

整形外科

1 構成員

	平成17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	5人
研修医	1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
技術職員（教務職員を含む）	0人
その他（技術補佐員等）	4人
合 計	25人

2 教官の異動状況

長野 昭（教授）	（平成10年5月1日～現職）
串田 一博（助教授）	（昭和61年5月1日～現職）
村田 英之（講師）	（平成7年4月1日～現職）
山崎 薫（講師）	（平成13年10月1日～現職）
高橋 正哲（助手）	（平成10年2月1日～現職）
影山 康德（助手）	（平成12年6月1日～現職）
佐野 倫生（助手）	（平成11年4月1日～現職）
星野 裕信（助手）	（平成9年4月1日～現職）
荻原 弘晃（助手）	（平成10年6月1日～現職）

3 研究業績

数字は小数2位まで。

	平成16年度
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	21編（10編）
そのインパクトファクターの合計	32.65
(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）	11編（11編）
そのインパクトファクターの合計	0
(4) 著書数（うち邦文のもの）	11編（11編）

(5) 症例報告数 (うち邦文のもの)	11編 (10編)
そのインパクトファクターの合計	1.62

(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. Abe M., Takahashi M., Tokura S., Tamura H., Nagano A. : Cartilage-scaffold composites produced by bioresorbable β -chitin sponge with cultured rabbit chondrocytes. Tissue Eng 10(3/4) : 585-594, 2004.
2. Doi M., Nagano A., Nakamura Y. : Molecular cloning and characterization of a novel gene, EMILIN-5, and its possible involvement in skeletal development. Biochem Bioph Res Co 313 (4) : 888-893, 2004.
3. Hasegawa K., Hasegawa Y., Nagano A. : Estimation of bone mineral density and architectural parameters of the distal radius in hemodialysis patients using peripheral quantitative computed tomography. J Biomech 37(5) : 751-756, 2004.
4. Kageyama Y., Koide Y., Uchijima M., Nagata T., Yoshida A., Taiki A., Miura T., Nagafusa T., Nagano A. : Plasmid encoding interleukin-4 in the amelioration of murine collagen-induced arthritis. Arth Rheum / Ar C Res 50(3) : 968-975, 2004.
5. Kushida K., Fukunaga M., Kishimoto H. : A comparison of incidences of vertebral fracture in Japanese patients with involutional osteoporosis treated with risedronate and etidronate : a randomized, double-masked trial. J Bone Miner Metab 22(5) : 469-478, 2004.
6. Kushida K., Shiraki M., Nakamura T., Inoue T. : Alendronate reduced vertebral fracture risk in postmenopausal Japanese women with osteoporosis : a 3-year follow-up study. J Bone Miner Metab 22(5) : 462-468, 2004.
7. Omura K., Ohbayashi M., Sano M., Omura T., Hasegawa T., Nagano A. : The recovery of blood-nerve barrier in crush nerve injury-a quantitative analysis utilizing immunohistochemistry. Brain Res 1001(1-2) : 13-21, 2004.
8. Omura T., Sano M., Omura K., Hasegawa T., Nagano A. : A mild acute compression induces neurapraxia in rat sciatic nerve. Int J Neurosci 114 : 1561-1572, 2004.
9. Sakata S., Barkmann R., Lochmuller EM., Heller M., Gluer CC. : Assessing bone status beyond BMD : evaluation of bone geometry and porosity by quantitative ultrasound of human finger phalanges. J Bone Miner Res 19(6) : 924-930, 2004.
10. Takahashi M., Naito K., Abe M., Sawada T., Nagano A. : Relationship between radiographic grading of osteoarthritis and the biochemical markers for arthritis in knee osteoarthritis. Arthritis Res Ther 6(3) : 208-212, 2004.
11. 土井 俊, 高橋正哲, 坂田 悟, 大石 強, 長野 昭 : 中高年者の鏡視下半月板切除術後における変形性関節症変化の推移. 中部整災誌46 (6) : 1105-1106, 2003.
12. 長谷川晃三, 鈴木義司, 神谷光太郎, 山本和史, 長野 昭 : 膝前十字靭帯再建術後のスポーツ復帰についての検討. 整形外科55 (9) : 1167-1169, 2004.
13. 星野裕信, 高橋正哲, 山崎 薫, 長野 昭 : 尿中ピリジノリン架橋ペプチド結合分画測定に

よるエチドロネート投与後の骨密度増加の予測. 中部整災誌47 (1) : 99-100, 2004.

