

整形外科

1 構成員

	平成15年3月31日現在
教授	1人
助教授	1人
講師（うち病院籍）	2人（2人）
助手（うち病院籍）	5人（2人）
医員	4人
研修医	3人
特別研究員	0人
大学院学生（うち他講座から）	6人（0人）
研究生	0人
外国人客員研究員	0人
技官（教務職員を含む）	0人
その他（技術補佐員等）	5人
合 計	27人

2 教官の異動状況

長野 昭（教授）	（期間中現職）
串田 一博（助教授）	（期間中現職）
村田 英之（講師）	（期間中現職）
山崎 薫（講師）	（期間中現職）
高橋 正哲（助手）	（期間中現職）
影山 康德（助手）	（期間中現職）
佐野 倫生（助手）	（期間中現職）
星野 裕信（助手）	（期間中現職）
荻原 弘晃（助手）	（期間中現職）

3 研究業績

数字は小数2位まで。

	平成14年度
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	17編（9編）
そのインパクトファクターの合計	8.98
(2) 論文形式のプロシーディングズ数	1編
(3) 総説数（うち邦文のもの）	13編（12編）
そのインパクトファクターの合計	0.00
(4) 著書数（うち邦文のもの）	6編（6編）

(5) 症例報告数 (うち邦文のもの)	11編 (8編)
そのインパクトファクターの合計	3.42

(1) 原著論文 (当該教室所属の者に下線)

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. Kawana K., Takahashi M., Hoshino H., Kushida K.: Comparison of serum and urinary C-terminal telopeptide of type I collagen in aging, menopause and osteoporosis. Clin Chim Acta 316: 109-115, 2002.
2. Kushida K., Shiraki M., Nakamura T., Kishimoto H., Morii H., Yamamoto K., Kaneda K., Fukunaga M., Inoue T., Nakashima M., Orimo H. : The efficacy of Alendronate in reducing the risk for vertebral fracture in Japanese patients with osteoporosis: A randomized, double-blind, active-controlled, double-dummy trial. Current Therapeutic Research (63) 9: 606-620, 2002.
3. Omura K., Takahashi M., Omura T., Miyamoto S., Kushida K., Sano Y., Miura M., Nagano A. : Changes in the concentration of plasma matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) after total joint replacement in patients with arthritis. Clin Rheumatol 21: 488-492, 2002.
4. Takahashi M., Kawana K., Nagano A. : Biological variability of biochemical markers of bone turnover in healthy women. Endocrine research 28 (3): 257-264, 2002.
5. Zhang H. C., Kushida K., Atsumi K., Kin K., Nagano A. : Effects of age and menopause on spinal bone mineral density in Japanese women: A Ten-year prospective study. Calcif Tissue Int 70 (3): 153-157, 2002.
6. 星野裕信, 山崎 薫: 股関節疾患における関節唇の放射状MR画像と股関節鏡視所見との比較検討. Hip Joint 28: 87-91, 2002.
7. 影山康徳, 鈴木基裕, 市川哲也, 永房鉄之, 長野 昭: 慢性関節リウマチ患者における下肢4関節置換術症例の検討. 中部整災誌 45 (4): 635-636, 2002.
8. 及川道雄, 清水聡志, 鈴木基裕, 長野 昭, 大村威夫: 透析患者の大腿または下腿切断の治療成績の検討. 中部整災誌 45 (4): 631-632, 2002.
9. 大村威夫, 長野 昭, 村田英之, 荻原弘晃, 西村行秀: 腕神経叢損傷術中診断における硬膜内記録電極を用いた脊髄誘発電位測定の有効性. 日手会誌 19 (6): 725-728, 2002.
10. 志賀克元, 荻原弘晃, 高橋正哲, 佐野倫生, 長野 昭: 肘関節拘縮の治療経験. 中部整災誌 45 (2): 305-306, 2002.
11. 高橋正哲, 内藤健一, 長野 昭: 変形性膝関節症の関節マーカーによる評価. 別冊整形外科 42: 104-107, 2002.
12. 山崎 薫: 踵骨 QUS. Osteoporosis Japan 10 (3): 425-427, 2002.
13. 影山康徳, 鈴木基裕, 市川哲也, 永房鉄之, 宮本繁仁, 長野 昭: 関節リウマチ患者に発生した脆弱性骨折の検討 中部整災誌 54 (2): 145-148, 2003.

