

整形外科

1 構成員

	平成21年3月31日現在
教授	1人
准教授	1人
講師（うち病院籍）	2人（2人）
助教（うち病院籍）	4人（2人）
助手（うち病院籍）	0人（0人）
特任教員（特任教授，准教授，特任助教を含む）	0人
医員	2人
研修医	2人
特任研究員	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）	2人
合 計	20人

2 教員の異動状況

長野 昭（教授）	（H10. 5. 1～現職 H21. 3. 31退職）
山崎 薫（准教授）	（H4. 1. 1助手，H13. 10. 1講師，H18. 5. 1助教，H19. 4. 1～現職）
高橋 正哲（講師）	（H10. 2. 1助手，H18. 4. 1講師～現職）
星野 裕信（講師）	（H11. 1. 1助手，H18. 4. 1助教，H21. 1. 1～現職）
鈴木 基裕（助教）	（H21. 1. 1～現職）
西村 行秀（助教）	（H19. 7. 1～現職）
長谷川智彦（助教）	（H18. 4. 1医員，H18. 7. 1助手，H19. 4. 1助教～現職）
澤田 智一（助教）	（H20. 4. 1助教～現職）
安田 達也（医員）	（H20. 10. 1～現職）
古橋 亮典（医員）	（H20. 10. 1～現職）

3 研究業績

数字は小数2位まで。

	平成20年度
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	25編（10編）
そのインパクトファクターの合計	17.40
(2) 論文形式のプロシーディングズ数	0編

(3) 総説数 (うち邦文のもの)	6編 (6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)	4編 (4編)
(5) 症例報告数 (うち邦文のもの)	6編 (6編)
そのインパクトファクターの合計	17.40

(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) Yamamoto K., Yaoi Y., Yamato Y., Yanagitani T., Matsukawa M., Yamazaki K. : Ultrasonic wave properties in bone axis direction of bovine cortical bone. Jpn J Appl Phys 47(5): 4096-4100, 2008
- (2) Yamato Y., Matsukawa M., Mizukawa H., Yanagitani T., Yamazaki K., Nagano A.: Distribution of hydroxyapatite crystallite orientation and ultrasonic wave velocity in ring-shaped cortical bone of bovine femur. IEEE T Ultrason Ferr 55 (6): 1298-1303, 2008
- (3) Yamato Y., Matsukawa M., Yanagitani T., Yamazaki K., Mizukawa H., Nagano A. : Correlation between hydroxyapatite crystallite orientation and ultrasonic wave velocities in bovine cortical bone. Calcif Tissue Int 82 (2): 162-169, 2008
- (4) Suzuki D., Takahashi M., Abe M., Nagano A. Biochemical study of collagen and its crosslinks in the anterior cruciate ligament and the tissues used as a graft for reconstruction of the anterior cruciate ligament. Connect Tissue Res. 49: 42-7, 2008
- (5) Ohishi T., Takahashi M., Yamanashi A., Suzuki D., Nagano A. Sequential changes of bone metabolism in normal and delayed union of the spine. Clin Orthop Relat Res. 466: 402-10, 2008
- (6) Suzuki D., Takahashi M., Abe M., Sarukawa J., Tamura H, Tokura S, Kurahashi Y, Nagano A. Comparison of various mixtures of beta-chitin and chitosan as a scaffold for three-dimensional culture of rabbit chondrocytes. J Mater Sci Mater Med. 19: 1307-15, 2008.
- (7) Doi M., Takahashi M., Abe M., Suzuki D., Nagano A. Lateral radiographic study of the tibial sagittal insertions of the anteromedial and posterolateral bundles of human anterior cruciate ligament. Knee Surg Sport Tr A 21 Nov Epub ahead of print, 2008
- (8) Kageyama Y., Takahashi M., Torikai E., Nagano A. Reduction of oxidative stress marker levels by anti-TNF-alpha antibody, infliximab, in patients with rheumatoid arthritis. Clin Exp Rheumatol 26: 73-80, 2008
- (9) Kageyama Y., Takahashi M., Nagafusa T., Torikai E., Nagano A. Etanercept reduces the oxidative stress marker levels in patients with rheumatoid arthritis. Rheumatol Int 28: 245-251, 2008
- (10) Torikai E., Kageyama Y., Kohno E, Hirano T, Koide Y, Terakawa S, Nagano A. Photodynamic therapy using talaporfin sodium for synovial membrane from rheumatoid arthritis patients and collagen-induced arthritis rats. Clin Rheumatol 27: 751-61, 2008
- (11) Kageyama Y., Takahashi M., Nagafusa T., Kobayashi H, Nagano A. Reduction of urinary