14. 影山康徳, 鈴木基裕, 永房鉄之, 市川哲也, 長野 昭 : RA患者の血清KL-6についての検討. 中部整災誌47 (3) : 481-482, 2004.
15. 小山博史, 湯朝信博, 高野裕一, 伊藤雅之, 北原 洋 : 人工膝関節全置換術後の膝蓋大腿アライメントの検討. 整形外科55 (9) : 1141-1150, 2004.
16. 宮本竜兵, 大石 強, 土川拓也, 渡辺詩郎, 高橋正哲, 長野 昭 : 内側半月板後節損傷における後内側アプローチの経験. 関節外科23 (4) : 580-583, 2004.
17. 村田英之, 荻原弘晃, 長野 昭 : イリザロフ脊椎創外固定器を用いた脊椎骨折の治療経験. 日本脊椎インストゥルメンテーション学会誌3 (1) : 72-76, 2004.
18. 高橋正哲, 阿部雅志, 大村久美子, 内藤健一, 長野 昭 : 軟骨代謝マーカーの臨床的有用性の検討. 中部整災誌47 (1) : 49-50, 2004.
19. 高橋正哲, 阿部雅志, 鈴木大介, 長野 昭 : 前十字靭帯再建術の冠状面頰骨骨孔角度と術後不安定性との関連・臨床的検討と解剖学的検討. 別冊整形外科No.46関節不安定性と靭帯再建-適応・手技・成績 : 147-151, 2004.
20. 山梨晃裕, 村田英之, 高橋正哲, 長野 昭 : 腰部脊柱管狭窄症に対する開窓術における我々の工夫. 中部整災誌47 (1) : 33-34, 2004.

インパクトファクターの小計 [32.65]

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. Iwashige K., Kouda K., Kouda M., Horiuchi K., Takahashi M., Nagano A., Tanaka T., Takeuchi H. : Calorie restricted diet and urinary pentosidine in patients with rheumatoid arthritis. J Physiol Anthropol Appl Human Sci 23 : 19-24, 2004.

インパクトファクターの小計 [0]

(2) 論文形式のプロシーディングズ

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. 片岡秀夫, 松川真美, 大谷隆彦, 大和 雄, 山崎 薫, 長野 昭 : 超音波を用いた皮質骨の評価・牛大腿骨およびヒト大腿骨頸部について. 信学技報 6 : 17-22, 2004.

(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. 星野裕信, 串田一博 : I型コラーゲン架橋C-テロペプチド (CTX). 日本臨牀62 増刊号2 : 365-368, 2004.
2. 串田一博 : 骨量測定法の進歩 骨量測定による骨粗鬆症診断と骨折リスクの評価. Clinical Calcium 14 (12) : 1817-1823, 2004.
3. 串田一博 : 骨粗鬆症 ガイドラインを生かした実地診療 骨粗鬆症の診断の進め方 脊椎X線写真の撮り方とその評価. Medical Practice 21 (10) : 1677-1682, 2004.

4. 串田一博：骨粗鬆症学 基礎・臨床研究の新しいパラダイム 骨粗鬆症の治療法 薬物療法 骨粗鬆症治療薬（ビスホスフォネート）の長期投与の効果と安全性. 日本臨床62 増刊号 2：455-460, 2004.
5. 荻原弘晃：腕神経叢損傷のリハビリテーション・肋間神経移行術後患者に対するバイオフィードバック・MB Med Reha 42：26-30, 2004.
6. 山崎 薫：骨粗鬆症のX線像所見. 日本臨床62 増刊号 2：261-264, 2004.
7. 山崎 薫：骨粗鬆症. 薬局56 増刊号：509-517, 2004.
8. 山崎 薫：ビタミンDの転倒予防効果. The bone 18 (2)：201-204, 2004.
9. 山崎 薫：測定機器の互換性に関する検討. 日本臨床62 増刊号2：309-311, 2004.
10. 山崎 薫：骨密度をどこまで増加できるか. Current therapy 22 (3)：268-269, 2004.
11. 山崎 薫：年々骨量が減っています. NHKきょうの健康3月号 日本放送出版協会：142, 2004.
インパクトファクターの小計 [0]