インパクトファクターの小計 [5.446]

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

1. Fukunaga M., Kushida K., Kishimoto H., Shiraki M., Taketani Y., Minaguchi H., Inoue T., Morita R., Morii H., Yamamoto K., Ohashi Y., Orimo H. : A comparison of the effect of risedronate and etidronate on lumbar bone mineral density in Japanese patients with osteoporosis: A randomized controlled trial. *Osteoporos Int* 13 (12): 971-979, 2002.
2. Matsumoto Y., Takahashi M., Ogata M. : Relationship between glycoxidation and cytokines in the vitreous of eyes with diabetic retinopathy. *Jpn J Ophthalmol* 46: 406-412, 2002.
3. Matsumoto Y., Takahashi M., Chikuda M., Arai K. : Levels of mature cross-links and advanced glycation end product cross-links in human vitreous. *Jpn J Ophthalmol* 46: 510-517, 2002.
4. 山本真一, 田尻康人, 山本直哉, 沖永修二, 長野 昭 : 特発性前骨間神経麻痺の予後. *日手会誌* 19 (3): 193-195, 2002.

インパクトファクターの小計 [3.529]

(2) 論文形式のプロシーディングズ

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. 大村威夫, 長野 昭, 荻原弘晃, 高橋正哲, 佐野倫生, 西村行秀 : Semmes-Weinsteinを用いた肘部管症候群の術後感覚機能の検討. *末梢神経* 13 (1): 101-104, 2002.

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

(3) 総 説

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. Takahashi M., Ohishi T. : Biochemical markers in osteoporotic fractures in the acute phase and in the healing process. Yuehuei H. An (ed.) *Orthopaedic issues in osteoporosis* CRC: 191-202, 2002.
2. 串田一博 : わが国で新しく認可された治療薬 alendronate. *臨床医* 28 (8): 1841-1843, 2002.
3. 串田一博 : 骨代謝マーカー. *SEIKEI-GEKA KANGO* 2002 春季増刊 : 62-70, 2002.
4. 串田一博 : リゼドロン酸ナトリウム水和物. *臨床と薬物治療* 21 (10): 1040-1041, 2002.
5. 串田一博 : 骨粗鬆症の診断技術の進歩とその読みかた 骨密度測定. *Medical Practice* 19 (10): 1677-1681, 2002.
6. 串田一博 : 骨塩測定法と測定部位からみた骨塩測定の意義. *clinical calcium* 12 (11): 1505-1510,

2002.

7. 村田英之：肩こりはなぜおこる。暮らしと健康12月号：23-25, 2002.
8. 長野 昭：肩周辺神経障害（肩甲上神経，腋窩神経）の手術。関節外科 21 (5): 523-531, 2002.
9. 長野 昭：手根管症候群の手術的治療－開放式手根管開放術を勧める－。整形・災害外科 45 (11): 1087-1091, 2002.
10. 高橋正哲：デオキシピリジノリン，ピリジノリン。腎と骨代謝 15 (3): 263-269, 2002.
11. 山崎 薫：超音波法。Prog. Med. 22 (8): 1824-1826, 2002.
12. 山崎 薫：骨量測定。SEIKEI-GEKA KANGO2002春季増刊：39-47, 2002.
13. 村田英之，長野 昭：脊椎・骨盤癌転移患者のベッドサイドリハビリテーション。Journal of Clinical Rehabilitation 12 (1): 33-40, 2003.

