

総説 「特集：再生医療とリハビリテーション」

末梢神経再生における細胞移植とリハビリテーション

河合 秀紀¹⁾, 伊藤 明良¹⁾, 青山 朋樹¹⁾

Cell transplantation and rehabilitation for peripheral nerve regeneration

Hideki Kawai¹⁾, Akira Ito¹⁾, Tomoki Aoyama¹⁾

Abstract

Autograft is a gold standard for regeneration after peripheral nerve defect but leads to donor-site dysfunction. Cell transplantation offers an alternative treatment for peripheral nerve injuries. Rehabilitation, such as ultrasound stimulation and exercise, could accelerate peripheral nerve regeneration. Therefore, a combination of rehabilitation and cell transplantation is expected to be a new strategy for peripheral nerve regeneration. In this paper, we review studies that describe rehabilitation after cell transplantation in animal models of peripheral nerve injuries. Ten studies on the combination of cell transplantation and rehabilitation were identified from PubMed. They transplanted Schwann or stem cells and conducted physical or exercise therapies as methods of rehabilitation. Either cell transplantation or rehabilitation could increase neurotrophic factors and promote nerve regeneration and functional recovery, which are better enhanced by their combination. However, there are some limitations. Compared with autograft, the effect of combination therapy is inadequate. Furthermore, differentiation of stem cells into Schwann cells is insufficient in vivo. For further advances of cell therapy to facilitate peripheral nerve regeneration, a study on optimal intensities of rehabilitation is required.

Key words: Peripheral nerve, Peripheral nerve injury, Peripheral nerve regeneration, Cell transplantation, Rehabilitation

1. はじめに

末梢神経損傷に対する治療として既に実臨床の場で自家神経移植が行われているが、そのためには移植に使われる神経の機能を失うことになる。自家神経移植に代わる治療法として、末梢神経損傷に対する細胞移植の基礎研究が進められている。また、末梢神経再生を促進させる取り組みとして超音波照射や運動といっ

たりリハビリテーションの手技が用いられており、細胞移植とリハビリテーションの併用が末梢神経再生のための新たな戦略として期待されている。そこで本稿では、細胞治療とリハビリテーションを組み合わせ、動物における末梢神経損傷に対する細胞移植とリハビリテーション効果について考察する。

2. 末梢神経障害の分類

末梢神経の軸索は内側から髄鞘、結合組織（神経内膜、神経周膜、神経外膜）に囲まれており、それぞれの組織の障害の有無によってSeddon¹⁾は一過性神経伝導障害（Neurapraxia）、軸索断裂（Axonotmesis）、神経断裂（Neurotmesis）の3段階に、Sunderland²⁾はGrade I からGrade V の5段階に末梢神経損傷を分類している。1本の軸索は神経内膜に囲まれており、

1) 京都大学大学院医学研究科 人間健康科学系専攻
Human Health Science, Graduate School of Medicine, Kyoto University

投稿責任者：青山朋樹
連絡先：〒606-8507 京都府京都市左京区聖護院川原町53
京都大学大学院医学研究科 人間健康科学系専攻
E-mail: aoyama.tomoki.4e@kyoto-u.ac.jp

神経周膜は複数の軸索を含んで神経束を形成し、神経外膜には複数の神経束が含まれる (Figure 1)。Seddonの分類における一過性伝導障害はSunderlandの分類のGrade I と対応しており、軸索や結合組織に損傷はなく、局所的な脱髄による一時的な伝導障害である。後述するワラー変性は起こらない。軸索断裂は損傷が及ぶ結合組織によってGrade II からGrade IV に細分化される。Grade II は軸索に損傷があるものの、結合組織の連続性は保たれている状態である。ワラー変性が起こるが、神経内膜が保たれており、軸索が伸張することで元通りの神経支配を獲得することができる。Grade III では神経周膜は保たれており神経束の構造は維持されるが、神経内膜が損傷されているため、軸索が元の神経効果器を支配できず過誤神経支配となり機能回復不全となることがある。Grade IV では神経周膜の損傷を含み、再生する軸索が神経束間の間隙に入り込んでしまふことがあり、神経効果器にたどり着くことができず自発的な回復はまれである。そのため神経周膜での縫合が必要となる。神経断裂はGrade V と対応している。神経構造体の全ての連続性が断たれた状態であり、回復には神経縫合が必要となる。