- levels of pyridinoline and deoxypyridinoline and serum levels of soluble receptor activator of NF-kappaB ligand by etanercept in patients with rheumatoid arthritis. Clin Rheumatol 27: 1093-1101, 2008
- (12) Torikai E, Kageyama Y, Suzuki M, Ichikawa T, Nagano A. Comparison between resection arthroplasty alone and resection arthroplasty with arthrodesis of the first MTP joints for rheumatoid forefoot deformities. Mod Rheumatol 18: 486-491, 2008
- (13) Funahashi S, Hasegawa T, Nagano A, Sato K. Differential expression patterns of messenger RNAs encoding Nogo receptors and their ligands in the rat central nervous system. J Com Neuro 506: 141-160, 2008
- (14) 土井光人, 高橋正哲, 鈴木大介, 猿川潤一郎, 花田 充, 松原隆将, 長野 昭 人工膝関節置換術におけるイメージレスナビゲーションを用いた術中計測による骨切り誤差の検討 膝32(2): 198-202, 2008
- (15) 古橋亮典, 佐野倫生, 大和 雄, 堤 秀樹, 藤原達彦, 本多洋介 上腕骨近位部骨折の下垂位での早期運動療法の成績 静岡整形誌 1(2) 149-152, 2008
- (16) 花田 充, 高橋正哲, 長野 昭, 土井 俊 変形性膝関節症患者における半月板切除術後の単純X線像の変化と臨床像の検討 整形外科59(6) 586-589, 2008
- (17) 花田 充, 星野裕信, 山崎 薫, 長野 昭 大腿骨頸部骨折における転位度とハンソンピンによる骨接合術の適応に関する検討 中部整災誌51(4) 749-750, 2008
- (18) 影山康徳, 高橋正哲, 鳥養栄治, 鈴木基裕, 市川哲也, 長野 昭 RA患者に対するメソトレキセート投与の血清・尿中pentosidine値に与える影響 中部リウマチ39(2); 96-97, 2008
- (19) 鳥養栄治, 影山康徳, 高橋正哲, 市川哲也, 長野 昭 関節リウマチ患者に対するメソトレキセートの骨代謝に与える影響 中部リウマチ39(2); 88-89, 2008
- (20) 鳥養栄治, 影山康徳, 河野栄治, 平野 達, 長野 昭 タラポルフィンナトリウム(レザフィリン)を用いた光線力学療法(PDT)の悪性骨軟部腫瘍への応用 日本レーザー医学会誌29(2); 101-105, 2008
- (21) 星野裕信, 山崎 薫, 美崎朋子, 西山真之, 小山博史, 長野 昭 前期・初期股関節症におけるMRIによる骨性臼蓋と関節唇を含めた大腿骨頭被覆度の評価 Hip Joint 34: 517-519, 2008.
- (22) 星野裕信, 山崎 薫, 美崎朋子, 西山真之, 小山博史, 伊藤高規, 長野 昭 K-MAX Q セメントレスステムの中期成績とX線学的評価 日本人工関節学会誌 38: 524-525, 2008.

インパクトファクターの小計 [15.404]

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) Naoki Inui, Noriyuki, Enomoto, Takafumi Suda, Yasunori Kageyama, Hiroshi Watanabe, Kingo Chida Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in lung diseases associated with rheumatoid arthritis. Clin Biochem 41: 1074-1077, 2008
- (2) 松岡文三, 近藤 亮, 中村重敏, 山内克哉, 入澤 寛, 美津島 隆, 高橋正哲, 長野 昭

前十字靭帯再建術後6ヶ月でのスポーツ復帰に関係する因子の検討 東海スポーツ傷害研究会誌 26; 32-34, 2008

インパクトファクターの小計 [2.00]

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) Sasso M., Haat G., Yamato Y., Naili S., Matsukawa M. Dependence of ultrasonic attenuation on bone mass and microstructure in bovine cortical bone. J Biomech 41 (2)347-355, 2008

インパクトファクターの小計 [0.00]