インパクトファクターの小計 [0.00]

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し，共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し，共著者が当該教室に所属していたもの

(4) 著 書

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. 串田一博：骨軟化症。山口 徹，北原光夫（総編集）今日の治療指針 医学書院：719-720, 2003.
2. 長野 昭：絞扼神経障害の治療。越智隆弘，菊池臣一（編）NEW MOOK整形外科No. 11肘の外科 金原出版：152-158, 2002.
3. 長野 昭：知っておきたい手の仕組みと症状。伊藤達雄（総監修）別冊NHKきょうの健康 これだけは知っておきたい肩・腰・ひざの痛み 日本放送出版協会：78-79, 2002.
4. 長野 昭：手の指先のしびれが続いています。NHKきょうの健康 特集「痛み」をいやすペインクリニック8月号：137, 2002.
5. 長野 昭：絞扼性神経障害。伊藤達雄（総監修）別冊NHKきょうの健康 これだけは知っておきたい肩・腰・ひざの痛み 日本放送出版協会：80-83, 2002.
6. 山崎 薫：骨粗鬆症トライアルガイド。折茂肇（監）骨粗鬆症トライアルガイド ライフサイエンス出版：2002.

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し，共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し，共著者が当該教室に所属していたもの

(5) 症例報告

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. Hasegawa K., Murata H., Naitoh N., Nagano A. : Spinal tuberculosis: Report of an atypical presentation. Clin Orthop 403: 100-103, 2002.
2. Takahashi M., Miyamoto S., Nagano A. : Arthroscopic treatment of soft-tissue impingement under the patella after total knee arthroplasty. Arthroscopy 18 (4): 1-4, 2002.
3. 長谷川晃三, 鈴木義司, 渥美公勢, 長野 昭 : 膝蓋大腿関節包に発生したガングリオンにより弾発現象を伴った1例, 整形外科 53 (10): 1307-1309, 2002.
4. 猿川潤一郎, 高橋正哲, 阿部雅志, 鈴木重哉, 梅原慶太, 長野 昭 : 前十字靭帯再建後Cyclops病変2例. 整形外科 53 (6): 693-696, 2002.
5. 志賀克元, 佐野倫生, 西村行秀, 神谷光太郎, 長野 昭, 三浦克敏 : 坐骨に原発したと考えられる未分化間葉系腫瘍の一例. 東海骨軟部腫瘍 14 : 53-54, 2002.
6. 鈴木大介, 高橋正哲, 市川哲也, 船橋伸司, 長野 昭 : 5歳児に発症した膝関節限局性結節性滑膜炎の1例. 整形外科 53 (13): 1687-1690, 2002.
7. 佐野倫生, 西村行秀, 神谷光太郎, 細川智彦, 長野 昭, 三浦克敏 : 局所再発後自然消退したcongenital fibrosarcomaの一例. 東海骨軟部腫瘍 14 : 7-8, 2002.
8. 佐野倫生, 高橋正哲, 西村行秀, 長野 昭 : 骨外性粘液型軟骨肉腫の2例. 中部整災誌 45 (6): 971-972, 2002.
9. 永房鉄之, 影山康德, 鈴木基裕, 市川哲也, 志賀克元, 鳥養栄治, 長野 昭 : 急速な膝関節の骨破壊を生じステロイド関節症が疑われたRA患者の1例. 中部リウマチ34 (1): 44-45, 2003.
10. 土川拓也, 大石 強, 宮本繁仁, 長野 昭 : 関節リウマチにみられた前肘部囊腫の1例. 中部リウマチ34 (1): 6-47, 2003.

インパクトファクターの小計 [2.479]

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）

1. Miura K., Han G., Sano M., Tsutsui Y. : Regression of congenital fibrosarcoma to hemangiomatous remnant with histological and genetic findings. Pathology International 52: 612-618, 2002.

インパクトファクターの小計 [0.938]

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

4 特許等の出願状況

	平成14年度
特許取得数（出願中含む）	0件

5 医学研究費取得状況

	平成14年度
(1) 文部科学省科学研究費	4件 (420万円)
(2) 厚生科学研究費	0件 (万円)
(3) 他政府機関による研究助成	0件 (万円)
(4) 財団助成金	0件 (万円)
(5) 受託研究または共同研究	5件 (1,188万円)
(6) 奨学寄附金その他(民間より)	23件 (1,703万円)

(1) 文部科学省科学研究費

長野 昭 (代表者) 基盤研究 (C) (2) 「神経再生の実験的研究 血液-神経関門の破綻と再生」
110万円 (継続)