3. 末梢神経の再生

軸索が損傷するとそれより遠位の軸索や髄鞘はシュワン細胞やマクロファージの食作用によって変性、除去される。これをワラー変性と呼ぶ。ワラー変性の初期にはシュワン細胞が、後期にはマクロファージが主に関与する。損傷した末梢神経ではシュワン細胞がマクロファージの浸潤に従って増殖していき、神経内膜に沿ってビュングナー帯と呼ばれる軸索再生の足場を形成し、軸索を神経効果器へ誘導していく³⁾。ビュングナー帯が形成される前には血管新生が起こり、新生血管に沿ってシュワン細胞が移動していく。損傷部に浸潤したマクロファージは低酸素状態になると血管内皮細胞増殖因子を分泌して内皮細胞を集積することで血管新生を促進させる⁴⁾。

4. 末梢神経における細胞治療

シュワン細胞は末梢神経再生に主要な細胞であり、多くの実験で用いられているが、自己シュワン細胞の移植では自家神経移植と同じように自己の神経を採取してからシュワン細胞を分離する必要があるなどの問題が生じている⁵⁾。解決策として幹細胞を用いた移植の実験が行われている。幹細胞として、胚性幹細胞

(embryonic stem cells: ES細胞)、間葉系幹細胞、人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cells: iPS細胞) などが用いられている。ES細胞は胚発生の胚盤胞期から派生する多能性幹細胞である。シュワン細胞などへ分化させることができ末梢神経再生の効果が期待されるが、倫理的問題が壁となっている。間葉系幹細胞には骨髓、脂肪組織、羊膜などから採取したものがある。間葉系幹細胞は神経細胞やシュワン細胞といった中胚葉以外の組織にも分化させることができ、末梢神経の再生戦略として用いることができる。シュワン細胞と比べて採取は容易で、ES細胞のような倫理的問題は発生しない。iPS細胞は人工的に作られる多能性幹細胞であり、ES細胞における倫理的問題を回避できる移植用細胞源として期待されている。末梢神経損傷に対する幹細胞移植には、シュワン様細胞への分化、神経栄養因子の分泌、髄鞘形成の促進といった効果が期待される。幹細胞は損傷した神経に移植された後増殖を続け、適切な微小環境においてその場で必要とされている細胞種に分化していく。幹細胞は移植先で自発的にシュワン様細胞へ分化するが、その割合は低く、あらかじめ成長因子を与えることでシュワン様細胞へ分化させてから移植を行うことがある。幹細胞はシュワン様細胞に分化するだけでなく、神経成長因子 (nerve growth factor: NGF) や脳由来神経栄養因子 (brain-derived neurotrophic factor: BDNF)、血管内皮細胞増殖因子 (vascular endothelial growth factor: VEGF) といった成長因子を分泌させる能力も併せ持つため、移植先で神経再生に適切な微小環境を作り出し神経再生を促進させる。また、シュワン様細胞へ分化した幹細胞は損傷した神経において髄鞘形成を制御する転写因子を調整することで髄鞘形成を促進させることも報告されている⁶⁾。

5. 細胞移植とリハビリテーション

検索ワードを作成し (Table 1)、PubMedで検索した結果の1363件から、細胞治療とリハビリテーションを組み合わせた報告を10件抽出した。そのうち、リハビリテーションとして用いられていたのは、物理療法として超音波3件、超短波1件、レーザー1件、磁気刺激1件、高気圧酸素療法1件、運動療法としてトレッドミル1件、水泳2件であった。用いた細胞は、シュワン細胞が4件、iPS細胞由来神経堤幹細胞が1件、骨髓間質細胞が1件、間葉系幹細胞が4件 (ヒト羊水由来が1件、骨髓由来が3件、うち1件はシュワン様細胞へ分化誘導して移植)、であった。損傷モデ

