

# 論文審査の要旨および担当者

愛知学院大学

報告番号	① 乙	第 号	論文提出者名	大竹 啓太
論文審査 委員氏名	主査 栗田 賢一 副査 長尾 徹 本田 雅規			
論文題名	配向性コラーゲンチューブ移植によるラット 坐骨神経切除後の神経再生の評価			

インターネットの利用による公表用

末梢神経障害に対しては、これまで神経吻合術や自家神経移植といった従来の外科的治療法の適応となってきたが、これらの治療法には高度な技術や長い手術時間が必要であるといった問題点があげられる。

近年、従来の外科的治療法に加え、神経再生誘導チューブを用いた治療法が臨床応用されている。また、コラーゲングルに引張力を作用させることによって配向性コラーゲンストリングスを容易に作製することができる技術が開発された。コラーゲン線維の配向は細胞の配列方向を規定できることが明らかとなっている。これまでの *in vitro* の研究により軸索の伸長はシュワン細胞の配列に沿って行われることが明らかとなっている。また、シュワン細胞は標的器官を再生した神経が再支配する際に軸索を髄鞘化する働きを担っている。この事実より、シュワン細胞の配列を規定することが可能であれば、末梢神経の再生をより促進させることができると推測される。

そこで、本研究ではラット坐骨神経切除モデルに配向性コラーゲン線維で作製した神経再生誘導管 (Oriented Collagen Tube : OCT) を移植し、感覚機能の回復を評価することを目的に、von Frey test による知覚機能解析と、再生した坐骨神経の組織学的、免疫組織学および透過型電子顕微鏡による微細構造学的解析をおこなった。

研究材料および方法としては、13 週齢の雄性 Sprague-Dawley ラットの左側坐骨神経に 10 mm の欠損を作成し、株式会社アトリー製の OCT (長径 14 mm、

内径 1.5 mm) を移植した (OCT 移植群、 $n = 8$ )。実験の対照群として、左側坐骨神経を 10 mm 切除したのみの群 (切除のみ群、 $n = 8$ )、および左側坐骨神経を剖出後ただちに閉創をおこなった群 (sham 群、 $n = 8$ ) を設定した。また、組織学的、免疫組織化学的、および微細構造学的解析の対照群として、無処置のラット坐骨神経を使用した (健側群、 $n = 8$ )。知覚機能の回復の評価としてラットの患側足底部に対して von Frey test をおこない、up down 法で評価した。また、組織学的評価として OCT 移植後 2 週および 4 週でラットを安楽死させ、ヘマトキシリン&エオジン (H&E) 染色およびルクソールファストブルー (LFB) 染色をおこなった。免疫組織化学的解析として抗 Myelin basic protein (MBP) 抗体、抗 S-100B 抗体および抗 CD34 抗体を用いて免疫組織化学をおこない、再生した神経組織における髄鞘、シュワン細胞の分布および血管内皮細胞の分布を解析した。また最後に、再生した髄鞘につきより詳細に観察をおこなうことを目的に透過型電子顕微鏡 (TEM) を用いた微細構造学的解析をおこなった。

von Frey test による知覚機能評価では、OCT 移植後 15 日で sham 群と同程度まで知覚が回復することが明らかとなった。

組織学的解析では、H&E 染色において OCT 移植後 2 週で神経の接合が認められた。また OCT 移植群の再生神経と健側の坐骨神経の LFB 陽性領域面積を計測して比較すると、OCT 移植後 4 週の再生神経は OCT 移植後 2 週の再生神経と比較して、LFB 陽性領域面積が有意に広がった。

抗 MBP 抗体を用いた免疫組織化学において OCT 移植後 4 週の再生神経は OCT 移植後 2 週の再生神経と比較すると、MBP 陽性領域面積が有意に広がった。抗 S-100 抗体を用いた免疫組織化学では、OCT 移植後 4 週の再生神経は OCT 移植後 2 週の再生神経と比較すると、S-100B 陽性領域面積が有意に広がった。しかし、OCT 移植後 2 週と 4 週の再生神経の中枢側の S-100B 陽性領域面積には有意な差はなかった。抗 CD34 抗体を用いた免疫組織化学では、神経内部を走行する血管数は、健側坐骨神経よりも OCT 移植群の再生神経の方が多かった。

TEM を用いた微細構造学的解析では、OCT 移植後 4 週で再生神経に髓鞘の再生を確認できた。

本研究によりラット坐骨神経 10 mm 切除モデルに OCT を移植することは感覚機能の回復に有用であることが示された。また OCT はチューブ内でのシュワン細胞の増殖を手助けし、軸索の伸長および有髄軸索の再生を促進させる働きがあることが示された。また OCT はチューブ内で再生した神経内の血管新生に適切な環境を提供することができ、OCT が持つコラーゲン線維の配向によって血管の新生を誘導することができる可能性が示された。

本研究は末梢神経障害の治療に使用することが出来る新たな神経再生誘導チューブの作製の基盤となりうる基礎研究であり、この結果は口腔外科学、口腔解剖学ならびに関連諸学科に寄与するところが大きい。よって本論文は、博士（歯学）の学位授与に値するものと判定した。

(論文審査の要旨)

No. ....4.....

(2000字以内のこと)

愛知学院大学

Blank area for the abstract text.