

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 藤巻 葉子

本研究は、顆粒球コロニー刺激因子 (granulocyte colony - stimulating factor, 以下 G-CSF) による頭頸部領域の筋と神経に対する再生促進効果の有無を明らかにするため、ラットの損傷声帯筋モデルと顔面神経切除または切断縫合モデルを用いて、電気生理学および組織形態学的解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 損傷声帯筋の G-CSF による再生促進効果について

カルジオトキシン (Cardiotoxin 以下 CTX) を内視鏡下にラット声帯筋へ注入して筋を傷害後、声帯筋細胞再生の自然経過を観察した結果、大腿筋などの骨格筋と同様に声帯筋にも再生細胞が認められた。また、損傷 5 日後の声帯筋において免疫染色により G-CSF 受容体 (G-CSFR) 発現を確認した。さらに、G-CSF による傷害声帯筋細胞再生促進効果の有無を検証するため、CTX による声帯筋傷害から 4 日後と 6 日後に G-CSF または生理食塩水を投与した。投与経路は背部皮下注射または内視鏡下に声帯筋注射とした (計 4 群)。筋傷害 7 日後の再生筋細胞の面積を計測し、4 群で平均値を比較した。結果、G-CSF 投与 2 群の再生筋細胞面積はコントロール 2 群に比し有意に大きかった ($P < 0.01$)。これにより G-CSF による声帯筋再生促進効果が示された。投与経路の違いによる比較では、再生筋細胞の面積について有意差は認められなかったが、ラットの場合は、針に対する声帯筋体積が小さいため、局所投与 (声帯筋注射) 群で針刺入痕が著明であり、全身投与 (背部皮下注射) の方がより好ましい結果となった。

2. 顔面神経部分切除または切断縫合後の G-CSF による再生促進効果について

ラットの一侧顔面神経において、神経部分切除群 (本管切断部から末梢側を 10mm 切除) および神経切断縫合群を作成し、各々に処置 2 週間後から G-CSF または生理食塩水を投与した。さらに神経切断縫合後に G-CSF または生理食塩水を処置直後から投与する群も作成した。G-CSF 製剤は半減期が短いためゼラチンハイドロゲルを用いて徐放させた。全例背部皮下に投与した。12 週後の顔面の動きの評価、筋電図の振幅値、ENoG 値、髄鞘化軸索直径値を各群間で比較した。結果、顔面神経部分切除群と切断縫合群の比較で

は、G-CSF 投与の有無に関わらず、切断縫合群で有意に回復が早かった。理由は軸索の再生芽が迷うことなく伸長方向を決定できるためと推測された。神経切断縫合した4群（G-CSF または生理食塩水を、2週間または直後から投与）においては、G-CSF 投与群がコントロール群に比べ、視診、筋電図、および組織による評価において、有意に回復が早かった ($P < 0.01$)。これにより、G-CSF には顔面神経再生促進効果があることが示された。次に、G-CSF 投与の時期については、神経切断縫合処置直後から G-CSF を投与した群で最も回復が早かった。さらに遅れて2週間より投与した群においてもコントロール群に比して有意に回復が早かった。これにより投与が2週間遅れても神経再生効果が期待できる。神経機能の回復が早い群では筋肉の回復も早い傾向にあった。投与経路については、全身投与（背部皮下注射）で G-CSF の効果が確認できた。また、ラットの一侧顔面神経本管を部分切除し、5日後の顔面神経核と14日後のワーラー変性後の末梢顔面神経における G-CSFR 発現の有無を確認したところ、ともに切除側で著明に G-CSFR の発現を確認した。これにより、顔面神経傷害に対して G-CSF が顔面神経核と末梢神経の双方に作用して効果を及ぼす可能性が示唆された。

以上、本論文は、G-CSF には声帯筋傷害における筋再生促進効果と顔面神経傷害における神経再生促進効果があることを明らかにした。G-CSF は白血球増加作用などから血液疾患や抗がん剤投与後の白血球減少症に対して薬剤としてすでに臨床で使用されており、安全性は確認されているので早期の臨床応用が期待できる。本研究は、今後、頭頸部領域の筋および神経損傷に対する治療に重要な貢献をなす可能性があり、学位の授与に値するものと考えられる。