Table 1 Search strategy

# 1	peripheral nerve [MeSH]
# 2	peripheral nervous system disease [MeSH]
# 3	# 1 OR # 2
# 4	cell transplantation [MeSH]
# 5	stem cell [MeSH]
# 6	Schwann cell [MeSH]
# 7	# 4 OR # 5 OR # 6
# 8	nerve regeneration [MeSH]
# 9	functional recovery [MeSH]
#10	# 8 OR # 9
#11	cell [Title] OR cells [Title]
#12	# 3 AND # 7 AND #10 AND #11

ルは、神経欠損（神経断裂）モデルが7件、神経挫滅（軸索断裂）モデルが3件であった（Table 2）。

・細胞移植に対する超音波照射

Changらは2004年の報告⁷⁾では10mmの坐骨神経欠損モデル、2005年の報告⁸⁾では15mmの坐骨神経欠損モデルにシュワン細胞を移植して超音波照射することで、細胞移植単独群、超音波照射単独群と比較して、軸索数の増加といった組織学的な再生が促進されたと報告しており、10mmの切断、15mmの切断のどちらにおいても同様な傾向がみられる。Lvら⁹⁾の、坐骨神経欠損モデルにヒトiPS細胞由来神経堤幹細胞を移植し超音波治療を行った実験では、軸索数の増加、SFI（sciatic functional index）といった運動機能指数や神経伝導速度の改善が報告された。また、より多くの新生血管が見られたとも報告しており、新生血管の増加は移植細胞の血管への分化と超音波照射による血管新生誘発の相乗効果によるものではないかと考察している。末梢神経損傷に対する超音波照射は、Daeschlerらによるメタアナリシスにおいて髄鞘の厚さ、軸索の直径が有意に増加し神経再生を促進させる効果があると報告されており¹⁰⁾、これらが運動機能や神経伝導速度の改善につながったと考えられる。培養細胞での実験では、シュワン細胞に対して超音波照射を行うことによる神経栄養因子の増加、細胞生存率の増加、シュワン細胞の増殖促進が報告されており¹¹⁾、移植細胞に対して超音波照射をすることで軸索の再生が促進されたと考えられる。また、培養中のiPS細胞由来神経堤幹細胞に対して適切な強度の超音波照射を行うことで細胞の生存率増加、増殖、軸索やシュワン様細胞への分化が促進されると報告されており¹²⁾、超音波照射とiPS細胞由来神経堤幹細胞移植の併用効果がみられたと考えられる。

・細胞治療に対する超短波照射

Pangら¹³⁾は、骨髄間質細胞を移植した坐骨神経欠損モデルに超短波照射を行い、組織的、機能的な再生に加え、シュワン様細胞の増加、成長因子の増加がみられたと報告した。成長因子について、血管新生にかかわるとされるVEGFは超短波照射単独群において増加し、細胞移植単独群では増加していない。また、BDNFは超短波照射単独群、細胞移植単独群ともに増加し、超短波照射と細胞移植を併用した群ではさらに増加したため、損傷した末梢神経に対する超短波照射による神経再生と移植した骨髄間質細胞に対する超短波照射による神経再生の相乗効果がみられたと考えられる。

・細胞治療に対するレーザー照射

Yangら¹⁴⁾は骨髄から採取した間葉系幹細胞をシュワン様細胞へ分化させて移植した坐骨神経挫滅モデルに対し、レーザー照射することで、シュワン様細胞の増加といった組織的な再生促進、行動機能改善、複合筋活動電位の改善を報告している。また、細胞移植単独群では炎症細胞が増加したが、レーザー照射を組み合わせることで炎症細胞の増加を抑制することができたと報告した。間葉系幹細胞に対するレーザー照射は間葉系幹細胞の分化や増殖、成長因子の分泌を促進させることはすでに報告があるため¹⁵⁾¹⁶⁾、それに加えて炎症細胞の増加抑制作用も合わさって神経再生が促進されたと考察した。

