TITLE:
Long-Term Outcome of Sciatic Nerve Regeneration Using Bio3D Conduit Fabricated from Human Fibroblasts in a Rat Sciatic Nerve Model(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):
Ando, Maki

CITATION:
Ando, Maki. Long-Term Outcome of Sciatic Nerve Regeneration Using Bio3D Conduit Fabricated from Human Fibroblasts in a Rat Sciatic Nerve Model. 京都大学, 2023, 博士(医学)

ISSUE DATE:
2023-03-23

URL:
https://doi.org/10.14989/doctor.k24481

RIGHT:

京都大学学術情報リポジトリ
KURENAI 紅
Kyoto University Research Information Repository

京都大学	博士（　医　学）	氏　名	安　藤　麻　紀
論文題目	Long-Term Outcome of Sciatic Nerve Regeneration Using Bio3D Conduit Fabricated from Human Fibroblasts in a Rat Sciatic Nerve Model （ヒト線維芽細胞由来 Bio3D conduit によるラット坐骨神経欠損モデルにおける神経再生治療の長期成績）		

（論文内容の要旨）

末梢神経損傷治療の原則は切断された神経の両断端の縫合であるが、欠損のある場合には縫合部にかかる緊張が高くなるため成績が不良となり、また、欠損が大きい場合には直接縫合が不可能であるため欠損部を架橋する graft を用いる。Graft には腓腹神経をはじめとする感覚神経（自家神経移植）や、合成の生体吸収性材料で作製された人工神経が用いられるが、人工神経単独での治療成績は自家神経移植には及ばす、未だに自家神経移植術が治療のゴールドスタンダードであり続けている。しかし、自家神経移植には神経採取部の後遺障害や、使用可能な神経に制限があるなどの問題があり、それに代わる新たな治療法が模索されている。

神経再生には、細胞、足場、neurotrophic factor、血流の 4 つが必要であり、また、瘢痕組織の侵入を防ぎながら神経再生の場を確保するべく管腔構造を一定期間保持することが必要である。

これらの条件を満たすべく、ヒト線維芽細胞を３D プリンターで積層して作製した Bio3D conduit を神経欠損部に移植する神経再生実験が 2017 年に報告された。同実験で、ラット坐骨神経の欠損部は再生神経で架橋され、電気生理学的、機能的、そして組織学的にも神経再生が確認されたが観察期間は 8 週間であり、再生に時間を要する神経組織の再生においてはより長期間の観察が必要と考えられた。また、シリコン群との 2 群比較であり、現在のゴールドスタンダードである自家神経移植との比較も必要であった。

本研究の目的は、ヒト線維芽細胞で作成した Bio3Dconduit をラット坐骨神経の欠損部に移植し、24 週間の長期フォローによりその再生と安全性を評価し、治療成績を自家神経移植群やシリコン架橋群と比較することである。

まず、ヒト繊維芽細胞を元に Bio3D　conduit を作製した。ヒト線維芽細胞を 24 時間培養すると細胞同士が凝集し細胞塊を形成する。それを円形に配置した針に Bio3D プリンターで刺し積層することにより細胞塊のみで構成された筒状の構造物を作成し、これを還流培養で成熟させて Bio3D conduit を完成させた。

15 匹の免疫不全ラットを、Bio3D conduit 群（以下 Bio3D 群）、シリコンチューブ群（以下シリコン群）および自家神経移植群（以下自家神経群）の 3 群に分けた。麻酔下にラットの坐骨神経を露出して大腿中央部で鋭的に切離し、Bio3D 群とシリコン群では 8mm 長の管腔内に神経両断端を 1.5mm ずつ引き込み、両断端間が 5mm となるよう神経断端と導管を 10-0 ナイロン糸で縫合した。自家神経群では大腿中央部で神経を 5mm 長切除し、近位遠位を入れ替えて 10-0 ナイロン糸で縫合した。

24 週間後に知覚の回復評価、歩行解析、電気生理学検査、支配筋湿重量の評価、植部の観察と神経再生部の組織学的評価を行った。

知覚回復は全群で良好であった。歩行解析での跛行と術側足趾の下垂角度はBio3D群はシリコン群よりも軽度であった。電気生理学評価では、自家神経群とシリコン群の運動神経複合電位の間にのみ有意差を認めた。坐骨神経支配筋湿重量はBio3D群と自家神経群でシリコン群よりも有意に大きかった。Bio3Dconduit移植部には明らかな腫瘍形成等の所見を認めなかった。再生神経の組織学的評価では、Bio3D群と自家神経群ではシリコン群より多くの有髄軸索再生を認め、有髄軸索直径、髄鞘の厚みも有意に大きかった。また、全評価項目においてBio3D群と自家神経群との間に有意差を認めなかった。

ラット坐骨神経 5mm 欠損モデルで 24 週間の長期フォローを行った本研究において、Bio3D conduit の一定の安全性が確認され、Bio3D 群がシリコン群より有意な機能的、組織学的神経再生を示し、全ての評価項目において自家神経群との間に有意差を認めなかったことから、本技術は欠損を有する末梢神経損傷治療において有用であると考えられる。

（論文審査の結果の要旨）

本研究では三次元培養積層技術によりヒト線維芽細胞からなる神経導管(Bio3D conduit)を作製し、ヌードラットに移植し神経再生の進行と安全性を検討した。ラット坐骨神経を切離して 5 mm欠損モデルを作製し、Bio3D conduit(以下 B 群)、シリコンチューブ(以下 S 群)、自家坐骨神経(以下 A 群)で架橋し比較を行った。移植後 24 週時点で、Toe-spread test では B 群と A 群の全てが完全な運動反射を示した一方、S 群では一部が不完全な反応を示した。足部内転筋の電気生理学的評価では、複合筋活動電位は健側と比較し B 群で 65.37±7.57%、S 群で 53.86±19.51%、A 群で 85.13±6.46%であった。Bio3D conduit 移植部には明らかな腫瘍や癒着瘢痕形成を認めなかった。前脛骨筋の湿重量は B 群で健側の 79.85±5.47%、S 群で 66.99±3.51%、A群で 81.74±2.83%であった。神経再生部の組織学的評価では、免疫染色で NF200 陽性組織を囲む S100 陽性細胞により神経再生が確認され、有髄軸索数は B 群で 14708±3021、S 群で 7429±1465、A 群で 14927±5089 であり、B 群は S 群と比較し有意に高値であった。

今回の研究結果より、ヒト線維芽細胞から作製した Bio3D conduit は末梢神経再生を促進し機能改善を導いたと考えられる。

以上の研究は、ヒト線維芽細胞からなる神経導管による末梢神経再生技術の安全性の解明に貢献し、末梢神経損傷治療の進歩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、令和４年１２月２７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。

要旨公開可能日：　　　　年　　月　　日　以降