細胞が長期生存できない点などである。その一方で、シュワン細胞は高密度で培養された場合、自家栄養供給で長期生存できることが分かってきた。本研究では、組織工学の技術を応用することで移植した細胞を長期間生存させ、従来から試みられてきた管腔構造に代わる新たな構造の人工神経を作製しその有用性を検討した。10週齢ラットより成体シュワン細胞を採取し *in vitro* で4週間培養したのち、生体吸収性ゲルとポリグリコール酸繊維 (PGA) 複合体に播種しシリコン鋳型とともに8週齢のヌードマウスの皮下に移植した。6週後にシリコン鋳型を摘出し、その管腔より白い線維性の神経様の組織を得た。HE染色では自家坐骨神経と比較して類似した構造が認められた。また免疫染色では、S100・GFAP・DAPIで染色される細胞が多数認められた。1群：上記で得られた神経様組織を10週齢ヌードラットの左坐骨神経欠損部1cmに移植した。2群：1群と同様に神経欠損部を同量のシュワン細胞とゲル、PGA複合体を含有したシリコンチューブで架橋した。3群：1cm長の左坐骨神経を切除し、再び移植片を縫合した。8週間後、移植部は、1群では白い神経様組織で架橋され、2群でもシリコンチューブ内に細い再生した神経が認められた。3群では、移植した神経片は良好に生着していた。電顕で軸索径は3群で有意に高値であった。軸索数は1、3群に有意差は認められなかったが、2群で有意に低下していた。運動機能評価は1、3群に有意差は認められなかったが、2群で有意に低下していた。GFPの発現は、1群で移植後8週においても認められたが、2群では認められず、有意に低下していた。これらの結果から、作製した人工神経内で成体シュワン細胞が長期生存し、それが軸索の伸展または内因性のシュワン細胞の遊走に寄与したと考えられた。以上より、患者自身の細胞を使用し、人工の管腔構造を用いない今回の人工神経は今後の臨床で、末梢神経再建法の一つとして有効である事が示唆された。

論文審査の要旨

末梢神経損傷後の欠損部には何らかの代用物を移植しその欠損部を架橋する必要があった。シュワン細胞を含有する人工神経は理論上ではチュービング単独よりも有利と思われるが、臨床応用となるとまだ多くの問題点を残している。それは、生体吸収素材による異物反応やチューブという閉鎖空間で移植した脆弱な成体シュワン細胞が長期生存できないためと考えられる。本研究では、組織工学の技術を応用することで移植した細胞を長期間生存させ、従来から試みられてきた管腔構造に代わる新たな構造の人工神経を作製しその有用性を検討した。10週齢ラットより成体シュワン細胞を採取し *in vitro* で4週間培養したのち、生体吸収性ゲルとポリグリコール酸繊維複合体に播種しシリコン鋳型とともに8週齢のヌードマウスの皮下に移植した。6週後にシリコン鋳型を摘出し、その管腔より白い線維性の神経様の組織を得た。HE染色では自家坐骨神経と比較して類似した構造が認められ、免疫染色ではS100・GFAP・DAPIで染色される細胞が多数認められた。次に得られた神経様組織を10週齢ヌードラットの左坐骨神経欠損部1cmに移植し、8週間後摘出したところ、移植部は白い神経様組織で架橋され再生した軸索が認められた。組織像では移植したシュワン細胞が発現するGFPが認められた。運動機能評価では自家神経移植に匹敵する良好な成績が得られた。以上の結果から、作製した人工神経内で成体シュワン細胞が長期生存し、それが軸索の伸展または内因性のシュワン細胞の遊走に寄与したと考えられた。

審査では、まず移植後GFPの減少する理由が質問された。それに対して、移植した細胞のアポトーシスや内因性シュワン細胞の遊走などが考えられるとの回答がなされた。また、シュワン細胞のアポトーシスなどは測定したか、という質問がなされ、Tunnel ASSAYにて検証済みであるとの回答がなされた。さらに、電顕像でのミエリンが内因性のシュワン細胞によるものか移植した細胞によるものか識別可能か、との質問がなされたが、残念ながら電顕では移植した細胞の識別方法は施行していないとの回答がなされた。移植した細胞の役割を明らかにするため、さらなる検証が必要であるとの示唆を受けた。またシュワン細胞の軸索誘導の機構はどういうものであるかとの質問がなされ、軸索の伸展に先んじてシュワン細胞が遊走し、それにともないNCAMやP0などの蛋白の発現が認められるとの回答がなされた。現在の諸説では、NGF、IGF、PDGFなどの液性因子がシュワン細胞から発現され軸索の誘導がなされると言われており、本研究でもそれらの液性因子の定量が必要であるとの示唆を受けた。

以上のように、本研究はさらに検討されるべき点を残しているものの、シュワン細胞を用いた人工神経の開発への新たな道を切り拓いた点が有意義であると評価された。

論文審査担当者 主査 整形外科学 戸山 芳昭
生理学 岡野 栄之 内科学 鈴木 則宏
解剖学 仲嶋 一範
学力確認担当者：北島 政樹、岡野 栄之
審査委員長：岡野 栄之

試問日：平成16年12月17日