・細胞治療に対する磁気刺激

Liuら¹⁷⁾は、坐骨神経欠損モデルに対し、シュワン細胞と磁性の神経導管を組み合わせることで移植した後に磁気刺激を与えることで、組織的・行動機能的な再生促進がみられ、また、移植細胞の生存率が増加したと報告した。生体外での実験では、磁気刺激を与えるだけではシュワン細胞に対する効果はなく、磁性の神経導管と磁気刺激を組み合わせることでシュワン細胞の細胞死は抑制され、成長因子が増加するとされており¹⁸⁾、生体内でも同様の効果が得られたと考えられる。

・細胞移植に対する高気圧酸素療法

Panら¹⁹⁾はヒト羊水由来の間葉系幹細胞を移植した坐骨神経挫滅モデルに高気圧酸素療法を行い、組織的、機能的な神経再生促進に加え、マクロファージを誘導するケモカイン、サイトカインが減少したと報告し、炎症細胞が減少したことで移植細胞の生存率が増加し神経再生が促進したと考察した。

・細胞治療に対する運動療法

Goulartら²⁰⁾は坐骨神経欠損モデルのマウスにシュワン細胞を移植しトレッドミルによる運動介入を行

Table 2 Experimental settings and outcomes of studies Database: PubMed, 11th August 2018 (hits: 1363 studies)

