

報告番号	甲 ㊦ 第	号	氏 名	松 尾 知 樹
主 論 文 題 名 Peripheral nerve regeneration using a bioresorbable silk fibroin-based artificial nerve conduit fabricated via a novel freeze – thaw process (凍結融解を用いた新規製法により作成されたシルクフィブロイン由来の生体吸収性人工神経を用いた末梢神経再生に関する研究)				
(内 容 の 要 旨) カイコが産生する天然シルク由来のタンパク質であるSilk Fibroin (SF) は、高い生体親和性を有するが、人工神経としての製法は確立していない。我々は凍結融解を用いた新規製法により、SFのみで構成され、安全性の高い生体吸収性SF conduit (SFC) を開発した。本研究では、SFCの特徴的物性を評価するとともに、ラット坐骨神経欠損モデルにおけるSFCの末梢神経再生効果を明らかにした。 カイコ繭からSFを抽出した後、1 % dimethyl sulfoxideを含有する8 %SF水溶液を調製し、-20℃の凍結と融解を経て、中空構造のSFCを形成した。物性評価として、含水率、孔径、圧縮応力、圧縮後の復元率を測定した。さらにプロテアーゼXIVを用いた加速試験により、分解性を評価した。次に、野生型ラットの左坐骨神経13mm欠損モデルを用いて、シリコンチューブ移植群、SFC移植群、自家神経移植群、Sham群の4群 (各n=10) を作成し、末梢神経再生効果を評価した。評価項目は、移植後12週における、坐骨神経機能指数、足関節可動域、Von Frey test、Hargreaves test、腓腹筋運動神経複合活動電位、腓腹筋重量健側比とした。さらに、免疫染色や電子顕微鏡を用いて、再生軸索 (トルイジンブルー染色)、再生髄鞘 (MBP染色、G-ratio)、血管新生 (CD31染色)、M2マクロファージ (Iba1+Arginase1染色) を定量化し評価した。 物性評価の結果、SFCは90%以上の高い含水率と平均孔径は32μmの多孔質構造を示した。25%および50%圧縮応力はそれぞれ0.07±0.02 N、0.16±0.04 Nであり、圧縮による脆弱破壊は認めなかった。50%圧縮後の復元率は98.5±1.0%であった。また酵素分解試験では、28日間で良好な分解性を示した。これらの結果より、SFCは人工神経として理想的な物性条件を有している可能性が示唆された。次に、ラットを用いた移植実験では、SFCは管腔構造を維持し、内腔に良好な再生組織を認めた。SFC群は、シリコンチューブ移植群と比較して、全ての評価項目で有意に改善を認めた。自家神経移植群との比較では、坐骨神経機能指数、足関節可動域、Von Frey test、Hargreaves test、再生軸索の評価項目において、同等の神経再生効果を示した。またSFCの内腔には、CD31およびIba1+Arginase1両陽性染色領域を広く認め、良好な血管新生およびM2マクロファージ誘導が示唆された。 本研究では、新規製法により作成されたSFCが高い生体親和性、構造安定性、生分解性を有し、神経欠損部への移植実験において高い末梢神経再生効果を示すことが明らかになった。SFCの特徴的物性が、管腔構造の維持とともに、再生組織の足場や成長栄養因子の流入に寄与し、血管新生、M2マクロファージの誘導を起点とする末梢神経再生機構に有利に働いた可能性がある。本SFCはSF由来の初の人工神経として今後の臨床応用が期待される。				