荻原弘晃 (代表者) 基盤研究 (C) (2) 「関節軟骨欠損に対する軟骨細胞移における軟骨細胞三次元培養包埋材料の研究」160万円 (継続)

佐野倫生 (代表者) 奨励研究 (A) 「末梢神経再生部で発現している新規遺伝子の単離」80万円
(継続)

星野裕信 (代表者) 奨励研究 (A) 「尿中コラーゲン架橋によるビスフォスフォネート治療感受性のスクリーニング法の確立」70万円 (新規)

6 特定研究などの大型プロジェクトの代表, 総括

7 学会活動

	国際学会	国内学会
(1) 特別講演・招待講演回数	0件	0件
(2) シンポジウム発表数	0件	1件
(3) 学会座長回数	0件	8件
(4) 学会開催回数	0件	1件
(5) 学会役員等回数	0件	9件
(6) 一般演題発表数	5件	

(1) 国際会議等開催・参加:

4) 一般発表

口頭発表

1. Omura T., Nagano A., Murata H., Ogihara H., Sano M. : The usefulness of the intraoperative diagnosis using intradural evoked spinal cord potential in brachial plexus injuries. XIII International Symposium on Brachial Plexus Surgery. January 2002, Paris, France.
2. Ogihara H., Nagano A., Sano M., Omura T. : Our experiences of limb lengthening. The 2nd Kyungpook-Hamamatsu Joint Symposium December 2002, Hamamatsu, Japan.

ポスター発表

1. Doi M., Nagano A., Nakamura Y. : Identification by cDNA microarray of genes involved in human mesenchymal stem cells osteogenesis and mineralization. Twenty-Fourth Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. September 2002, Texas, USA.
2. Omura K., Sano M., Omura T., Hasegawa T., Sugiyama K., Nagano A. : The quantitative analysis of blood-nerve-barrier in nerve crush injury. Society for Neuroscience 32nd Annual Meeting. November 2002, Florida, USA.
3. Omura T., Sano M., Omura K., Hasegawa T., Ogihara H., Nagano A. : Acute nerve compression injuries- a model for neuropathia. Society for Neuroscience 32nd Annual Meeting. November 2002, Florida, USA.

(2) 国内学会の開催・参加

2) シンポジウム発表

長野 昭 (2002) 前および後骨間神経麻痺－観血療法, 第45回日本手の外科学会学術集会, 7月, 新潟市

3) 座長をした学会名

長野 昭 第98回中部日本整形外科災害外科学会
長野 昭 第45回日本手の外科学会学術集会
長野 昭 第75回日本整形外科学会学術集会
長野 昭 第35回日本整形外科学会骨・軟骨腫瘍学術集会
長野 昭 第17回日本整形外科学会基礎学術集会
長野 昭 第100回中部日本整形外科災害外科学会
長野 昭 第46回日本手の外科学会学術集会
串田一博 第4回日本骨粗鬆症学会

4) 主催する学会名

長野 昭 第13回日本末梢神経学会

5) 役職についている学会名とその役割

長野 昭 日本整形外科学会 理事
長野 昭 中部日本整形外科災害外科学会 理事
長野 昭 日本手の外科学会 理事
長野 昭 日本肘関節研究会 理事
長野 昭 日本末梢神経学会 理事
串田一博 日本骨代謝学会 評議員
串田一博 日本骨形態計測学会 評議員

串田一博 中部日本整形外科災害外科学会 評議員

串田一博 日本骨粗鬆症学会 監事

8 学術雑誌の編集への貢献

	国内	外国
学術雑誌編集数（レフリー数は除く）	3件	0件

(1) 国内の英文雑誌の編集

長野 昭, J Orthopaedic Science, Editorial Board, 有り, なし

串田一博, J Orthopaedic Science, Editorial Board, 有り, なし

串田一博, J Bone Miner Metab, Editorial Board, 有り, 有り (1.22)

(3) 国内外の英文雑誌のレフリー（reviewer）の回数と雑誌名（国）をお書きください。

長野 昭, J shoulder Elbow surgery, 2回

長野 昭, J Orthopaedic Science（日本）, 6回

串田一博, J Orthopaedic Science（日本）7回

串田一博, J Bone Miner Metab（日本）5回

高橋正哲, Clin Chem and Laboratory Medicine.