Study	Animals	Lesion	Cells	Therapy	Therapeutic regimen	Observation	Histological outcomes	Functional outcomes
Chang, 2004 ⁽⁷⁾	Rat	10 mm	SCs	ultrasound	frequency: 1 MHz	6 weeks	increased axon number(c,d)	N/A
	N=8	defect		24h after surgery	intensity: 0.2 W/cm ² pulse duration: 2 ms duty cycle: 20% 5 min/day X 12 times		increased axon area(c,d)	
Chang, 2005 ⁽⁸⁾	Rat	15 mm	SCs	ultrasound	frequency: 1 MHz	8 weeks	increased axon number(a,b,c)	N/A
	N=8	defect		24 h after surgery	intensity: 0.3 W/cm ² pulse duration: 2 ms duty cycle: 20% 5 min/day X 12 times		increased axon area(a,b,c)	
Lv, 2015 ⁽⁹⁾	Rat	10 mm	iPSCs	ultrasound	frequency: 1 MHz	13 weeks	increased axon number(a,b,c)	improved SFI• SSI(a,b,c)
	N=4	defect		24 h after surgery	Intensity: 0.3 W/cm ² (SATP) pulse duration: 2 ms duty cycle: 20% 5 min/day, 2 weeks			improved nerve conduction velocities(a,b,c)
Pang, 2013 ⁽¹³⁾	Rat	10 mm	BMSCs	ultrashort wave	frequency: 40.68MHz	12 weeks	increased myelinated axon number(a,b,c)	improved SFI(a,b,c)
	N=10	defect		24 h after surgery	maximum export power: 40 W 7 min/day, 12 weeks		increased myelin sheath thickness(a,b,c) increased axon diameter(a,b,c) increased co-expression of S100 and GFAP(a,b,c) increased co-expression of S100 and VEGF(a,b,c) increased weight ratio of tibialis anterior(a,b,c)	decreased latent period(a,b,c) increased conduction velocity(a,b,c) increased wave amplitude(a,b,c)
Yang, 2016 ⁽¹⁴⁾	Rat	Crush	MSCs	laser	energy density: 9 J/cm ²	3 weeks	decreased nuclei(a)	improved SFI(a,b,c)
	N=12	injury		12 h after surgery	irradiation time: 60 s/spot 4 spot (0.2cm ² X 4) 7 consecutive days		decreased vacuole increased S-100 expression	increased VA(a,b,c) increased AA(a,b,c) increased CM AP amplitude(a,b,c) decreased CM AP latency(a)
Liu, 2017 ⁽¹⁷⁾	Rat	15 mm	SCs	magnetic field	frequency: 50 Hz	12 weeks	increased number of live SCs(b)	improved SFI(a,b,c)
	N=6	defect		after surgery	intensity: 2 mT 2 h/day, 12 weeks		increased axon number(a,b,c) increased myelinated axon number(a,b,c) increased diameter of myelinated axons(a,b,c) increased microvessel density(a,b,c) increased weight ratio of gastrocnemius(a,b,c) increased muscle fiber diameter(a,b,c)	improved sensory nociceptive function(a,b,c)
Pan, 2009 ⁽¹⁸⁾	Rat	Crush	MSCs	hyperbaric oxygen	100% oxygen	4 weeks	increased neurofilament expression(a,b,c)	improved SFI(a,b,c)
	N=30	injury		12 h after surgery	2 ATA 60 min/day, 7 days		decreased vacuole(a,b,c) increased vascular density(a,b,c) increased S100 expression(a,b,c) increased apoptotic positive cells(b) decreased macrophage(a,b) decreased MCP-1 and RANTES expression(a,b) decreased TNF- α , IL-1 β and IFN- γ (a,b)	increased AA(a,b,c) increased CM AP amplitude (a,b,c) decreased CM AP latency(a,b,c)
Goulart, 2014 ⁽²⁰⁾	Mouse	3 mm	SCs	treadmill	10 m/min	8 weeks	increased myelinated axon number and area(a)	improved SFI (a,b)
	N=8	defect		3 d after surgery	two 30 min exercise period 3 days/week, 8 weeks		increased blood vessels(a) increased neuromuscular junctions(a,b,c) increased trophic factor(a)	improved GM T(a)
Wang, 2010 ⁽²¹⁾	Rat	2 mm	MSCs	swimming	30 min/day, 7days	4 weeks	no significant difference	improved SFI (a,b)
	N=8	defect		14 h after surgery				increased VA (a,b) increased AA (a,b) increased CM AP amplitude (a,b) decreased CM AP latency (a)
Yang, 2015 ⁽²²⁾	Rat	Crush	MSCs	swimming	10 min/day, 7days	5 weeks	decreased immune cells (a,b)	improved SFI (a,b,c)
	N=10	injury		3 d after surgery			decreased vacuole (a,b)	increased AA (a,b,c) increased VA (a,b,c) increased CM AP amplitude (a,b,c) decreased CM AP latency (a,b,c) improved nerve conduction velocities(a,b,c)

SCs: Schwann cells, iPSCs: induced pluripotent stem cells, BM SCs: bone marrow stromal cells, M SCs: mesenchymal stem cells, GFAP: glial fibrillary acidic protein, VEGF: vascular endothelial growth factor, MCP-1: monocyte chemoattractant protein-1, RANTES: regulated upon activation normal T cell expressed and secreted, TNF- α : tumor necrosis factor- α , IL-1 β : interleukin-1 β , IFN- γ : interferon- γ , SFI: sciatic functional index, SSI: static sciatic index, VA: vertical locomotor activity, AA: ankle angle, CM AP: compound muscle action potential, GM T: global mobility test, N/A: not available
Comparison showing statistically significant differences between cell transplantation and rehabilitation group and non-treated group(a), only cell transplantation group(b), only rehabilitation group(c), or autograft group(d).