(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) 長野 昭 肋間神経移行術 関節外科 27 (4); 432-437, 2008
- (2) 長野 昭 IV. 肩甲帯・肩・肘関節疾患 2. 肘関節 整形外科 59(7); 764-768, 2008
- (3) 山崎 薫, 大和 雄, 山本和史, 長野 昭, 松川真美, 矢追佑一郎, 柳谷隆彦 骨粗鬆症における骨質—臨床との接点— 超音波による骨質の評価 Osteoporosis Japan 16(3): 17-20, 2008
- (4) 山崎 薫 運動器不安定症の要因としての骨粗鬆症 CLINICAL CALCIUM 18 (11): 24-31, 2008
- (5) 星野裕信 股関節鏡による関節唇損傷の治療 整形・災害外科 51: 427-434, 2008.
- (6) 佐野倫生, 大村威夫, 長野 昭 足根管症候群 整・災外 51(5): 575-579, 2008

インパクトファクターの小計 [0.00]

(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 肘部管症候群 高岸憲二, 三浪明男 (編) 最新整形外科学体系 14 上腕・肘関節・前腕 中山書店 306-310, 2008
- (2) 長野 昭 回内筋症候群 高岸憲二, 三浪明男 (編) 最新整形外科学体系 14 上腕・肘関節・前腕 中山書店 311-312, 2008
- (3) 長野 昭 橈骨神経管症候群 高岸憲二, 三浪明男 (編) 最新整形外科学体系 14 上腕・肘関節・前腕 中山書店 313-316, 2008
- (4) 長野 昭 神経損傷の分類 中村利孝, 吉川秀樹 (編) 最新整形外科学体系1 運動器の生物学と生体力学 中山書店 185-189, 2008

(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) 花田 充, 高橋正哲, 長野 昭 膝内側側副靭帯骨付着部裂離骨折に対しpull-out endobuttonを用いて骨接合術を行った1例 整形外科 59(12)1456-1458, 2008
- (2) 影山康徳, 鳥養栄治, 長野 昭, 櫻井雅和 足舟状骨骨折の2例 東海足と靴の研究会誌 3;

26-27, 2008

- (3) 小林 祥, 長谷川智彦, 高橋正哲, 永房鉄之, 森下浩治, 長野 昭 Crowned dens syndromeの3例 中部整災誌 51(4); 809-810, 2008
- (4) 小山博史, 大石 強, 柳原世津, 長野 昭 断裂, 嵌頓した関節唇により生じた関節内弾発股の1例 中部整災誌 51(6); 1149-1150, 2008
- (5) 安田達也, 清水聡志, 及川道雄, 小山博史, 長野 昭, 村田英之 強直性脊椎炎に腰部脊柱管狭窄症を合併した1例 整形外科59(5); 485-488, 2008

インパクトファクターの小計 [0.00]

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) 藤原達彦, 佐野倫生, 大和 雄, 堤 秀樹, 古橋亮典, 本多洋介 強直性脊椎骨増殖症に胸腰椎の横断性骨折を合併した2例の治療経験. 中部整災誌 51(4)773-774, 2008

インパクトファクターの小計 [0.00]

4 特許等の出願状況

	平成20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20年度
(1) 文部科学省科学研究費	3件 (230万円)
(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	1件 (15万円)
(4) 財団助成金	1件 (100万円)
(5) 受託研究または共同研究	0件 (0万円)
(6) 奨学寄附金その他 (民間より)	0件 (0万円)

- (1) 文部科学省科学研究費

神経再生過程におけるアクチン細胞骨格形成-CLP36とpalladinの結合-に関する研究など3件

- (3) 他政府機関による研究助成

学術フロンティア [超音波法構造の非破壊診断技術の開発と応用](分担15万円) 代表者 同志社大学工学研究科 片山傳生

- (4) 財団助成金

「運動器の10年」日本委員会 2008 (平成20) 年度「基本大目標達成のためのプロジェクト事業」助成金。静岡県内の中学校における運動器検診体制確立のためのモデル校における運動器検診と講演会, 実技実習会。100万円。

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	1件
(2) シンポジウム発表数	0件	2件
(3) 学会座長回数	0件	3件
(4) 学会開催回数	0件	2件
(5) 学会役員等回数	3件	10件
(6) 一般演題発表数	10件	