(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. 長野 昭：肘関節の機能解剖. 二ノ宮節夫他（編）今日の整形外科治療指針第5版 医学書院：428, 2004.
2. 長野 昭：肘の痛みのとらえ方／診断手順. 二ノ宮節夫他（編）今日の整形外科治療指針第5版 医学書院：428-430, 2004.
3. 長野 昭：肋間神経移行術. 二ノ宮節夫他（編）Browsing 整形外科手術シネ, アトラス&テキストCD-ROM vol. 3上肢 南江堂：2004.
4. 長野 昭：末梢神経麻痺各論 1. 腕神経叢麻痺. 岩本幸英（編）神中整形外科学 上巻 改訂22版 南山堂：749-751, 2004.
5. 長野 昭：神経麻痺 1. 副神経麻痺. 岩本幸英（編）神中整形外科学 下巻 改訂22版 南山堂：383-385, 2004.
6. 長野 昭：神経麻痺 2. 腕神経叢損傷. 岩本幸英（編）神中整形外科学 下巻 改訂22版 南山堂：385-391, 2004.
7. 長野 昭：神経麻痺 3. 分娩麻痺. 岩本幸英（編）神中整形外科学 下巻 改訂22版 南山堂：391-394, 2004.
8. 長野 昭：神経麻痺 4. リュックサック麻痺. 岩本幸英（編）神中整形外科学 下巻 改訂22版 南山堂：394-395, 2004.
9. 長野 昭：神経痛性筋萎縮症. 岩本幸英（編）神中整形外科学 下巻 改訂22版 南山堂：399, 2004.
10. 山崎 薫：骨軟化症. 山口 徹他（編）今日の治療指針2004 医学書院：741-742, 2004.
11. 山崎 薫：骨粗鬆症. 越智隆弘他（編）NEW MOOK整形外科 No. 16高齢者の整形外科 金原出版：145-150, 2004.

(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. Takahashi M., Nishihara A., Ohishi T., Shiga K., Yamamoto K., Nagano A. : Arthroscopic resection of an intra-articular osteochondroma of the knee in the patient with multiple osteochondromatosis. *Arthroscopy* 20(6) : 28-31, 2004.
2. 阿部雅志, 高橋正哲, 伊藤義章, 天野秀介, 長野 昭 : 外側輪状半月板の1例. *整形外科*55 (7) : 801-803, 2004.
3. 長谷川智彦, 村田英之, 高橋正哲, 山梨晃裕, 大和 雄, 船橋伸司, 長野 昭, 小山新太郎, 北澤 晃 : 背部皮下膿瘍を伴った胸椎カリエスの治療経験. *東海脊椎外科*18 (1) : 64-67, 2004.
4. 小林 祥, 金 洪海, 内藤健一, 美崎朋子, 長野 昭 : 家族内発症した大腿骨頭すべり症の2例. *中部整災誌*47 (2) : 361-362, 2004.
5. 美崎朋子, 山崎 薫, 星野裕信 : 末期変形性股関節症に対する関節開大術の1例. *Hip Joint* 30 : 651-655, 2004.
6. 宮城道人, 美崎朋子, 星野裕信, 山崎 薫, 長野 昭 : 関節強直を呈した股関節滑膜軟骨腫症の1例. *整形外科*55 (3) : 313-315, 2004.
7. 三浦智彦, 村田英之, 長野 昭 : 第4頸椎に発生した好酸球性肉芽腫の1例. *臨整外*39 (7) : 997-1000, 2004.
8. 村田英之, 高橋正哲, 山梨晃裕, 大和 雄, 長谷川智彦, 藤田倫匡, 長野 昭 : イリザロフ脊椎創外固定を併用した第1腰椎破裂骨折の治療経験. *東海脊椎外科*18 (1) : 96-98, 2004.
9. 鈴木基裕, 影山康德, 市川哲也, 永房鉄之, 鳥養栄治, 長野 昭 : 人工膝関節置換術後14年時に脱臼を繰り返し再置換術を施行した1例. *中部リウマチ*35 (1) : 54-55, 2004.
10. 鈴木大介, 金 洪海, 内藤健一, 長野 昭, 船橋伸司 : 膝蓋靭帯皮下断裂に対する手術の小工夫. *中部整災誌*47 (2) : 343-344, 2004.
11. 鈴木太郎, 村田英之, 高橋正哲, 山梨晃裕, 長野 昭 : 水頭症を合併した頸髄神経鞘腫の1例. *臨整外*36 (6) : 879-882, 2004.