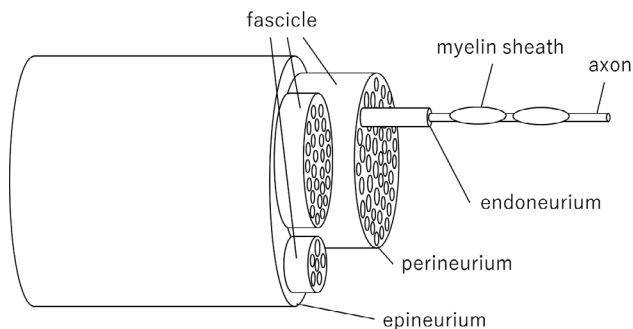


Figure 1 Structure of peripheral nerve

い、細胞治療単独群、トレッドミル介入単独群と比較して組織学的に有意な差はみられなかったが細胞治療とトレッドミル併用群において正常に近い神経筋接合部の形成が観察された。Wangら²¹⁾は坐骨神経欠損モデルのラットに骨髓から採取した間葉系幹細胞を移植し、移植12時間後から30分間の水泳を1週間行わせたが、組織学的な有意差はみられず、運動機能においても細胞治療と水泳による相乗効果はみられなかった。Yangら²²⁾は坐骨神経挫滅モデルのラットに骨髓から採取した間葉系幹細胞を移植し、移植3日後から10分間の水泳を1週間行わせた結果、組織学的には有意な差はなかったが、運動機能、複合筋活動電位の改善がみられたと報告した。細胞移植と水泳を組み合わせたこれら2つの実験の相違点として運動時間の違いが挙げられる。Liaoらは、坐骨神経欠損モデルのラットに水泳を行わせ、1日30分水泳を行った群よりも、10分または20分水泳を行った群で神経再生がみられたと報告しているため²³⁾、運動強度の違いが神経再生の結果に影響したと考えられる。運動をさせた個体では、神経栄養因子の増加と共に軸索など組織的な再生がみられるとされており²⁴⁾、適切な強度の運動において運動による栄養因子の増加が細胞治療の効果を促進させることができると考えられる。

・自家神経移植との比較

細胞移植とリハビリテーションの併用群と自家神経移植を行った群での比較も行われている。Changら⁷⁾はシュワン細胞移植と超音波照射を併用した場合、自家神経移植群より神経再生が促進されたと報告した。Lvら⁹⁾はiPS細胞由来神経堤幹細胞移植を実施した個体に対して超音波照射を実施したが、自家神経移植群の方でより再生していたと報告した。Liuら¹⁷⁾はシュワン細胞移植と磁気刺激を併用し、自家神経移植群と同等の再生が得られたと報告した。これらの先行研究をまとめると、シュワン細胞を移植した実験では自家神経移植と同等かそれ以上の再生が促進され、iPS細胞

由来神経堤幹細胞を移植した実験では自家神経移植ほどの神経再生促進がみられないという結果となった。シュワン細胞移植と、間葉系幹細胞またはシュワン様細胞へ分化させた間葉系幹細胞移植による軸索再生を比較した実験では、シュワン細胞またはシュワン様細胞へ分化させた間葉系幹細胞を移植した群でより軸索再生がみられ、リハビリテーション介入をしない条件ではシュワン細胞移植の方が再生を促進させるという結果となっている²⁵⁾。また、超音波照射によるiPS細胞由来神経堤幹細胞のシュワン細胞への分化は培養細胞での実験で確認されているが、効率の良い分化誘導には適切な強度の超音波照射が必要である¹²⁾。そのため、移植後に生体内で幹細胞をシュワン細胞へ分化させるためのより適切な刺激強度を明らかにしていく必要があると考えられる。

また、今回自家神経移植と比較した報告は全て欠損の長さは10mmから15mmの範囲に限られていた。Sinisらは20mmの欠損モデルにシュワン細胞を移植した場合は神経再生がみられたが、40mmの欠損モデルでは再生がみられなかったと報告している²⁶⁾²⁷⁾。そのため、今後はより欠損の大きなモデルにおいて比較をする必要があると考えられる。

6. まとめ

物理療法では局所的な刺激を、運動療法や高気圧酸素療法では全身的な刺激を与えるという違いはあるものの、どちらも神経栄養因子の増加などによる軸索の再生が促進され、細胞移植とリハビリテーションによる相乗効果が確認された。しかし、自家神経移植との比較を行うとその結果は不十分である。また、幹細胞の使用には、移植後に生体内でシュワン細胞へ分化させることが課題として挙げられる。細胞移植治療後の末梢神経損傷モデルに対するリハビリテーションの介入条件は報告によって異なり併用効果についても一貫性がない。そのため、物理療法においても、運動療法においても、移植細胞にとってより最適な環境作りのためのリハビリテーション条件を設定していくための更なる研究が必要であると考えられる。