(1) 国際学会等開催・参加

5) 一般発表

口頭発表

- (1) Yamamoto K., Yaoi Y., Yamato Y., Yanagitani T., Koizumi T., Matsukawa M., Yamazaki K., Nagano A. Ultrasonic wave properties in the bone axis direction of bovine cortical bone. Acoustics '08 Paris 2008. 6. 30~7.4 Paris, France
- (2) Yaoi Y., Yamamoto K., Koizumi T., Matsukawa M., Yamazaki K., Nagano A. Anisotropy of ultrasonic longitudinal wave in the cortical bone of bovine femur. Acoustics '08 Paris 2008. 6. 30~7.4 Paris, France
- (3) Yamamoto K., Yaoi Y., Grondin J., Grimal Q., Yamato Y., Yanagitani T., Matsukawa M., Laugier P., Yamazaki K., Nagano A. Ultrasonic wave properties in the bone axis direction of human and bovine cortical bone. International Congress on Ultrasonics (ICU) 2009 2009. 1. 11~1.16 Santiago, Chile
- (4) Yaoi Y., Yamamoto K., Yanagitani T., Koizumi T., Matsukawa M., Yamazaki K., Nagano A. Anisotropy of longitudinal wave velocity and HAp orientation in bovine cortical bone. International Congress on Ultrasonics (ICU) 2009 2009. 1. 11~1.16 Santiago, Chile

ポスター発表

- (1) Koizumi T., Yamamoto K., Nagatani Y., Soumiya H., Saeki T., Yaoi Y., Matsukawa M. Propagation of ultrasonic longitudinal wave in the cancellous bone covered by the subchondral bone of bovine femur. 2008 IEEE International Ultrasonics Symposium 2008.11.2~11.5 Beijing, China
- (2) Yaoi Y., Yamamoto K., Koizumi T., Matsukawa M., Yamazaki K., Nagano A. Anisotropy of ultrasonic longitudinal wave in the cortical bone of bovine femur. 2008 IEEE International Ultrasonics Symposium 2008. 11. 2~11. 5 Beijing, China
- (3) Takahashi M., Doi M., Matsubara T., Hanada M., and Nagano A. Lateral radiographic study of the tibial insertions of the anteromedial and posterolateral bundles of human anterior cruciate ligament. Thirteenth Congress of European Society of Sports Traumatology, Knee Surgery, and Arthroscopy. May, 2008, Portugal.
- (4) Matsubara T., Takahashi M., Doi M., Suzuki D., Sarukawa J., Hanada M., Koyama H., Nagano

- A. CT evaluation of graft to bone union and bone tunnel enlargement after anterior cruciate ligament reconstruction with bone-patellar tendon-bone autograft. Thirteenth Congress of European Society of Sports Traumatology, Knee Surgery, and Arthroscopy. May, 2008, Portugal.
- (5) Takahashi M, Miura KT, Honda M, Sarukawa J, Koyama H, Nagano A. Coronal angle of the double bundles of human normal ACL using oblique coronal MR imaging. Thirteenth Congress of European Society of Sports Traumatology, Knee Surgery, and Arthroscopy. May, 2008, Portugal.
- (6) M. Hanada, M. Takahashi, H. Koyama, J. Sarukawa, T. Matsubara, and Nagano A. Relationship between the clinical findings and radiographic grade in Osgood-Schlatter disease. Thirteenth Congress of European Society of Sports Traumatology, Knee Surgery, and Arthroscopy. May, 2008, Portugal.

(2) 国内学会の開催・参加

1) 主催した学会名

20回中部リウマチ学会 2008. 9. 6 浜松市
第26回中部日本手の外科研究会 2009. 1. 31 浜松市

2) 学会における特別講演・招待講演

- (1) 山崎 薫 第10回日本骨粗鬆症学会 骨粗鬆症教育セミナー 骨粗鬆症のスクリーニングと超音波測定 平成20年11月2日 大阪市

3) シンポジウム発表

- (1) 山崎 薫 第10回日本骨粗鬆症学会 シンポジウム QUSの標準化 QUS法におけるSOS値の加齢変化の検証とSOSによる骨折閾値（診断基準）設定の可能性 平成20年11月1日 大阪市
- (2) 山崎 薫 第55回日本臨床検査医学会学術集会 シンポジウム 骨粗鬆症における臨床検査の進歩—超音波骨量測定—の進歩と問題点 平成20年11月28日 名古屋

