

自己評価報告書

平成 23 年 5 月 16 日現在

機関番号：31602

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2011

課題番号：20592378

研究課題名（和文）末梢神経損傷部への嗅神経被膜細胞（OEC）移植の有用性

研究課題名（英文）THE AVAILABILITY OF THE OLFACTORY ENSHEATHING CELLS TRANSPLANTATION TO INJURED PERIPHERAL NERVE.

研究代表者

高田 訓（TAKADA SATOSHI）

奥羽大学・歯学部・教授

研究者番号：40254875

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：末梢神経、神経損傷、嗅神経、嗅神経被膜細胞、移植

1. 研究計画の概要

OEC(olfactory ensheathing cells)移植が末梢神経損傷の修復方法として有効であるかを検索することを目的に、末梢神経損傷部に同種新鮮 OEC 移植を行い、Schwann 細胞の再生・分化・誘導様相および軸索再生を明らかにする。

実験動物には一連の研究で飼育方法が確立し扱慣れる wistar 系ラットを用い、OEC 採取は Huang ら (Chin Med J 116 : 1488-1491 2003.)や Steeves ら (Spinal Cord 42 : 591-597 2004.)の移植法に準じる。また、損傷させ移植床を形成する末梢神経としては研究者らが確立した神経損傷モデル(奥羽大学歯学誌 33 : 195-206 2006.)に準じ、下歯槽神経を用いる。

2. 研究の進捗状況

研究計画に則って進行させるために、OEC 採取方法を確立することから研究に着手した。次いで下歯槽神経に移植床を形成する手技を確立し、検索期間を決定した。その後、形態および定量形態学的な検索を進めている。

実験動物は 12 週齢以上で体重 250g～300g の雄の wistar 系ラットに統一した。まず、腹腔内麻酔科に前頭正中より実体顕微鏡下に嗅球を露出させ、マイクロ顕微鏡下に嗅球前方下部の鼻腔上壁を開窓し、鼻腔粘膜とともに嗅上皮とともに OEC を採取する。次いで recipient の同種 Wistar 系ラットは仰臥位から下顎正中皮膚切開により下顎骨頰側を露出させ実体顕微鏡下にオトガイ神経をオトガイ孔より出た部分で切断し、マイクロラウンドドリルで直径 1 mm の移植床を形成し、

同部に採取した OEC 細片を移植した。

移植後 3 日、7 日、14 日、21 日、28 日に移植部分を摘出した。検索は H-E 染色および s-100、P75 の免疫染色より OEC 移植後の移植床部分の組織変化と軸索数の変化を検索した。実験および染色標本の比較のため 12 週齢の雄の wistar 系ラットのオトガイ孔周囲の下顎骨およびオトガイ神経に同じ染色を施し正常対照とし、オトガイ孔部に移植床を形成して OEC を移植しなかった群を実験対照とした。

その結果、移植した OEC を含む嗅上皮は線維化や肉芽組織化せず、経時的に Schwann 細胞の侵入を示唆する所見が観察された。また、免疫染色では変性あるいは壊死する神経線維のほかに再生神経線維に陽性を示す所見が観察されている。また、OEC 移植後のオトガイ神経における再生軸索は増加し、大きさも増してきた。

したがって、嗅上皮に存在する OEC の自己複製能と増殖能が、末梢神経の Schwann 細胞や軸索の成長因子や栄養因子として機能している可能性がある。OEC 移植が脊髄損傷の修復に有用であるように、末梢神経の機能回復にも有用であると考えられる。

3. 現在までの達成度

③やや遅れている。

(理由)

当初の計画通り実験が進行し免疫染色や組織染色による形態観測および定量形態学的検索も行えている。しかし、recipient となる下歯槽神経の移植床形成の術式を 2010 年より変更したため約半年の遅れがある。変更理由は 2009 年まで、研究者らが確立した神

経損傷モデルに準じ、オトガイ孔から後方5～10mmの間で、下顎下縁上部の頬側皮質骨を実体顕微鏡下にマイクロドリルで慎重に削合して移植床を形成していたが、下歯槽神経の位置把握が不確実で再現性が低い移植床となったためである。

また、東日本大震災によって実験器具の一部が破損し、標本の一部が紛失したため、再実験を行っている。

4. 今後の研究の推進方策

実験方法は確立しているので、一部紛失した移植後7日および14日例の標本を再観察するために追加実験を行っている。また、定量形態学的観察のためにオトガイ神経内の軸索数の経時的変化を検索し、統計的にまとめる。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

①常盤賢市、高田 訓、当科における神経疾患に関する臨床統計的検討、口腔顔面神経機能学会会報、14巻、11-12頁、2010年、査読無

②林 由季、高田 訓、ラット下歯槽神経切断後の神経の回復経過、口腔顔面神経機能学会会報、13巻、5-6頁、2009年、査読無

③高田 訓、筋束間剥離に伴う筋機能の変化、口腔顔面神経機能学会会報、13巻、5頁、2009年、査読無

[学会発表] (計4件)

①河西敬子、高田 訓、下歯槽神経損傷部への嗅粘膜移植、第65回NPO法人日本口腔科学会学術集会、2011年4月21日、東京

②常盤賢市、高田 訓、当科における神経疾患に関する臨床統計的検討、第14回口腔顔面神経機能学会、2010年2月27日、大阪

③林 由季、高田 訓、ラット下歯槽神経切断後の神経の回復経過、第13回口腔顔面神経機能学会、2009年2月28日、兵庫

④高田 訓、筋束間剥離に伴う筋機能の変化、第13回口腔顔面神経機能学会、2009年2月28日、兵庫

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況 (計 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

[その他]