インパクトファクターの小計 [1.62]

4 特許等の出願状況

	平成16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16年度
(1) 文部科学省科学研究費	1件 (70万円)
(2) 厚生科学研究費	0件 (0万円)
(3) 他政府機関による研究助成	0件 (0万円)
(4) 財団助成金	0件 (0万円)
(5) 受託研究または共同研究	4件 (69.4万円)

(6) 奨学寄附金その他（民間より）	13件 （693.5万円）
--------------------	---------------

(1) 文部科学省科学研究費

星野裕信（代表者）若手研究（B）「ビデオマイクロスコープによる破骨細胞の酸分泌機能解析」
70万円（継続）

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	0件
(5) 学会役員等回数	0件	9件
(6) 一般演題発表数	3件	

(1) 国際学会等開催・参加

5) 一般発表

口頭発表

1. Omura T., Nagano A., Ogihara H., Sano M., Nishimura Y., Shiga K., Sawada T., Suzuki S. : Brachial plexus injury caused by air bag deployment in children. XIV International Symposium on Brachial Plexus Surgery, October 2004, Brescia, Italy
2. Omura T., Omura K., Sano M., Nagano A. : Spatiotemporal quantification of macrophage invasion after crush nerve injury utilizing immunohistochemistry. 4th Combined Meeting of the American Society for Surgery of the Hand and Japanese Society for Surgery of the Hand. March 2005, Hawaii, America

ポスター発表

1. Sawada T., Sano M., Ogihara H., Nagano A. : Relationship between preoperative clinical findings, operative findings and postoperative neurological complications in schwannomas. 4th Combined Meeting of the American Society for Surgery of the Hand and Japanese Society for Surgery of the Hand. March 2005, Hawaii, America

(2) 国内学会の開催・参加

3) シンポジウム発表

山崎 薫：骨密度と骨折リスク。第19回日本整形外科学会基礎学術集会, 10月, 東京

4) 座長をした学会名

長野 昭 第47回日本手の外科学会

長野 昭 第32回日本リウマチ関節外科学会

長野 昭 第19回日本整形外科学会基礎学術集会
 長野 昭 第103回中部日本整形外科災害外科学会
 長野 昭 第5回アジア太平洋手の外科学会
 長野 昭 第15回日本小児整形外科学会
 長野 昭 第17回日本肘関節学会
 山崎 薫 第6回日本骨粗鬆症学会

(3) 役職についている国際・国内学会名とその役割

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 日本末梢神経学会 理事
 長野 昭 日本肘関節学会 副理事長
 山崎 薫 中部日本整形外科災害外科学会 評議員
 山崎 薫 日本骨粗鬆症学会 評議員
 山崎 薫 日本骨形態計測学会 評議員
 高橋正哲 日本軟骨代謝学会 評議員

8 学術雑誌の編集への貢献

	国内	外国
学術雑誌編集数（レフリース数は除く）	0件	0件

(3) 国内外の英文雑誌のレフリース

長野 昭, Journal of Orthopaedic Science 6回（日本）
 高橋正哲, Archives of Physical Medicine and Rehabilitation（米国）
 高橋正哲, Clinical Orthopaedics and Related Research（米国）

9 共同研究の実施状況

	平成16年度
(1) 国際共同研究	0件
(2) 国内共同研究	4件
(3) 学内共同研究	1件

(2) 国内共同研究

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
 富士レビオ株式会社 骨代謝マーカーの臨床的意義に関する研究
 大谷隆彦（同志社大学工学部）皮質骨の超音波特性
 田村 裕（関西大学工学部） β -キチンを担体とした軟骨細胞及び骨髄間葉系幹細胞の培養、および生体への移植