文 献

- 1) Seddon HJ: A Classification of Nerve Injuries. Br Med J 2: 237-9, 1942
- 2) Sunderland S: A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. Brain 74:

- 491-516, 1951
- 3) Fu SY, Gordon T: The cellular and molecular basis of peripheral nerve regeneration. *Mol Neurobiol* 14: 67-116, 1997
- 4) Cattin AL, Burden JJ, Van Emmenis L, MacKenzie FE, Hoving JJA, Garcia Calavia N, Guo Y, McLaughlin M, Rosenberg LH, Quereda V, Jarmecna D Napoli I, Parrinello S, Enver T, Ruhrberg C, Lloyd AC: Macrophage-Induced Blood Vessels Guide Schwann Cell-Mediated Regeneration of Peripheral Nerves. *Cell* 162: 1127-39, 2015
- 5) Oraee-Yazdani S, Hafizi M, Atashi A, Ashrafi F, Seddighi AS, Hashemi SM, Seddighi A, Soleimani M, Zali A: Co-transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cells and Schwann cells through cerebral spinal fluid for the treatment of patients with chronic spinal cord injury: safety and possible outcome. *Spinal Cord* 54: 102-9, 2016
- 6) Jiang L, Jones S, Jia X: Stem Cell Transplantation for Peripheral Nerve Regeneration: Current Options and Opportunities. *Int J Mol Sci* 18, 2017
- 7) Chang CJ, Hsu SH: The effects of low-intensity ultrasound on peripheral nerve regeneration in poly(dl-lactic acid-co-glycolic acid) conduits seeded with Schwann cells. *Ultrasound Med Biol* 30: 1079-84, 2004
- 8) Chang CJ, Hsu SH, Lin FT, Chang H, Chang CS: Low-intensity-ultrasound-accelerated nerve regeneration using cell-seeded poly(D,L-lactic acid-co-glycolic acid) conduits: An in vivo and in vitro study. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater* 75: 99-107, 2005
- 9) Lv Y, Nan P, Chen G, Sha Y, Xia B, Yang L: In vivo repair of rat transected sciatic nerve by low-intensity pulsed ultrasound and induced pluripotent stem cells- derived neural crest stem cells. *Biotechnol Lett* 37: 2497-506, 2015
- 10) Daeschler SC, Harhaus L, Schoenle P, Boecker A, Kneser U, Bergmeister KD: Ultrasound and shock-wave stimulation to promote axonal regeneration following nerve surgery: A systematic review and meta-analysis of preclinical studies. *Sci Rep* 8: 1-11, 2018
- 11) Ren C, Chen X, Du N, Geng S, Hu Y, Liu X, Wu X, Lin Y, Bai X, Yin W, Cheng S, Yang L, Zhang Y: Low-intensity pulsed ultrasound promotes Schwann cell viability and proliferation via the GSK-3 β / β -catenin signaling pathway. *Int J Biol Sci* 14: 497-507, 2018
- 12) Lv Y, Zhao P, Chen G, Sha Y, Yang L: Effects of low-intensity pulsed ultrasound on cell viability, proliferation and neural differentiation of induced pluripotent stem cells- derived neural crest stem cells. *Biotechnol Lett* 35: 2201-12, 2013
- 13) Pang CJ, Tong L, Ji LL, Wang ZY, Zhang X, Gao H, Jia H, Zhang LX, Tong XJ: Synergistic effects of ultrashort wave and bone marrow stromal cells on nerve regeneration with acellular nerve allografts. *Synapse* 67: 637-47, 2013
- 14) Yang CC, Wang J, Chen SC, Hsieh YL: Synergistic effects of low-level laser and mesenchymal stem cells on functional recovery in rats with crushed sciatic nerves. *J Tissue Eng Regen Med* 10: 120-31, 2016
- 15) Soleimani M, Abbasnia E, Fathi M, Sahraei H, Fathi Y, Kaka G: The effects of low-level laser irradiation on differentiation and proliferation of human bone marrow mesenchymal stem cells into neurons and osteoblasts—an in vitro study. *Lasers Med Sci* 27: 423-30, 2012
- 16) Hou J, Zhang H, Yuan X, Li J, Wei Y, Hu S: In vitro effects of low-level laser irradiation for bone marrow mesenchymal stem cells: Proliferation, growth factors secretion and myogenic differentiation. *Lasers Surg Med* 40: 726-33, 2008
- 17) Liu Z, Zhu S, Liu L, Ge J, Huang L, Sun Z, Zeng W, Huang J, Luo Z: A magnetically responsive nanocomposite scaffold combined with Schwann cells promotes sciatic nerve regeneration upon exposure to magnetic field. *Int J Nanomedicine* 12: 7815-32, 2017
- 18) Liu Z, Huang L, Liu L, Luo B, Liang M, Sun Z, Quan X, Yang Y, Ma T, Huang J, Luo Z: Activation of Schwann cells in vitro by magnetic nanocomposites via applied magnetic field. *Int J Nanomedicine* 10: 43-61, 2015
- 19) Pan HC, Chin CS, Yang DY, Ho SP, Chen CJ, Hwang SM, Chang MH, Cheng FC: Human Amniotic Fluid Mesenchymal Stem Cells in Combi-

