

平成25年度

生体吸収性材料および非培養脂肪由来幹細胞を用いた
人工神経の開発

金沢大学
多田 薫

(1)研究概要

外傷や手術に伴う末梢神経の欠損に対しては古くから自家神経移植術が行われていますが、自家神経移植術は神経採取部にしびれなどの愁訴が残ることが問題となるため、その解決策として「人工神経」の研究が行われています。これまでの研究結果から人工神経は「人工神経内の封入物質」と「人工神経の素材」の2点によりその成績が決定されることが判明しています。金沢大学整形外科では既にシリコンチューブ内に非培養脂肪由来幹細胞を封入するという手法で末梢神経の再生を促進することを報告（J Orthop Sci. 18: 145-51, 2013.）しています。しかし、臨床応用するためには体内に遺残してしまうシリコンではなく生体吸収性材料を用いたチューブが必要となります。

本研究の目的は、生体吸収性材料を用いたチューブに非培養脂肪幹細胞を封入した、ハイブリッド型の人工神経を開発することです。また、開発した人工神経の成績についてラット坐骨神経欠損モデルを用いて評価を行うことです。これらの研究結果を元に、我々の人工神経の臨床応用が可能となります。外傷や腫瘍などにより生じた末梢神経の欠損のために、北陸だけでなく世界中で数多くの患者さんが疼痛やしびれなどに苦しんでいます。北陸の技術力や研究力から生み出す人工神経で世界中の患者さんを治療することが本研究の目標です。

本研究における課題は、

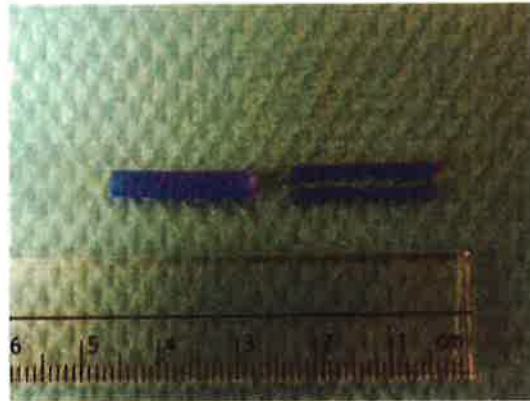
- ①人工神経として適切な強度と生体吸収性を持つチューブを開発すること。
- ②開発したハイブリッド型の人工神経の成績について評価すること。

の二つです。

(2)研究の実施内容及び成果

①人工神経として適切な強度と生体吸収性を持つチューブを開発すること。

セーレン株式会社と共同で、ポリグリコール酸(PGA)の原糸を用いた編みこみ型チューブの開発を行いました。チューブの内径は実験に供する白色家兎の坐骨神経の直径を考え3.5mmとしました。またチューブの外壁面にはコラーゲンによるコーティングを行い、適度な強度と柔軟性を持たせました。チューブは内腔が空洞である中空型のチューブ、および内腔により細い直径のチューブ



を挿入した充実型のチューブの2種類を作成し、実際に使用する際の使いやすさについても検討しました(上図左は中空型のチューブ、右は充実型のチューブの内腔に挿入した細いチューブです)。その結果、チューブが軟らかいため縫合固定にはやや時間を要しましたが、神経断端をチューブ内に引き込むという基本的な手技は問題なく遂行できました。ただし、充実型のチューブでは内部の細いチューブが神経断端を引き込む手技の妨げとなっていました。

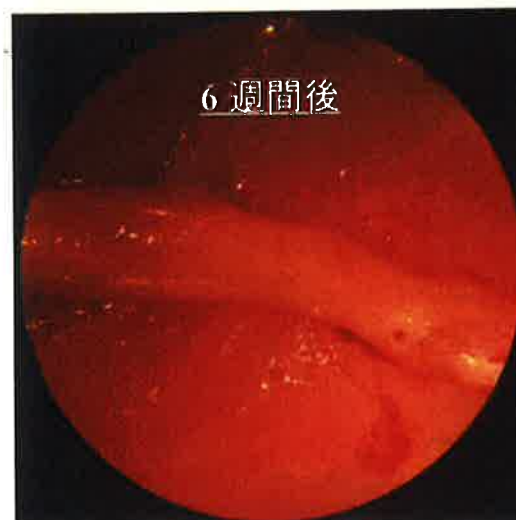
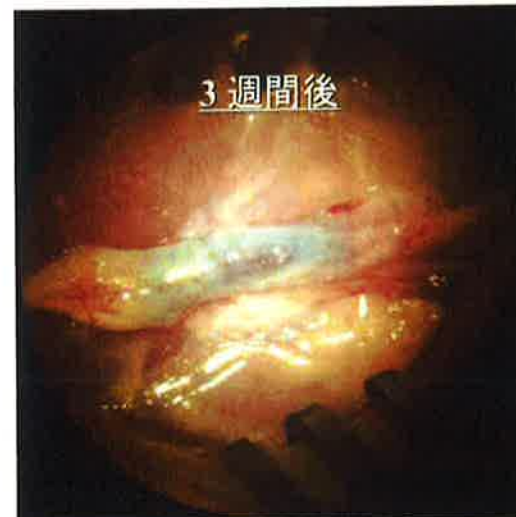
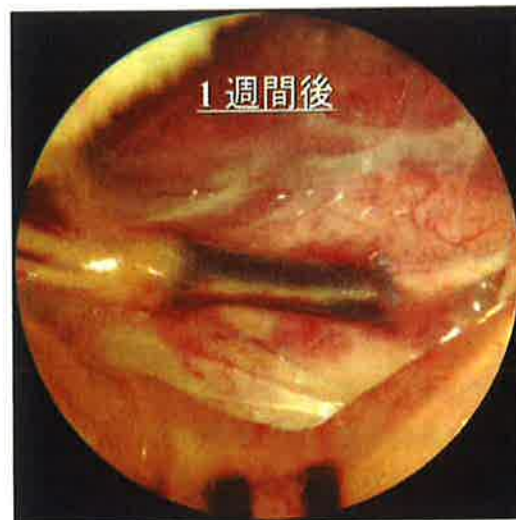
②開発したハイブリッド型の人工神経の成績について評価すること。