(3) 学内共同研究

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16年度
産学共同研究	0件

12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

1. 変形性膝関節症に対する鏡視下Microfracture を併用した高位脛骨骨切り術－Second-look による再生軟骨様組織の検討－

変形性膝関節症に対し、高位脛骨骨切り術が行われている。また、軟骨欠損に対する手術法に microfracture 法があり、これはSteadman が1980年代に始め、現在までに2,000例以上に行っている。我々は、変形性膝関節症に対し、症例を選んで鏡視下 microfracture と高位脛骨骨切り術を行っているが、プレート抜釘時に second-look arthroscopy にて軟骨再生状態を検討した。内側型変形性膝関節症に対し、MF+HTOを行った10例12膝のうち、Second-look を行った 5 例 5 膝（平均61歳）を対象とした。鏡視下に軟骨Outerbridge (OB) 分類 grade IVにMFを行い、症例により半月板切除、滑膜切除、後内側解離を追加した後、HTOを行った。術後1年で抜釘とSecond-look を行った。臨床評価として術前後のROM、膝JOA点数、FTAを、軟骨評価として大腿骨内顆 (F)、脛骨内顆 (T) 別に、術前のOB分類、術後MF部の軟骨組織の被覆率 (%), また軟骨性状を悪い方から良い方へgrade 0・4の5段階に独自に分類し、評価した。ROMは伸展が術前平均-7° から0° に、屈曲が133° から137° に、JOA点数は術前平均60点が89点に、FTAは術前平均182° が術後167° であった。術前のOB分類は、FがIV、TがIIIが1例、F、TともIVが4例であった。軟骨組織の被覆率はFで平均94.9%、Tで91.8%であった。性状はFで平均 grade 2.6、Tで1.8であった。本手術法による軟骨組織再生は良好であったが、大腿骨側に比べ脛骨側で劣っていた。

(高橋正哲, 鈴木大介, 阿部雅志, 土井光人, 長野 昭)

2. 関節リウマチにおける光線力学療法応用のための基礎的研究

本研究は光線力学療法（フォトダイナミックセラピー）(PDT) を関節リウマチ (RA) 患者治療へ臨床応用するための基礎的データを得ることことを目標としている。方法として光センシタイザーのATX-S10 (Na) を使用し、in vitro の実験ではRAと変形性膝関節症患者の培養滑膜細胞を用い、in vivo の実験ではRAの関節炎モデルマウス（コラーゲン関節炎）におけるPDTの効果とメカニズムを検討した。

- ①RA培養滑膜細胞は変形性膝関節症患者の滑膜よりもATX-S10 (Na) のとりこみが多かった。
- ②培養滑膜細胞にPDTを行った時にアクリジンオレンジとエチジウムブロマイド染色により、核の染色性の変化が生じ、PDTが細胞のネクロシスを誘導する可能性がしめされた。またPDT後にミトコンドリアの膜電位の変化がおこった細胞があり、細胞のアポトーシスの関与も考えられた。
- ③コラーゲン関節炎モデルにおいてはPDT後、関節の腫脹の軽減がみられる場合と足指の壊死を

生じる場合があり、in vivo でもPDTの効果は確認できたが、足指の壊死というPDTの副作用が浮かび上がった。

問題点としては in vitro の実験系ではPDTの効果は認められたが、細胞死のメカニズムとしてネクロシス、アポトーシスのどちらが主役であるか確定できず、さらに別の実験から検索が必要と考えている。また in vivo の実験系でPDT後、足指の壊死を生じる例があり、臨床応用における注意すべき副作用と考え、このメカニズムについてさらに研究を継続している。

(影山康德, 長野 昭) (光量子医学研究センター: 河野英治, 平野 達)