4) 座長をした学会名

山崎 薫
第23回日本整形外科学会基礎学術集会
第10回日本骨粗鬆症学会
第111回中部日本整形外科災害外科学会

(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 代議員

日本肘関節学会 理事長
 日本手の外科学会 理事
 中部日本整形外科災害外科学会 評議員 など他多数
 山崎 薫
 中部日本整形外科災害外科学会 評議員
 日本骨粗鬆症学会 評議員
 日本骨形態計測学会 評議員
 日本整形外科学会骨粗鬆症委員会 委員
 高橋正哲
 中部日本整形外科災害外科学会 評議員
 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（レフリー数は除く）	0件	0件

(3) 国内外の英文雑誌のレフリー

Clinical Rheumatology (USA) 1回
 Clinical Orthopaedics and Related Research (U.S.A) 1回
 Journal of Chromatography B (NETHERLANDS) 1回
 J Rheumatology (U.S.A) 1回

9 共同研究の実施状況

	平成20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	3件

(2) 国内共同研究

1. 田村 裕 関西大学化学生命工学部 化学・物質工学科 天然高分子化学研究室
再生医用材料としてのβ-キチンを担体とした軟骨細胞及び靭帯細胞の培養，および生体への移植
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. 松川真美 同志社大学生命医科学部 医情報学科 超音波特性に関する研究

(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
 大野浩司，佐藤康二（第一解剖）CLP36とpalladinの結合，神経再生研究
 片山泰一，佐藤康二（第一解剖）脊髄損傷におけるプレセニン-1の解析

10 産学共同研究

	平成20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) 前十字靭帯損傷と再建術に関する研究

前十字靭帯損傷の本邦における発生率は不明だが、米国では年間10万件発生すると言われ、人口比で考えると本邦では年間5万件と推測される。前十字靭帯損傷は保存的治療がなく、手術的治療しかない疾患といえる。新鮮例に装具療法を行っている施設もあるが、どちらかという実験的治療であり、一般的ではない。前十字靭帯機能を再獲得するための治療としては、手術がなく、手術法としては再建術しかない。新鮮例に1次縫合術が試みられているが、これも実験的（研究的）治療段階で終わり一般的にならなかった。前十字靭帯再建術は米国では整形外科手術のうち7番目と多く行われている手術である。最近では、プロゴルファーのタイガー・ウッズが前十字靭帯再建術を受けて話題となった。前十字靭帯再建術の成績は、患者の満足度からみると85%?90%、元のスポーツへの復帰率からみると70%強との報告が多い。現在、治療法として前十字靭帯再建術はほぼ成熟された方法であり、成績も満足すべきものであるが、さらに大きな飛躍を目指すには現在のコンセプトによる再建術では困難である。靭帯を作る線維芽細胞や細胞を封入した生体材料を用いた再生医学的アプローチによる治療法が開発されることが必要である。

我々は、前十字靭帯再建術の治療成績向上のため、いろいろの基礎的研究、臨床的研究を行っている。基礎的研究としては、屍体膝を用いた前十字靭帯の2つの線維束の解剖学的研究や、線維芽細胞とそのscaffoldを用いたtissue engineeringの研究を行っている。臨床的研究としては疫学、症状、理学所見、手術法とその臨床成績に関する研究等を行っている。

2) 変形性関節症に関する基礎的、臨床的研究

変形性関節症は加齢に伴い、軟骨の変性・破壊が生じ、二次的な関節炎が生じ徐々に進行する退行疾患である。本邦においては、レントゲン線上変形性関節症を呈する者が3,000万人、そのうち、症状を有する者が2,000万人と言われ、頻度の高い疾患である。現在、変形性関節症に対する治療は、疼痛、炎症、変形に対し、対処的な保存的加療・手術的加療が行われているが、疾患に対する根本的な治療薬・治療法はない。我々は、変形性関節症の治療成績向上を目指し、基礎的研究と臨床的研究を行っている。基礎的研究としてはバイオマーカーや関節症の病態に関する研究を、臨床研究としては、主に、手術的治療の改善と臨床結果の検討を行っている。

3) Scaffoldとして用いたキトサンコーティングPLA繊維のウサギ前十字靭帯由来線維芽細胞三次元培養における効果

これまでに靭帯組織再生のためのscaffoldとして様々な素材が報告されているが、力学的強度や生体吸収性の問題などから理想的なscaffoldは開発されていない。我々は十分な力学的強度と適度な生体分解速度を有しているポリ乳酸（PLA）繊維に、細胞親和性の高いキトサンをコーティングした繊維を作成し、これをscaffoldとして前十字靭帯（ACL）由来線維芽細胞培養における効果