高橋正哲, J Bone Miner Metab,（日本）

9 共同研究の実施状況

	平成14年度
(1) 国際共同研究	0件
(2) 国内共同研究	3件
(3) 学内共同研究	1件

(2) 国内共同研究

1. 中村祐輔（東京大学医科学研究所 ヒトゲノム解析センター）未分化間葉系幹細胞から骨芽細胞分化に関与する新規遺伝子の単離と解析

2. 古谷隆一（磐田市立総合病院 内科）透析患者における血中ペントシジンの研究

3. 松本行弘（獨協医科大学越谷病院 眼科）眼内組織中のコラーゲン架橋物質およびAGE物質の研究

(3) 学内共同研究

1. 堀内健太郎（生命科学）結合組織中の新規架橋物質の同定

10 産学共同研究

	平成14年度
産学共同研究	0件

11 受 賞

12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

1. 尿中コラーゲン架橋によるビスフォスフォネート治療感受性のスクリーニング法の確立

尿中コラーゲン架橋のひとつであるピリジニウムクロスリンクスのペプチド結合分画の測定法を確立し、その測定精度の検証を行った結果、健常人サンプル7回連続測定により%CVは6.5%から12.2%であった。この測定法を用いて、ビスフォスフォネート治療感受性のスクリーニングが可能かどうかの検討を行った。対象は健常人10例、ビスフォスフォネート製剤であるエチドロネート1日200mgを2週間投与、10週間休薬を2クール行い、骨密度の増加したresponder群10例、骨密度の増加しなかったnon-responder群10例である。エチドロネート投与前後で尿中ピリジニウムクロスリンクスのペプチド結合分画を測定した。健常人と投与前non-responder群の比較では、それぞれの分画の割合に有意差はなかったが、投与前responder群との比較では分子量10000MW以上の大きなペプチドを結合した分画の割合のみ有意に低値であり、その他の分画の割合は有意差がなかった。responder, non-responderともピリジニウムクロスリンクスのフリー分画は、エチドロネート投与後有意に減少した。分子量10000MW以上の大きなペプチドを結合した分画は、エチドロネート投与前後において有意に減少したのみならず、投与前の測定でnon-responder群と比較してresponder群において有意に高値であった。この結果は、実際にエチドロネートを投与前に、骨粗鬆症患者の尿中ピリジニウムクロスリンクスの分子量10000MW以上の大きなペプチドを結合した分画を測定することにより、治療に反応するのか、そうでないのかを事前に予測できる可能性を示唆している。

(星野裕信, 山崎 薫, 高橋正哲, 長野 昭)

2. 神経髄鞘損傷モデル (Neurapraxia) の作製

神経圧迫障害の分類にはSeddonによる分類が広く用いられている。Axonotmesisに関する圧迫モデルは存在するものの、neurapraxiaモデルの詳細な報告はない。我々は坐骨神経急性圧迫によるラットneurapraxiaモデルを作成し、機能的、組織学的、電気整理学的な評価を行った。

- 1) 機能解析においては術後翌日まで完全麻痺を呈したが、以後速やかな回復をみせた。
- 2) 組織学的検査ではいずれの期間、部位においても、ワーラー変性の所見はほとんど見られず、またneurofilament染色での軸索の染色性は保たれていた。
- 3) 電気整理学的には神経損傷部において伝導ブロックを生じるも、末梢での電導性は保たれていた。1943年Seddonは末梢神経損傷の臨床分類を報告し、neurapraxiaとはワーラー変性を生じない、損傷部中枢では電気刺激に対し反応せず、末梢では伝導性が保たれている、機能回復の速度は早い状態であると定義した。今回我々の坐骨神経急性圧迫モデルにおいても同様な結果が得られ、neurapraxiaモデルに相当すると考えられる。

(大村威夫, 佐野倫生, 大村久美子, 長谷川智彦, 長野 昭)

