

氏名(本籍)	なか じま よし こ 中 島 佳 子 (長 野 県)			
学位の種類	博 士 (医 学)			
学位記番号	博 甲 第 6234 号			
学位授与年月日	平成 24 年 3 月 23 日			
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
審査研究科	人間総合科学研究科			
学位論文題目	末梢神経両断端緩徐伸長法による陳旧性末梢神経欠損の修復			
主査	筑波大学教授	医学博士	玉 岡 晃	
副査	筑波大学教授	博士(医学)	大根田 修	
副査	筑波大学教授	薬学博士	原 田 義 則	
副査	筑波大学講師	博士(医学)	石 井 亜 紀 子	

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

### (目的)

一期的に縫合不可能な末梢神経欠損に対する新しい治療法としての末梢神経両断端緩徐伸長法は、臨床的には、外傷後などの陳旧性欠損が適応として考えられる。遠位断端では Waller 変性が完成して細胞増殖はピークを過ぎていると考えられ、このような断端が伸長可能かどうかの検討は臨床応用に際し重要である。一方近位断端では、これまで検討されてこなかった、断端の先端部分の細胞動態を探り、伸長の機序をさらに明確にしたいと考えた。

### (対象と方法)

Wistar 系ラット雄 9 週齢を用いた。実験Ⅰでは 8 匹、実験Ⅱでは 12 匹、実験Ⅲでは 30 匹を用いた。

**実験Ⅰ. 陳旧性末梢神経欠損モデルの確立:** 坐骨神経中央部を 5 mm 切除し、両断端を筋膜に縫着し退縮を防止、30 日後に再度坐骨神経を展開した。このとき両断端の短縮率を計測した。また、免疫組織学的評価により、断端の新鮮化に必要な十分な距離を検討した。

**実験Ⅱ. 陳旧性末梢神経欠損の修復:** 神経伸長群は、実験Ⅰ. と同じ操作で作製した陳旧性末梢神経欠損モデルを用いた。神経伸長器を設置し、1 日 1 mm の速度で 15 日間伸長後、断端を新鮮化して端々縫合した。この時点は、神経切除後 45 日目に当たる。対照群では坐骨神経中央部を切断し、5 mm オーバーラップさせて筋膜に縫着、45 日間待機後断端を新鮮化して端々縫合した。伸長群では神経上膜伸長率を測定した。両群で、神経縫合後 12 週の運動神経伝導速度 (MCV)、複合神経活動電位 (CNAP) 振幅、腓腹筋の筋張力および筋湿重量を測定した。また、神経筋接合部より 5 mm 近位での軸索数・軸索径の計測を行った。

**実験Ⅲ. 伸長された神経断端の組織学的特徴の検討:** 坐骨神経中央部を切断後、一方の断端を切除し 30 日間待機したのち、断端の伸長を行った。近位断端を 20 日間伸長し、断端からの距離ごとに軸索径の計測を行った。また、免疫組織学的評価として近位断端では抗 neurofilament、抗 S-100、抗 PCNA (Proliferating cell nuclear antigen)、抗 GFAP (Glial fibrillary acidic protein) 抗体染色を行い、遠位断端では抗 S-100、抗 PCNA、抗 GFAP 抗体染色を行った。

## (結果)

実験Ⅰ. 陳旧性末梢神経欠損モデルの確立: 断端の新鮮化の範囲は2 mmが必要十分であった。30日間待機後に坐骨神経を展開すると、両断端は短縮し、両断端を2 mmずつ新鮮化すると15 mmの欠損となった。

実験Ⅱ. 陳旧性末梢神経欠損の修復: 神経伸長群では両断端が縫合可能な距離まで短縮率を上回って伸長された。MCV、CNAP振幅、腓腹筋の筋湿重量、筋張力の健側比では両群間に有意差を認めなかった。坐骨神経横断切片における軸索数、軸索径の平均値、軸索径の分布傾向にも有意差を認めなかった。

実験Ⅲ. 伸長された神経断端の組織学的特徴の検討: 近位断端ではSchwann細胞と軸索は神経幹全体に沿って存在し、遠位断端ではSchwann細胞は全長にわたって存在していた。近位断端では、遠位部に小径の再生神経と考えられる像がみられた。また、先端部分ではSchwann細胞の増殖を認めた。遠位断端ではGFAP陽性細胞が確認されたが、Schwann細胞の増殖はごくわずかであった。

## (考察)

実験Ⅰ. 陳旧性末梢神経欠損モデルの確立: 作製された神経欠損は神経剥離を行っても直接縫合できないものであり、陳旧性末梢神経欠損モデルとして適切であると考えた。

実験Ⅱ. 陳旧性末梢神経欠損の修復: 肉眼的観察の結果、陳旧性末梢神経欠損モデルでも本法により神経が伸長されることが確認された。神経縫合後の再生は電気生理学的、組織学的に良好であり、本法は陳旧性末梢神経欠損に対しても適用可能であり有用である可能性があると考えた。

実験Ⅲ. 伸長された神経断端の組織学的特徴の検討: 組織学的評価の結果から、本法により神経全体が軸索・Schwann細胞とともに伸長されたと考えた。近位断端では先端部分でのSchwann細胞増殖を伴う伸長がみられた。本法においては牽引とともに先端部分でSchwann細胞が増殖し、軸索を誘導している可能性があると考えた。遠位断端には全長性にSchwann細胞が存在しており、軸索誘導能を有すると考えられた。遠位断端ではSchwann細胞の増殖はわずかであり、陳旧例における遠位断端の伸長機序は、新鮮例とは異なると考えられた。

以上の実験より、陳旧性末梢神経欠損モデルでも末梢神経両断端緩徐伸長法により神経が伸長され良好な電気生理学的な回復が得られることが確認された。本研究の結果は本法が臨床応用可能であることを支持するものと考えた。

## 審査の結果の要旨

本研究は、外傷後などの陳旧性欠損に対して、末梢神経両断端緩徐伸長法により神経が伸長され良好な電気生理学的な回復が得られることが確認した意欲的で優れた研究である。

平成23年12月28日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士(医学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。