- nation with Hyperbaric Oxygen Augment Peripheral Nerve Regeneration. *Neurochem Res* 34: 1304–16, 2009
- 20) Goulart CO, Jürgensen S, Souto A, Oliveira JT, de Lima S, Tonda-Turo C, Marques SA, de Almeida FM, Martinez AMB: A combination of Schwann-cell grafts and aerobic exercise enhances sciatic nerve regeneration. *PLoS One* 9: e110090, 2014
 - 21) Wang J, Yang CC, Chen SC, Hsieh YL: No synergistic effect of mesenchymal stem cells and exercise on functional recovery following sciatic nerve transection. *Funct Neurol* 25: 33–43, 2010
 - 22) Yang CC, Wang J, Chen SC, Jan YM, Hsieh YL: Enhanced functional recovery from sciatic nerve crush injury through a combined treatment of cold-water swimming and mesenchymal stem cell transplantation. *Neurol Res* 37: 816–26, 2015
 - 23) Liao CF, Yang TY, Chen YH, Yao CH, Way TD, Chen YS: Effects of swimming exercise on nerve regeneration in a rat sciatic nerve transection model. *BioMedicine* 7: 3, 2017
 - 24) Park J-S, Höke A: Treadmill exercise induced functional recovery after peripheral nerve repair is associated with increased levels of neurotrophic factors. *PLoS One* 9: e90245, 2014
 - 25) Keilhoff G, Göhl A, Stang F, Wolf G, Fansa H: Peripheral Nerve Tissue Engineering: Autologous Schwann Cells vs. Transdifferentiated Mesenchymal Stem Cells. *Tissue Eng* 12: 1451–65, 2006
 - 26) Sinis N, Schaller HE, Schulte-Eversum C, Schlosshauer B, Doser M, Dietz K, Rosner H, Müller HW: Nerve regeneration across a 2-cm gap in the rat median nerve using a resorbable nerve conduit filled with Schwann cells. *J Neurosurg* 103: 1067–76, 2005
 - 27) Sinis N, Schaller HE, Becker ST, Schlosshauer B, Doser M, Rosner H, Oberhoffner S, Müller HW, Haerle M: Long nerve gaps limit the regenerative potential of bioartificial nerve conduits filled with Schwann cells. *Restor Neurol Neurosci* 25: 131–41, 2007