3. 血液 - 神経関門の機能動態

末梢神経には血中物質の神経組織内への物質移行を制御し、神経内の環境の恒常性を維持する血

液-神経閥門 (BNB) が存在する。従来その評価は静脈内に投与したEvans blue albuminやhorse-radish peroxidaseの神経内膜内への漏出の有無により検討されてきた。しかしながらこの検討では定量的な評価は困難であり、詳細なBNBの機能動態の解明には検討の余地があった。そこで血液閥門に特異的な抗血液閥門抗体を用いた免疫組織化学的手法に着目し、定量的にBNBの破綻および再生を評価する方法を確立した。すなわち、血管内皮細胞マーカーとして抗RECA-1抗体、血液閥門因子マーカーとして抗EBA抗体を用い、全血管数に対するbarrier機能を持った血管の割合として数値化することによりBNBの定量評価を行った。実験としては、ラットの坐骨神経圧挫モデルを作製し、神経再生過程におけるBNBの時間的、空間的变化を検討した。その結果BNBは、損傷後3日で圧挫部より中枢5mmおよび末梢全体にわたり有意にbarrier機能を持った血管の割合は低下し、その後21日までに徐々に回復した。一方、軸索は損傷後3日から変性が始まり、14日後では神経筋入口部まで再生軸索がみられ、軸索の再生が中枢側から徐々に起きるとそれを追いかけるようにBNBが回復することが推測された。今後、神経再生に関わる炎症性細胞、神経栄養因子、サイトカイン、接着因子などについても検討していく予定である。

(大村久美子, 佐野倫生, 大村威夫, 長谷川智彦, 長野 昭)

4. 関節軟骨欠損に対する軟骨細胞移植における軟骨細胞三次元培養包埋材料の研究

関節軟骨欠損に対する軟骨細胞三次元培養における新しい生体吸収性培養細胞包埋材料の研究において包埋材料として β -chitinを使用した。生体吸収性材料である β -chitinスポンジを作製し、これを用いて家兎軟骨細胞を三次元培養し、スポンジ表層に軟骨様組織を有する円柱状軟骨スポンジ複合体を作製した。イカ軟甲より抽出した β -chitinで、円柱状の β -chitinスポンジを作製した。日本白色家兎より採取した軟骨より軟骨細胞を単離。 5×10^7 個/mlの細胞DMEM混合液を40ulずつplate上に置き、スポンジ表面が下になるよう上からスポンジを置き、混合液を逆行性に吸引させた。1日培養後、スポンジを横向きに別のplateへ移し、4週間培養した。各週でのスポンジ内DNA、コンドロイチン硫酸、ヒドロキシプロリンを測定した。RT-PCRで軟骨細胞の形質の維持を確認、また、作製した軟骨様組織の組織学的・免疫組織学的評価と、SEMでの形態的評価を行った。DNA、コンドロイチン硫酸、ヒドロキシプロリン量は経時的に増加し、軟骨細胞の形質は維持され、スポンジ表層に基質がサフラニンOで濃染し、免疫染色でtype II collagenも染色される軟骨様組織を作製できた。 β -chitinはリゾチームにより分解される生体吸収性材料であり、また、多糖類で生体親和性が高く、電気的にも軟骨細胞の産生するプロテオグリカンとの親和性が高い。 β -chitinスポンジは軟骨細胞の培養に適しており、これを用いて、スポンジ表層に軟骨様組織を有する円柱状軟骨スポンジ複合体の作製が可能であった。

(阿部雅志, 高橋正哲, 戸倉清一¹, 田村 裕¹, 長野 昭) ¹関西大学工学部

5. ホルマリン固定が組織中架橋物質濃度に与える影響

架橋物質濃度の測定は一般的に、新鮮組織、または凍結保存組織で行われる。しかし、ホルマリン固定した組織でも測定可能であれば、結合組織の研究に有用である。我々は、ホルマリン固定がコラーゲン、エラスチン架橋物質測定に与える影響を調べるため、ホルマリン固定した組織の架橋物質を測定し、ホルマリン固定前の濃度と比較検討した。10例の黄色靭帯、12例の軟骨をホルマリ