について検討した。

PLA繊維をアルカリ処理後、キトサン溶液に浸漬することでキトサンコートPLA繊維を作成し、この繊維を組紐化したものをscaffoldとした（PLA-chitosan群）。controlには未処理のPLA繊維を用いた（PLA群）。日本白色家兎のACLを採取し、酵素処理により線維芽細胞を単離した。1.4×10⁷個/mlの細胞をscaffold上に播種し3週間培養した。評価は細胞接着率、増殖細胞数、ハイドロキシプロリン定量とリアルタイムRT-PCRによるI型、III型コラーゲンのmRNA定量による基質産生能および走査電子顕微鏡（SEM）により行った。

その結果、細胞接着率はPLA-chitosan群で有意に高値であった。増殖細胞数は培養後1, 2週で、ハイドロキシプロリン量とI型コラーゲンのmRNAの発現は培養後3週でPLA-chitosan群において有意に高値であった。SEMによる観察では、両群ともに接着した線維芽細胞の増殖に伴い経時的な基質の増殖を認めたが、培養後3週においてPLA-chitosan群ではPLA群よりも豊富な基質産生を認めた。

PLA繊維へのキトサンのコーティングが線維芽細胞の細胞接着性、細胞増殖能及び基質産生能に影響を与えた。キトサンの持つ正電荷およびアミノ基や水酸基は一般的に細胞接着や細胞増殖に有利であると報告されており、本scaffoldは靭帯由来線維芽細胞を用いた靭帯組織再生のscaffoldとして有用であると考えられる。

4) 神経再生におけるTNF α 、IL10の経時的・部位的变化の検討

ラット坐骨神経圧挫モデルを用いて、末梢神経におけるWaller変性と引き起こる神経再生時におけるTNF α 、IL-10の経時的・部位的变化の検討を行った。血液-神経関門（BNB）の検討とあわせて考えると、免疫染色におけるTNF α 陽性細胞数の変化とBNBの変化が同時期、同部位に起きており、TNF α がBNBの変化に深く関わっていることが考えられた。また、IL10の変化はTNF α の変化に先立っておきており、IL-10はTNF α の変化の鍵になっていることが示唆された。

次に、Macrophageをapoptosisに誘導するClodronate Liposomeを使用し、坐骨神経圧挫モデルにおけるMacrophageの神経再生への効果を検討した。Clodronate Liposome腹腔内投与群のMacrophage数はcontrol群と比べ減少する傾向にあったが、全ての部位で有意差が得られなかった。尾静脈内投与群では約1/2~1/3まで減少し、すべての部位において有意差がみられた。

5) 関節リウマチにおける光線力学療法の応用のための基礎的研究]

関節リウマチ（RA）の病像の首座は関節滑膜にあり、RAの治療に滑膜切除術が行われているが、今回、人体への侵襲が比較的少ない治療法である光線力学療法（フォトダイナミックセラピー）（PDT）をRA患者の滑膜切除へ応用することを目指して基礎実験を行った。光感受性物質としてATX-S10（Na）、タラポルフィンナトリウムを使用した時、共にRA培養滑膜細胞におけるPDT効果を認め、RAの動物モデルである滑膜細胞をSCIDマウスに移植した実験系においてもPDT効果を認めた。さらにラットコラーゲン関節炎モデルにおける関節炎発症部位に対するPDTではタラポルフィンナトリウム使用例で関節破壊の抑制効果を認め、本研究の結果よりPDTをRA患者の滑膜切除へ応用できる可能性が示唆された。

6) 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

破骨細胞の運動機能および骨吸収能の定量化に関して、本年度は破骨細胞に受容体を有し、骨吸収抑制作用を有するカルシトニンの存在下に培養を行い、破骨細胞の細胞内構造体の変化、吸収窩形成速度に及ぼす影響を調べた。日本白色家兎の四肢長管骨より単離した破骨細胞と、マウス骨芽細胞と骨髄細胞の共存培養より得られた破骨細胞様細胞の2種類を用い、ビデオ強化型微分干渉顕微鏡(VEC-DIC)システムと位相差培養顕微鏡を用いてリン酸カルシウムコートカバースリップ上で培養を行い、コントロールメEDIUMとカルシトニン添加した後の破骨細胞の細胞内での形態的变化およびリン酸カルシウム基質吸収面積の計測をタイムラプス観察し、DVDメディアに記録後、画像解析を行った。カルシトニン添加群はコントロール群と比較して、カルシトニン添加後に吸収窩形成速度が有意に遅くなった。さらにカルシトニンを添加することにより、細胞内の液胞の形成が保たれているにもかかわらず、吸収窩を形成しなくなった破骨細胞が観察できた。これは破骨細胞自体の活性があるにもかかわらず、リン酸カルシウム面との接着面で吸収が阻害されている可能性を示唆している。