当初ラットを用いた実験を計画していましたが、よりヒトに近い白色家兎を用いて評価を行いました。白色家兎の坐骨神経を大腿中央部および同部から10mm遠位側で切離し、神経断端の距離が15mmとなるように17mmの人工神経で架橋し縫合固定しました。チューブを人工神経として用いる際にはチューブが吸収分解されるタイミングが重要になりますので、まず処置1,2,3,4,6,8週間後において顕微鏡視下に肉眼所見を評価しました。さらに電気生理学的所見や病理学的所見についても適宜評価を加えました。

電気生理学的評価としては、処置4,6,8週間後に坐骨神経を直接刺激して前脛骨筋からの複合筋活動電位を導出し、遠位潜時および振幅について健側との比較を行いました。また病理学的評価としては、処置1,2,3,4,6,8週間後に人工神経を含めた坐骨神経を摘出し、その横断面についてHE染色で評価しました。

なお、残念ながら試験期間中にはチューブに非培養脂肪幹細胞を封入した、ハイブリッド型の人工神経を用いた研究を遂行することができませんでした。

肉眼所見については、処置3週間後まではチューブが遺残し、4週間後以降に吸収分解され消失してゆくことが確認できました。また、処置からの時間経過に伴い周囲組織との癒着が出現し、処置4週間後以降は鋭的な剥離を要する状態となっていました。なお、チューブ留置に伴う有害事象は特に認められませんでした。以下に処置直後から6週間後までの人工神経の肉眼所見を供覧します。



電気生理学的評価においては、遠位潜時が処置 8 週間後に 1.95 ms となっており、健側の結果(1.49 ms)には及びませんでした。当科で過去にシリコン製のチューブを用いて行った実験結果(8 週間後 4.84 ms)に比べ良好な結果が得られました。また振幅については健側比が処置 4 週間後 0.012、6 週間後 0.027、8 週間後 0.039 と経時的に増加しており、こちらでもシリコン製のチューブを用いて行った実験結果(8 週間後 0.014)に比べ良好な結果が得られていました。また病理学的評価においては、管腔内の細胞成分が経時的に増加しており、神経が再生している所見を認めました。

(3)現状における課題、問題点

当方の動物実験施設の事情から、非培養脂肪幹細胞を封入したハイブリッド型の人工神経を用いる動物種をラビットからラットへ変更する必要性がありましたが、原糸から特定のサイズのチューブを大量に作成したため、必要なサイズが異なるラットでの実験が遂行不可能になってしまったことが大きな問題でした。

(4)今後の目標と展開

本研究で開発した人工神経は、適切な強度を持ち神経の再生を妨げることなく、また理想的なタイミングで吸収分解されることが確認できました。また、その結果は当科での過去の実験結果と比較しても遜色がありませんでした。予定していた脂肪幹細胞を用いた研究までは遂行できませんでしたが、本研究では今後も人工神経の研究を進めてゆく上で基準となる重要なデータが得られたと考えています。

事業化に向けては、12 週間、24 週間のより長期のモデルを作成し評価する必要があると考えています。特に処置 6 週間後以降に認められた異物反応や癒着に関して、さらなる検討が必要だと考えています。長期モデルの評価の際には、現在の評価項目に加え S-100 染色や PGP9.5 染色、トルイジンブルー染色などを行い、Schwann 細胞や軸索の再生についてより定量的な評価を行いたいと考えています。チューブの形状については、今後中空型のチューブを用いる予定です。