ン固定した。黄色靱帯は固定後1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月で、軟骨は1年後に、SP-Sephadex C-25で抽出し、HPLC法を用いて、軟骨はピリジノリン (Pyr) , ペントシジン (Pen) , 黄色靱帯は、さらにデスモシン (Des) , イソデスモシン (Isodes) も測定した。また、ハイドロキシプロリン (Hypro) を測定し、コラーゲンあたりの架橋濃度で比較した。ホルマリン固定の黄色靱帯、軟骨ともに、HPLC法で架橋のpeakは検出された。ホルマリン固定前に比べ、軟骨のPyr/Hypro, Pen/Hyproの割合は平均102.3%, 114.1%で、平均値間に有意差なく、固定前後の測定値に相関を認めた (Pyr/Hypro: $r=0.712$, $p=0.0159$, Pen/Hypro: $r=0.740$, $p=0.0107$)。固定前に比べ、黄色靱帯のPyr/Hypro, Pen/Hyproの割合は、固定後1ヶ月で平均111.2%, 87.2%, 3ヶ月で平均106.0%, 97.7%, 6ヶ月で平均123.1%, 100.1% で平均値間に有意差なく、固定前後の測定値に相関を認めた (1ヶ月: Pyr/Hypro: $r=0.780$, $p=0.0172$, Pen/Hypro: $r=0.872$, $p=0.0075$, 3ヶ月: Pyr/Hypro: $r=0.711$, $p=0.0365$, Pen/Hypro: $r=0.889$, $p=0.0060$, 6ヶ月: Pyr/Hypro: $r=0.852$, $p=0.0190$, Pen/Hypro: $r=0.905$, $p=0.0115$)。これに対し、固定前に比べ、黄色靱帯のエラスチン架橋であるDes/Hypro, Isodes/Hyproの割合は、固定後1ヶ月で平均48.4%, 45.6%, 3ヶ月で平均46.2%, 46.6%, 6ヶ月で平均55.0%, 52.1%で、ホルマリン固定により有意に減少した。固定前後の測定値の相関は固定期間が長くなると高くなった (1ヶ月: Des/Hypro: $r=0.399$, $p=0.1222$, Isodes/Hypro: $r=0.473$, $p=0.1967$, 3ヶ月: Des/Hypro: $r=0.629$, $p=0.0475$, Isodes/Hypro: $r=0.757$, $p=0.0365$, 6ヶ月: Des/Hypro: $r=0.806$, $p=0.0141$, Isodes/Hypro: $r=0.916$, $p=0.0048$)。軟部組織である黄色靱帯、硬組織である軟骨ともに、ホルマリン固定はコラーゲン架橋であるPyr, Pen濃度に影響しなかった。一方、エラスチン架橋であるDes, Isodesはホルマリン固定により減少し、Des, Isodesのpeak間に異なるpeakが検出された。また、減少割合にばらつきがあったが、固定期間が長くなると凍結保存との相関が高くなった。この結果は、コラーゲン架橋はホルマリン固定による影響は少なく、測定可能であるが、エラスチン架橋はホルマリン固定では維持されないか、または、架橋は修飾された分子に変化することが考えられた。また、固定期間が長くなるとホルマリンによる修飾が安定すると考えられた。黄色靱帯、軟骨ともに、ホルマリン固定はコラーゲン架橋であるPyr, Penに影響しなかった。エラスチン架橋であるDes, Isodesはホルマリン固定により減少し、他の分子に変化する可能性が考えられた。

(阿部雅志, 高橋正哲, 堀内健太郎, 長野 昭)