3. 変形性股関節症に対する関節温存手術における術前評価としての股関節鏡の意義

我々は変形性股関節症に対して関節温存手術を計画する際、術前評価および関節内処置の目的で股関節鏡を行っている。今回、関節温存手術の術前評価としての股関節鏡の意義につき検討を行った。対象は変形性股関節症に対して関節温存手術を行った女性患者21例24関節（平均年齢34.8歳）である。手術適応は臨床所見および単純X線像により決定したが、全例術前2~4週間に股関節鏡を行い、Outerbridge の分類を参考にして大腿骨頭および臼蓋側における軟骨面の評価を行った。また関節唇断裂の評価を行い、術後障害となることが予測される断裂関節唇のみ処置を行った。軟骨面の評価では、RAOを施行する計画をたてた18関節において、大腿骨頭荷重部で13例は grade 0, 5例が grade 1であった。臼蓋荷重部では6例が grade 1, 12例が grade 2の所見であった。臼蓋内側では16例が grade 0で、2例のみ grade 1であった。この2例は臼蓋前方も grade 1であったが、臼蓋後方が grade 0であったため、RAOで臼蓋後方が荷重部となるように前方へ回転する計画を行った。Chiari+外反骨切り術の計画をたてた2関節では、大腿骨頭荷重部で grade 2, 大腿骨頭内側で grade 1, 臼蓋荷重部で grade 2であった。今回の検討では、鏡視所見により手術法を変更した症例はなかったが、骨切りに際し臼蓋の回転および大腿骨骨切りの角度決定にその所見を参考にした症例は4例であった。鏡視下処置を行った症例は、L字状断裂した関節唇の部分切除が9関節、バケツ柄断裂した関節唇の部分切除が2関節、変性断裂した関節唇のトリミングが18関節であった。変形性股関節症に対する関節温存手術に際し、術前に股関節鏡を行うことにより、障害となることが予測される断裂関節唇をあらかじめ処置できるとともに、直視下に軟骨の評価を行うことにより、術前計画の補助評価として有用である可能性が見出された。

(星野裕信, 山崎 薫, 長野 昭)

4. ビデオ強化型微分干渉顕微鏡による破骨細胞の動態機能解析

我々は単離成熟破骨細胞をリン酸カルシウムコートしたカバースリップ上で培養し、ビデオ強化型微分干渉顕微鏡 (VEC-DIC) を用いて、破骨細胞の超微小形態の変化をリアルタイムに評価する手法を確立した。活発に骨吸収を行っている破骨細胞内では、核は偏在し、酸分泌を示唆すると思われる多数の空胞が出現することを確認できた。またビデオマイクロスコーピーの手法を用いることにより、破骨細胞がリン酸カルシウムを吸収する様子を高解像度で動画記録できた。それにより破骨細胞の骨吸収能における新しい知見が得られた。方法は、2-8日齢の日本白色家兔の四肢長管骨より単離した成熟破骨細胞をリン酸カルシウムをコートしたカバーガラス上で培養し、100倍対物レンズを使用したビデオ強化型微分干渉顕微鏡にて、タイムラプス撮影（3秒間隔、

60分間)を行った。これが破骨細胞であることは免疫染色法により確認した。その結果、破骨細胞の細胞底面の波状縁と考えられる突起が活発に動き、徐々に吸収窩を形成する様子が観察され、また細胞辺縁部の偽足様突起がコートされたリン酸カルシウムを機械的に破壊する様子が記録できた。これを画像解析することにより、破骨細胞活性を定量化する手法を確立できた。これまで破骨細胞による骨のミネラル成分の溶解は酸による溶解(化学的骨破壊)のみ論じられてきたが、波状縁または偽足様突起による機械的作用(物理的骨破壊)も関与していることが推察された。また、破骨細胞の活性を高めるためにヒスタミン刺激を行った結果、破骨細胞がより活発に吸収窩を形成する様子が観察され、ヒスタミン非刺激群と比較して、有意に吸収窩形成速度が上昇していた。この手法を用いれば、骨吸収に影響を与える薬物の影響を分子レベルでリアルタイムに定量評価可能になると思われる。

(永房鉄之, 星野裕信, 長野 昭)

5. Seddon 分類に基づいた neuromuscular system における neurotrophic factor 発現の検討

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。昨年我々の坐骨神経急性圧迫において、neurapraxia モデルを作成した。今回、我々は坐骨神経を用いた Seddon 分類に基づくモデルを用い neurotrophic family である Brain derived nerve growth factor (BDNF), Neurotrophin-3 (NT-3), Neurotrophin-4 (NT-4) 遺伝子, 蛋白の経時的变化を支配筋, および坐骨神経において調べ、支配筋より神経損傷の病態予測が可能かを検討した。

BDNF mRNA は neurotmesis において損傷後より常に増加傾向を示し、1週目より有意に上昇し損傷後2, 4週ではコントロール群の約10倍であった。一方 axonotmesis では損傷後2週で5倍と上昇するも4週では低下した。蛋白発現も同様な結果をとり、neurotmesis では損傷後4週でコントロール群と比べ約25倍であった。遺伝子, 蛋白発現とも臨床的に損傷病態が予測困難な損傷後2週で neurotmesis は他の群と比べ、有意に高値を示した。

