

京都大学	博士 (医 学)	氏 名	淘 江 宏 文
論文題目	The efficacy of a scaffold-free Bio 3D conduit developed from human fibroblasts on peripheral nerve regeneration in a rat sciatic nerve model (ラット坐骨神経モデルにおけるヒト線維芽細胞を用いた scaffold-free Bio 3D conduit の末梢神経再生に対する有効性)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>(背景) 神経欠損を伴う末梢神経損傷に対しては自家神経移植が一般的に行われているが、神経採取部の障害が問題となる。代替療法として人工神経を用いて神経欠損部を架橋したり、より良い神経再生のために人工神経内に再生促進効果のある細胞を投与する方法が実験的には行われているが、生存し残存する細胞は少ないことが知られている。本研究では細胞のみからなる神経導管をバイオ 3D プリンタを用いて作成し、それによる末梢神経再生促進効果をラット坐骨神経欠損モデルを用いて評価した。</p> <p>(方法) ヒト線維芽細胞を 96 ウェルプレートに 3×10^5 細胞/mL で播種した。48 時間後に形成された細胞塊 (直径 $750 \pm 50 \mu\text{m}$) をバイオ 3D プリンタを用い、三次元データに基づいて三次元管腔構造体 (Bio 3D conduit、長さ 8mm、外径 3mm、内径 2mm) を作成した。</p> <p>免疫不全ラット (雄、9~10 週齢、体重 210g~240g) を用い、右坐骨神経を大腿中央レベルで切離することによって、5mm の神経欠損モデルを作成した。Bio 3D conduit を同部位に挿入し、神経欠損部を縫合架橋した (A 群: n=6)。同長・同径のシリコンチューブを用いて縫合架橋した群をコントロール群とした (B 群: n=6)。移植後 8 週で歩行解析、電気生理学的評価、前脛骨筋筋湿重量測定を行い、再生神経の免疫組織染色、組織形態学的評価を行った。</p> <p>(結果) 歩行解析では遊脚終期における中足趾節関節角は、A 群 (-35.78 ± 10.68 度) で B 群 (-62.48 ± 6.15 度) と比較し有意に高値であった ($p < 0.01$)。電気生理学的評価では足部内転筋における複合筋活動電位は、A 群 ($53.60 \pm 26.36\%$) で B 群 ($2.93 \pm 1.84\%$) と比較し有意に高値であった ($p < 0.01$)。A 群全てで連続した再生神経を肉眼的に認めた。前脛骨筋筋湿重量では、A 群 ($54.4 \pm 6.3\%$) で B 群 ($39.6 \pm 3.1\%$) と比較し有意に高値であった ($p < 0.01$)。再生神経の免疫組織染色では、A 群において再生神経横断面で S-100 陽性細胞、縦断面で NF-200 陽性軸索を多数認めた。再生神経中央部における組織形態学的評価では、A 群はミエリン鞘の形成を伴う有髄軸索を多数認め、有髄軸索数は、A 群 (6516 ± 1694) で B 群 (2536 ± 1020) と比較し有意に高値であった ($p < 0.01$)。</p> <p>(考察) シュワン細胞、間葉系細胞、線維芽細胞等の末梢神経再生に対する促進効果については数多く報告されているが、従来の神経導管への細胞投与方法では十分な神経再生効果は得られていない。そこで今回の研究では、三次元細胞積層技術を利用し細胞のみからなる神経導管を作成、移植し、その効果を評価した。末梢神経損傷後にシュワン細胞が再配列し再生軸索の足場となるが、線維芽細胞は末梢神経再生過程において、このシュワン細胞を誘導することが報告されており、今回の研究においても誘導されたシュワン細胞による再生軸索の再髄鞘化によって良好な末梢神経再生が得られたと考えられた。再生神経による筋肉の再支配や、歩行解析の結果から機能的にも良好な神経再生が認められたと考えられる。</p>			

(結論) ラット坐骨神経損傷モデルにおいてヒト線維芽細胞からなる Bio 3D conduit の末梢神経再生に対する有効性を確認した。末梢神経損傷における有用な治療戦略の一つとなり得る。

(論文審査の結果の要旨)

本研究では三次元細胞積層技術を利用し細胞のみからなる神経導管を作成移植し、それによる末梢神経再生促進効果を検討した。免疫不全ラット坐骨神経 5mm 欠損モデルにおいて、実験群ではヒト線維芽細胞のみからなる 8mm の神経導管 (Bio 3D conduit) を作成移植し、対照群では、同サイズのシリコンチューブを移植して、比較検討を行った。移植後 8 週での評価では、歩行解析における遊脚終期の中足趾節関節角、電気生理学的評価において実験群は対照群と比較し有意に高値であった。再生神経の免疫組織染色、組織形態学的評価では実験群において良好なミエリン鞘の形成を伴う多数の有髄軸索を認め、有髄軸索数は、実験群で対照群と比較し有意に高値であった。今回の研究結果から、ヒト線維芽細胞によって誘導されたシュワン細胞による再生軸索の再髄鞘化によって末梢神経再生が促進され、再生神経による筋肉の再支配や歩行解析の結果から機能的にも良好な神経再生が得られたと考えられる。

以上の研究は三次元細胞積層技術を利用した再生医療の発展に貢献し、今後の末梢神経治療に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 31 年 2 月 26 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降