

| | | | |
|---------|---|--------|--------|
| 氏名 | 井汲 彰 | | |
| 学位の種類 | 博士（医学） | | |
| 学位記番号 | 博甲第 9553 号 | | |
| 学位授与年月 | 令和2年3月25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 | 末梢神経欠損に対する自己血由来多血小板血漿による 末梢神経再生促進効果の検証 | | |
| 主査 | 筑波大学教授 | 博士（医学） | 武川 寛樹 |
| 副査 | 筑波大学准教授 | 博士（医学） | 長谷川 雄一 |
| 副査 | 筑波大学講師 | 博士（医学） | 大川 敬子 |
| 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

井汲 彰氏の博士学位論文は、末梢神経欠損に対して自己血由来多血小板血漿（PRP）の末梢神経再生促進効果を検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

（目的）

末梢神経損傷後の神経再生を促進させるためには、神経再生に関与する様々なメカニズムへの複合的な介入が必要と考えられる。そこで著者は、多数の成長因子を含有し生体内で複合的に組織修復に作用すると考えられている多血小板血漿（PRP）に注目した。PRPは血液を遠心分離し血小板の豊富な血漿成分を抽出することで作製が可能であり、その安全性や簡便性から臨床応用にも適しており、PRPが末梢神経再生効果を有するか検討した。

著者は、末梢神経損傷患者に対する臨床応用に向けて、PRPの末梢神経再生促進効果の非臨床 POC（Proof of Concept）を取得することを目的として実験を行った。まず臨床に即した動物モデルを作製、PRP投与法を確立し、PRPの神経再生促進効果とその作用機序を検証した。さらに著者は、基礎研究によって得られた知見をもとに、末梢神経損傷患者を対象とした神経修復部への術中 PRP 局所投与の臨床試験（安全性試験）を実施し、PRPの臨床応用に関する安全性と神経再生への有用性を検証した。

（対象と方法）

実験 1) PRP の神経再生促進効果に関する組織学的検討

著者は、家兎 28羽を用いて以下の検証を行っている。大腿中央部で坐骨神経を露出し、同神経を 15mm 欠損させ、切除した坐骨神経を反転して移植する遊離神経移植モデルを作製した。PRP は PRGF system IV (BTI 社、スペイン) を用い、1 回遠心法 (580g・8 分) で作製した。神経移植部に自家心臓採血により作製した PRP を局所投与した。神経伝導速度検査を行い、神経移植後 4 週および 12 週で坐骨神経を採取しトルイジンブルー染色標本作製し、再生神経の組織学的定量評価（再生軸索数、軸索径）を行った。

実験 2) PRP のシュワン細胞増殖効果に関する免疫組織学的検討

著者は、家兎 20 羽を用いて以下の検証を行っている。実験 1 と同様のモデルを用い、移植後 4 週で坐骨神経を採取した。抗 S100 抗体、抗 PCNA 抗体、核染色の多重免疫蛍光染色にて移植神経内におけるシュワン細胞数と細胞分裂が亢進したシュワン細胞数を計測し比較・検討を行った。

臨床試験) 末梢神経損傷に対する神経修復術への PRP 使用の安全性に関する研究

末梢神経損傷により末梢神経修復術（神経剥離術、神経縫合術、神経移植術、神経移行術）を受ける患者を対象とし、神経修復術の際に自家血由来 PRP を局所投与し、神経修復部への PRP 局所投与の安全性ならびに神経再生への有用性（筋力の回復、感覚障害の改善）について評価を行った。

（結果）

実験 1) 神経伝導速度では有意の差はなかったが、PRP 投与群では非投与群と比較して移植後 4 週の再生軸索径が有意に大きく、12 週では有意に軸索数が多かった。PRP 投与により再生軸索の成熟が早く、再生軸索数も有意に増加、PRP は末梢神経損傷後の神経再生を促進することを示した。

実験 2) PRP 投与群では、非投与群と比較して核分裂中のシュワン細胞数が増加しており、PRP にシュワン細胞の増殖促進効果があることを証明した。

臨床試験) 末梢神経損傷患者 5 例（指神経損傷 1 例、前腕部尺骨神経損傷 2 例、腕神経叢損傷 2 例）に対し、神経修復術中の神経修復部に PRP 局所投与を行った。経過観察期間中に創部の感染を疑う所見を認めた症例はなく、一般細菌検査に提出した PRP から細菌は検出されなかった（細菌感染率:0%、PRP へのコンタミネーション:0%）。感覚神経のみで構成される指神経損傷 1 例を除いた 4 例全例で、術後 1 年の段階で MMT は 2 以上に回復し、前腕部尺骨神経損傷の 2 例では、最終観察時に日常生活で支障をきたさないレベル（MMT4 以上）の筋力改善を認めた。Tinel 徴候を評価可能であった 4 例全例で、Tinel 徴候は神経修復部から遠位方向に向かって移動しており、指神経損傷の 1 例は最終観察時に Tinel 徴候が陰性化した。

（考察）

著者は、基礎研究（実験 I～II）の結果から、神経修復部への PRP 局所投与は神経再生促進効果を有することを証明し、さらに作用機序としてシュワン細胞の増殖促進が関与している可能性について考察した。次いで著者は、基礎研究によって得られた知見をもとに、末梢神経損傷患者に対する神経修復部への術中 PRP 局所投与を臨床応用し、PRP 局所投与の安全性を確認し、神経修復への有用性を示している。

PRP の神経再生促進作用機序として、シュワン細胞の増殖促進、再生軸索成長促進、神経保護、血管新生促進、抗炎症、筋萎縮抑制、神経障害性疼痛の軽減が過去に報告されており、PRP は神経再生の複数の機序に複合的に作用していると考えた。より効果的に神経再生を促進させる使用法（投与部位、投与時期、投与回数など）を検証していくことが今後の課題であり、臨床試験において PRP 局所投与の有無による神経修復術後の治療成績の比較を行い、PRP の有用性を検証していく必要がある。

審査の結果の要旨

（批評）

本研究で著者は、末梢神経障害患者に対する治療成績を改善するために、末梢神経欠損動物モデルを作製し、神経再生促進効果や神経保護効果が期待できる PRP を局所投与することで、電気生理学的、病理学的に有効性・安全性の検証を行った。その結果、PRP には神経再生促進効果があることを証明した。またその作用機序がシュワン細胞の分裂亢進にあることを明らかにした。また感染がないことなど安全性も確認し、非臨床 POC を取得した。著者はさらに、積み上げた基礎データに基づき PRP の末梢神経損傷に対する臨床試験を行い安全性と有効性を示す良好な結果を得た。これらの結果は、実際の臨床応用を行う上で大切な基礎データを示したものであり、非常に高く評価される。

令和元年 12 月 27 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）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。