NT-3 mRNA は 3 群ともに有意な変化は見られない。蛋白発現は Waller 変性が生じる neurotmesis axonotmesis で損傷後4・14日に有意に低下した。

NT-4 mRNA は neurotmesis において損傷後4日より14日まで有意に低下する。一方 axonotmesis, neurapraxia では有意な発現の低下が見られない。遺伝子発現とも臨床的に損傷病態が予測困難な損傷後1, 2週で neurotmesis は他の群と比べ、有意に低値を示した。蛋白は損傷後14日で3群とも有意な低下を示し、なかでも neurotmesis はわずかに検出できるのみであり、axonotmesis より有意に低値であった。

以上の結果より、支配筋の neurotrophic factor 遺伝子, 蛋白発現により神経損傷の病態が予測可能であることが示唆された。(Journal of peripheral nervous systemにaccept 済み)

(大村威夫, 佐野倫生, 長谷川智彦, 澤田智一, 長野 昭)

6. 坐骨神経切断後の後根神経節における palladin とその新規結合蛋白の発現変化の検討

Palladin は細胞内のストレスファイバーに存在し, α -actin と結合することにより, actin 細胞骨格の維持に関わっている。神経系においては, 培養大脳皮質神経細胞を用いた検討で, palladin は軸索の growth cone に豊富に存在し, その発現抑制により neurite outgrowth が阻害され, 軸索

伸展に重要な役割を持つと考えられている。しかし、palladin の in vivo での発現については十分に調査されていない。今回われわれは、末梢神経損傷後における後根神経節内での palladin mRNA発現変化を、その新規結合蛋白の同定とともに調査、検討した。150-170g, wistar 種雄性ラットの坐骨神経を切断し、各群 3 匹ずつ 3, 24時間, 3, 7, 14, 28日の時点でL4, 5 後根神経節を採取し、mRNAを抽出、real-time PCRを用いて半定量的に発現量を測定し、経時的な変化を調査した。また、後根神経節内の mRNA発現局在を in situ hybridization を行い検討した。さらに機能の推察を行なう為、yeast two hybrid 法を用いて palladin の新規結合蛋白を同定し、その蛋白についても同様の発現変化の検討を行なった。Palladin の新規結合蛋白としてPDZ domain を持つ蛋白を同定した。palladin mRNA発現は坐骨神経切断後3日の時点より増加し、2週まで高値であった。結合蛋白においても、坐骨神経切断後の後根神経節で mRNA発現は増加し、切断後3日の時点で control の約4倍となった。培養細胞を用いた検討では、palladin は神経細胞の軸索伸展に必要であるとの報告がなされている。今回の結果より、神経損傷後に palladin とPDZ domain 蛋白の mRNAは増加しており、生体内でも同様に軸索再生に関与する可能性が示唆された。

(長谷川智彦, 大野浩司, 佐野倫生, 大村威夫, 澤田智一, 船橋伸司, 佐藤康二, 長野 昭)

7. 超音波法による皮質骨の評価

現在、超音波を用いた骨評価装置が用いられているが海綿骨を対象とすることがほとんどである。皮質骨に対する研究はあまりなされておらず、超音波特性や分布はまだまだ不明な点が多い。そこでヒトおよび牛の大腿骨皮質骨を用いて皮質骨各部位の縦波超音波音速、密度、BMDを測定した。また試料の一部より硬組織研磨標本を作成し微細組織の評価をおこなった。

ヒト大腿骨頸部では密度、BMDと音速は相関を示した。また音速は微細組織標本の間隙率や間隙の大きさに相関関係があった。年齢や性別と音速には関連性がみられなかった。牛では音速に異方性が見られ、部位によりそれぞれ特徴がみられた。微細組織による音速の違いとして、ハバース構造において層状構造より長軸方向の音速は低値であったが、半径方向では同等の値を示した。またハバース構造群の試料の中でも長軸方向に強い配向があるものと円周方向にあるものの二群が存在していることがわかった。微細構造はほぼ同じでも力学的環境によってコラーゲンや結晶の配向が異なると考えられた。