6. 分子量の異なるヒアルロン酸が軟骨細胞培養コラーゲングル内のコラーゲン架橋形成に与える影響

コラーゲングル包埋軟骨細胞培養で作製する軟骨様組織において、その構造保持のための結合組織の強さがどう変化するかを、コラーゲン架橋物質濃度で評価し、ヒアルロン酸の分子量による架橋形成への影響を調べる目的で、この培養に分子量の異なるヒアルロン酸を添加し、架橋物質濃度を比較検討した。日本白色家兎から関節軟骨を採取し、軟骨細胞に単離。type I コラーゲングル0.5% (高研) と混合し、最終濃度 2.0×10^6 個/mlで200ulずつマウントした。これを、10%FBSを含むDMEMで培養した (N群)。同時に、それぞれ分子量230万 (H群), 80万 (A群), 2万3000 (L群) のヒアルロン酸を0.1 mg/mlで添加し培養した。controlは、ゲルのみを培養した。それぞれ $n=12$ とし、1, 2, 3, 4週で、コラーゲン架橋物質のピリジノリン (Pyr) 量, コラーゲン量を反映するハイドロキシプロリン (Hypro) 量を測定した。controlは0日での測定も行った。軟骨細胞を

含まないcontrolで、Pyrは2週以降急減し、Hyproは1週で減少、4週まで変化はなかった。全群ともPyrはcontrol0日に比べ、1週で減少、3週以降増加し、3週でN群に比べて、H群、A群が、4週でN群、L群に比べてH群、A群が有意に高値であった。Hyproは全群、全期間でcontrolより有意に高値で、A群、L群で1週から4週まで徐々に増加するのに対し、N群、H群は3週以降増加した。Pyr/Hyproはcontrol0日に比べ、1週で減少し、3週以降増加した。3週でN群に比べて、H群、A群が、4週で、N群、L群に比べてH群、A群が有意に高値であった。ゲルのコラーゲン量は保持されるが、架橋は減少し、コラーゲンの構造は維持されない。軟骨細胞を包埋すると、コラーゲンは分解され、新たに軟骨細胞よりコラーゲンが産生構築される。この過程で、より高分子のヒアルロン酸が、各コラーゲン単位における架橋の形成を促進した。ヒアルロン酸としての効果を強くもつ高分子ヒアルロン酸は移植組織としての結合組織の強さを増加すると考えた。

(阿部雅志, 高橋正哲, 長野 昭)

7. 末梢神経切断後の各神経組織における遺伝子発現変化の検討

ラット坐骨神経切断後に、脊髄、後根神経節、切断坐骨神経末梢側で発現する遺伝子の変化を調査し、末梢神経再生に関与する遺伝子につき検討する。

Wistar種雄ラットの坐骨神経を麻酔下に切断し、3時間後、24時間後、1週間後で組織を採取、採取組織よりRNAを抽出、RT-PCRを行い、テンプレートを作成する。各々のテンプレートと、非切断群のコントロール間でdifferential display法またはsubtraction法を用いて遺伝子発現を比較する。経時的に発現する遺伝子群の差違を調べて、切断後に新たに発現する遺伝子を同定する。遺伝子の同定が出来るようなら、*in situ hybridization*で各組織での発現部位をみる。

(長谷川智彦, 佐野倫生, 大村威夫, 大村久美子, 長野 昭)

8. 末梢神経切断後の各神経組織におけるNogo-A, Nogo-66receptor遺伝子発現変化の検討

Nogo-Aは中枢神経の神経細胞、oligodendrocyteに存在し、神経軸索の再生を阻害すると言われている。今回、上記の末梢神経切断モデルにおいて、Nogo-Aとその細胞外ループの受容体であるNogo-66receptorのmRNA発現変化をRT-PCRを用いて検討した。

Nogo-Aでは損傷後も脊髄、後根神経節での発現量に変化なく、Nogo-66receptorは切断後、増加する傾向にあった。

(長谷川智彦, 佐野倫生, 大村威夫, 大村久美子, 長野 昭)

9. 各神経組織におけるNogo-A, Nogo-66receptorのmRNA発現の検討

成熟ラット神経組織におけるNogo-A, Nogo-66receptorのmRNA発現分布を*in situ hybridization*を用いて調査し、発現分布と神経再生能との関連について検討する。

(長谷川智彦, 佐野倫生, 大村威夫, 大村久美子, 大野浩司, 長野 昭, 佐藤康二)

13 この期間中の特筆すべき業績, 新技術の開発

14 研究の独創性, 国際性, 継続性, 応用性

15 新聞, 雑誌等による報道