

氏 名	はし 橋 もと 本 ただし 正
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2575 号
学位授与の日付	平 成 15 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 生 理 系 専 攻
学位論文題目	Peripheral nerve regeneration through alginate gel: analysis of early outgrowth and late increase in diameter of regenerating axons. (アルギン酸ゲルを通路とする末梢神経再生: 再生初期における軸索伸長と慢性期における軸索径の増加についての解析)
論文調査委員	(主 査) 教 授 笹 井 芳 樹 教 授 金 子 武 嗣 教 授 井 出 千 束

論 文 内 容 の 要 旨

シュワン細胞および骨格筋線維の基底膜を含む細胞外物質は、末梢神経再生軸索の効果的な通路となり得ることが知られている。この事実は無細胞性の生体材料であっても再生軸索が伸長するための足場となり得ることを示している。この事実に基づき、自家神経移植に代わる様々な生体材料が研究されてきた。共有結合架橋アルギン酸ゲルは細胞毒性が低く、異物反応をほとんど惹起しないため、移植用材料としての望ましい条件を備えており、ネコおよびラットの末梢神経再生に有効であることが知られている。そこで学位申請者は、まずアルギン酸ゲルを用いた末梢神経再生について、術後2週以内の再生初期において、再生軸索/シュワン細胞とアルギン酸ゲルの相互作用を調べ、続いて、術後21ヶ月までの慢性期において、再生線維径の増加について解析を行った。さらに、電気生理学的に、移植部位における活動電位の伝導について検討を行った。

アルギン酸は β -D-マンヌロン酸(β -D-mannuronic acid)と α -L-グルロン酸(α -L-gluronic acid)から構成される天然酸性多糖類である。スポンジ状アルギン酸ゲルは、水溶液中での架橋反応によって透明な水膨潤性となったアルギン酸ゲルを洗浄し、凍結乾燥することによって調製した。それに γ 線滅菌を施して移植に用いた。ラットの右坐骨神経から神経片を切除して、10 mmの神経欠損を作成し、2枚のアルギン酸ゲルを神経欠損部に移植し両神経断端を架橋した。神経組織に対する縫合操作は行わなかった。対照として、コラーゲンスポンジ、フィブリン糊を移植し、アルギン酸ゲルを移植した場合と比較した。正常対照として同一個体の未処理の左坐骨神経を用いた。動物は灌流固定を行ない、宿主組織と共に移植部位を取り出して形態学的検討に供した。免疫組織化学的に、再生軸索は抗 β -チューブリンⅢモノクローナル抗体で、シュワン細胞は抗S100ポリクローナル抗体でそれぞれ同定した。電子顕微鏡用には、組織をエポンに包埋、超薄切片を作成した。電気生理学的には、麻酔下に移植部の近位側と遠位側の宿主坐骨神経を露出させ、活動電位を測定した。

術後4日目の再生軸索は、シュワン細胞および基底膜に被覆されない裸の線維で、部分的に分解したアルギン酸ゲル内を直接アルギン酸ゲルと接しながら伸長していた。術後1～2週では、再生軸索はシュワン細胞に取り囲まれた小神経束を形成したが、神経束周辺部に位置する少数の軸索は一部裸でアルギン酸ゲルと直接に接していた。一方、術後8～14日では、遠位断端から多数の基底膜を持たないシュワン細胞がアルギン酸ゲル内に遊走していた。また、術後初期には多数の肥満細胞がアルギン酸ゲル内に侵入していた。再生有髄線維の直径は術後8週では2 μ m以下のものが多かったが、術後21ヶ月では2～4 μ mのものが多くなり、正常坐骨神経と同様の有髄線維径分布様式を示した。術後12ヶ月の形態的所見から、アルギン酸ゲルはコラーゲンスポンジ、フィブリン糊より良好な神経再生が得られることが明らかであった。また、術後8週の電気生理的検索で、移植部を越える電気活動が観察された。

以上の結果は、アルギン酸ゲルが初期の再生軸索の伸長およびシュワン細胞の遊走に良好な微細環境を提供し、一定期間後には再生線維径を正常軸索と同等程度にまで増加させることが出来ることを明らかにした。この結果はアルギン酸ゲルを末梢神経再生のための移植材料として臨床的に用いる可能性を示すものである。

論文審査の結果の要旨

シュワン細胞および骨格筋線維の基底膜を含む細胞外物質が、末梢神経再生軸索の効果的な通路であるという研究結果は、無細胞性の生体材料が再生軸索伸長の足場となり得ることを示している。この事実に基づき、自家神経移植に代わる様々な生体材料が研究されてきたが、中でも共有結合架橋アルギン酸ゲルはネコおよびラットの末梢神経再生に有効であることが知られている。学位申請者は、再生初期における再生軸索／シュワン細胞とアルギン酸ゲルの相互作用および慢性期における再生線維径の増加について解析を行った。

アルギン酸ゲルをラット坐骨神経の10 mm 神経欠損部に移植し、両神経断端をアルギン酸と接続した。再生軸索は、術後4日目ではシュワン細胞や基底膜を持たない裸の線維として、部分的に分解したアルギン酸ゲル内を直接アルギン酸ゲルと接しながら伸長し、術後1～2週では、シュワン細胞に被覆された小神経束を形成した。一方、遠位断端からは多数の基底膜を持たないシュワン細胞がアルギン酸ゲル内に遊走した。術後21ヶ月では、再生有髄線維の直径は2～4 μm のものが増え、対側正常坐骨神経と同様の有髄線維径分布様式を示した。この結果は、アルギン酸ゲルが初期の再生軸索の伸長およびシュワン細胞の遊走に良好な微細環境を提供し、一定期間後には再生線維径を正常軸索と同程度にまで増加させることが出来ることを示すものである。

以上の研究は、生体材料による末梢神経再生メカニズムの解明と臨床応用に貢献し、神経科学の発展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15年1月24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。