(大和 雄, 山崎 薫, 大谷隆彦¹, 松川真美¹, 長野 昭)¹同志社大学工学部

8. 末梢神経再生過程に対するBNBの破綻後に遊走・進入する炎症細胞とサイトカインの関与の検討

神経再生には種々の細胞および栄養因子、サイトカイン、接着因子、伝達物質などが複雑に関与している。我々は昨年度までに末梢神経損傷後における血液?神経関門 (BNB) の破綻、およびBNBの破綻後に遊走・進入する炎症性細胞について検討してきた。今回、我々は遊走・進入する炎症性細胞と、マクロファージに対し多くの阻害効果を持つとされる抗炎症サイトカインであるIL10の関与を検討した。

雌SD系ラットを用いて坐骨神経圧挫モデルを作製し、損傷後 1, 3, 7, 14, 21, 28, 56日に圧挫部から末梢35mmを採取し、凍結横断切片を作製した。抗IL10抗体を用い免疫組織化学染色を行

い、各部位のIL10陽性細胞を計測し、spatio-temporal に比較検討を行った。IL10は損傷後翌日に末梢で一旦減少後7日で一斉に増加し、損傷後7・21日高値を維持した。以降中枢より徐々に減少し、56日では有意差はなくなった。

BNBは血中物質の神経組織内への物資移行を制御し、神経内環境の恒常性を維持している。末梢神経損傷後、軸索の変性に伴いBNBは一斉に破綻し、中枢部より14日から徐々に回復する。それに伴い recruit macrophage は損傷後3日に末梢全ての部分でみられ、14日に最大となり徐々に減少したが、56日後も存在していた。IL10は recruit macrophage にやや遅れて増加を示し、macrophage 減少後も引き続き高値を示す傾向がみられ、神経内の炎症性細胞に対する抑制機能が示唆された。

(澤田智一, 佐野倫生, 大村威夫, 大村久美子, 長谷川智彦, 長野 昭)

9. β キチンを担体とした軟骨細胞及び骨髄間葉系幹細胞の培養、および生体への移植

関節軟骨は、損傷を受けると自然には治癒しにくい修復能力の乏しい組織である。部分欠損の場合、欠損した周囲の軟骨細胞が増殖するがこの反応はわずかであり、十分には修復されない。全層欠損の場合は骨髄から出血が生じ、骨髄中の軟骨前駆細胞が損傷部に遊走し、そこで軟骨細胞へ分化し、周囲に軟骨基質を産生することにより欠損部が修復されることがある。しかし、この再生軟骨は線維軟骨であり、正常軟骨のような硝子軟骨ではない。さらに、全層欠損でも広範囲になると欠損部位全体は軟骨基質で満たされない。

現在、臨床的に広く行われている手術は、骨髄から出血を促し、軟骨前駆細胞とその細胞が軟骨細胞に分化した後に産生される基質で欠損部を満たす方法である。前述のとおり、この再生軟骨は線維軟骨であり、また広範囲欠損に対しては限界がある。このような背景から、自家軟骨細胞培養移植の研究が進み、海外ではシステムが確立され、良好な成績を納めている。国内でも研究が進められ、治験実施が認下されたところであり、今後この修復方法が広まっていく可能性がある。

軟骨細胞を培養する担体は、一般的にはゲル状のコラーゲンが主に使用されている。我々は、生体吸収性材料であるキチンに着目し、その中でも化学反応性に優れた β キチンを用いることとした。平成15年までの我々の研究から β キチンは担体として軟骨細胞に適した素材であることが確認された。また、組織修復能があるということも他分野で証明されてきている。我々が考案し、研究中である方法は、ペーパーシート状での単層培養をした後に重層にし、三次元構造を作るという方法で従来の三次元培養と比較して増殖に有利で広範囲軟骨欠損に対しても対応が可能になる方法であると考えられる。

また、他の改良点として、骨髄間葉系幹細胞は軟骨細胞よりも簡便な手技で侵襲も少なく多くの細胞が採取でき、細胞の増殖能は軟骨細胞よりも高く、かつ軟骨への分化が可能であるため、広範囲軟骨欠損に対して有用であるため、これも用いる予定である。

(鈴木大介, 阿部雅志, 高橋正哲, 長野 昭)