

論文内容要旨

Carbon-nanotube yarns induce axonal
regeneration in peripheral nerve defect

(カーボンナノチューブ糸は末梢神経欠損の軸索再
生を誘導する)

Scientific Reports, 11(1):19562,2021.

主指導教員：安達 伸生教授

(医系科学研究科 整形外科学)

副指導教員：砂川 融教授

(医系科学研究科 上肢機能解析制御科学)

副指導教員：味八木 茂講師

(広島大学病院 未来医療センター)

國崎 篤

(医系科学研究科 博士課程医歯薬学専攻)

損傷した末梢神経は神経縫合などにより再生が可能である。しかし、欠損や重度の損傷がある場合にはその再生能力は限られており、移植などの治療が必要となる。一般的には自家神経移植がゴールドスタンダードであるが、正常神経を犠牲にするといった欠点がある。様々な人工神経が開発されているが、現状では成功率は低くその使用に関しても制限が設けられている。そのためより強力な神経再生効果を持つ人工神経の開発が望まれている。

我々は神経再生の足場として、カーボンナノチューブ (CNT) に着目し今回の実験を行った。CNT は円筒形のナノ構造体であり、機械的強度をもち、柔軟で電気や熱を通すといった化学的特性を持ち、さらに生体適合性を有していることから再生医療や生体材料として着目されている。神経再生においてもその有用性は報告されているが、*in vivo* 研究はまだ少なく、その微小なサイズが 1 つの理由と考えられた。

今回我々は繊維状に加工可能となった CNT 糸 (cYarn) を用いてシリコンチューブ内に様々な密度 (2%:CN2、5%:CN5、10%:CN10、35%:CN35) で充填し、15 mm の人工神経モデルを作成した。ラットの坐骨神経を 10 mm 切除して人工神経を移植した。ネガティブコントロールとして中空のシリコンチューブ (C0) を移植し 15 mm 欠損モデルとした。運動機能は移植後 4 週ごとに坐骨神経機能指数 (SFI) を計算し、移植後術後 8 週、16 週で屠殺前に筋電図検査で評価を行った。屠殺後に腓腹筋と前脛骨筋を両側の後肢から切離し、実験側の健側比を測定した。さらに人工神経を坐骨神経とともに摘出し、組織的評価を行った。免疫染色として軸索とシュワン細胞をそれぞれニューロフィラメント (NF) 抗体と S100 抗体で、さらにマクロファージを CD68 抗体で染色した。8 週モデルの評価は、長軸断面の 4 領域 (P:近位端、P5:移植部の近位端から 5 mm、D5: 遠位端から 5 mm、D: 遠位端) で軸索とシュワン細胞を測定した。16 週モデルでは、移植部中枢と末梢の神経短軸断面で軸索とシュワン細胞を測定し、P5 領域でマクロファージを測定した。

組織の肉眼的所見では CN2,5,10 で CNT 表面に新生した組織が確認された。筋電図では活動電位を CN2, 5 で 85.7% に、CN10 で 42.9% に描出を確認できたが、C0 では描出されなかった。筋肉の健側と比べた患側の重量比率は C0 と比較し CN2,5,10 で有意に大きかった。SFI は 4 週、8 週ではいずれとも有意差を認めなかったが、16 週では CN2 が C0 と比較し優位に改善していた。坐骨神経の組織評価では、CN2, 5, 10 で欠損部を架橋する再生組織を認め、免疫染色では CNT に沿って伸長する軸索を確認できたが C0, CN35 では再生を確認できなかった。16 週では遠位端において再生した軸索とシュワン細胞が確認でき、その再生割合は C0 と比較し CN2 で有意に高かった。16 週での異物反応の評価では、CNT 周囲に集積する多数のマクロファージが確認できた。

今回の結果から CNT 糸が神経再生の足場として機能し、末梢神経の再生を促進することが解剖学的及び機能的に確認できた。これはナノスケールの地形的足場が、神経栄養因子や細胞の移植なしに、神経再生を可能としたことを示している。さらに 2% の CNT 密度が神経再生に最も効果的である傾向があり、占有率が高いほど組織液の還流を妨げるため 35% では組織の再生が困難であったと考えられた。神経再生におけるメカニズムは、形成されたフィブリンマト

リックス内のマクロファージが VEGF-A を分泌し、新生血管を誘導する。その血管を移動の足場としてシュワン細胞が整列して Büngner band を形成し、その band を通して軸索が伸長する。並行に配列された線維は、フィブリンマトリックスの誘導に有用と思われる。さらに CNT 糸自体、その線維方向に神経突起が伸長することが *vitro* でも報告されており、CNT 糸が神経突起伸長のための誘導足場として物理的特性を持っていることを示している。また CNT 糸は 10 nm の線維がより合わさった直径 15 μm の線維であり、その微小構造と広い表面積は細胞接着効果に優れていることも一因と考える。一方で今回使用した人工神経モデルはシリコンチューブを用いており、臨床での使用には生分解性材料で作成されるべきであると考ええる。また再生組織中の組織には CNT 周囲には異物反応が残存していた。さらに今回は中空モデルと比較して CNT 糸の神経再生効果の優位性を認めたが、自家神経移植に比べるとまだ劣っており更なる改善が望まれる。

人工神経導管の足場として CNT は臨床応用において有用な素材であることが示された。