7) 神経再生過程におけるアクチン細胞骨格形成-CLP36とpalladinの結合-

CLP36とその結合蛋白に焦点をあて、両者の結合が神経再生において細胞骨格形成で果たす役割を検討する。具体的には、両者の末梢神経障害後の動態、培養細胞での細胞内動態を知る。また、両蛋白および結合部位の欠損や、結合の阻害が末梢神経再生に与える影響を検討する。

平成20年度研究実施計画に則り、CLP36とpalladin両蛋白の結合の再確認を行った。準備段階で行ったyeast two-hybridの結合証明のみではCLP36とpalladinの生体内での結合を確定しきれないため、新たに購入したPalladin抗体とCLP36蛋白を用いた免疫沈降にて、CLP36とpalladinの結合の再確認を行った。結合の確認は、ラット由来fibroblastより抽出した検体と、ラット脊髄と後根神経節より抽出した検体を用いた。期間内に免疫沈降反応を用いた両者の結合が、神経組織において確認できた。この研究の過程で、palladinには3つ重量をもつ表現型が存在する事が判明した。また、結合部位としてCLP36のPDZ domainだけでなく、PDZ domainとLIM domainの中間部位でも結合する可能性がある事が判明した。結合の確認と平行して、fibroblastにおけるCLP36とpalladinの免疫染色を行い、両者が細胞骨格を形成するactin filament上に存在する事を確認した。また、神経細胞での局在確認として、ラットより後根神経節細胞の抽出、初代培養を行い、この神経節細胞を用いて、神経栄養因子投与下での伸長神経突起先端での同抗体での免疫染色による免疫組織学的検討により、実際に伸長していく神経突起先端において両者の局在が認められる事を確認した。

8) 脊髄損傷におけるプレセニン-1の解析

細胞外から細胞内への情報伝達経路として、regulated intramembrane proteolysis (RIP) によるシグナル伝達が注目されている。RIPは発生や分化、細胞接着などに重要な機能を持ち、RIPの制御による悪性腫瘍や関節リウマチ、アルツハイマー病の治療が試られている。RIPでは γ セクレターゼ(γ -sec)という複合体酵素により膜蛋白が切断され、その断片が遺伝子発現を制御する。プレセニン1(PS1)は γ -secの活性中心を担い、PS1の変異により脳や脊髄の萎縮をきたし瘵性

対麻痺を呈することが分かっている。しかしPS1の脊髄における生理的意義は十分に研究されていない。そこで、脊髄損傷におけるRIPの関与を明らかにする為、ラット脊髄半切モデルを用いてPS1の発現変化について検討した。そこで、雄性Wistar系ラット（7週齢）の第8胸椎の椎弓切除を行い、脊髄の右側を半切した。切断後1, 3, 7, 14日に切断部を回収しウエスタンブロット法（WB）を行い、また各脊髄の切断部の冠状断面標本を作成し免疫組織化学染色法（IHC）を、抗PS1抗体と抗APP抗体（ γ -secの基質となるアミロイド前駆体蛋白（APP）を認識）を用いて行い、PS1陽性細胞数、APP陽性細胞数を検討した。更にneuron, astrocyte, oligodendrocyte, axonのマーカーとPS1の二重染色を行った。その結果、WBにおいて、PS1は損傷後1, 3日に切断側で有意に増加していた。またIHCでは切断側の頭尾側1, 2mmの部位で有意にPS1の発現が増加していた。二重染色ではPS1とAPPは損傷側白質のaxonに共局在していた。今回の結果よりPS1がAPPと脊髄損傷部に共局在を示し、同様の発現上昇傾向が見られたことは、RIPによるシグナル伝達が脊髄損傷で行われている可能性を示唆された。将来の脊髄再生治療を模索する上でRIPの制御は新たな可能性を与える。