サイクロスポリンを用いたラットの同種肢移植 —神経筋複合体同種移植のモデルとして—

九州大学医学部整形外科

佛 淵 孝 夫・新 井 堅
有 田 親 史・佐 本 信 彦
杉 岡 洋 一

貝原整形外科医院

貝 原 信 紘

Limb Allograft in Rats Immunosuppressed with Cyclosporin —As a neuromuscular composite allograft—

by

Takao Hotokebuchi, Ken Arai, Chikafumi Arita,
Nobuhiko Samoto and Yoichi Sugioka

Department of Orthopedic Surgery, Faculty of Medicine,
Kushu University.

Nobuhiro Kaibara

Kaibara Clinic

As a neuromuscular composite allograft model, limb allografts with Cyclosporin (CS) treatment using three inbred rat strains, Fischer (F344; RT1), Lewis (LEW; RT1) and Brown Norway (BN; RT1) were performed and the neuromuscular composite was examined clinically, histologically and electromyographically. All of the animals were divided into three experimental groups, minor-mismatched allografts (LEW to F344), major-mismatched allografts (BN to F344) and syngrafts (F344 to F344) as controls. The animals of both allograft groups were treated with CS for 16 days. A mild skin rejection was observed in the major-mismatched allograft group about 50 days after operation, however, the rejection was restricted almost to the skin. Reaction to painful stimuli was observed in all of these three groups about 12 to 16 weeks after operation. Histologic examination of the muscles and nerves in the grafted limbs demonstrated normal architecture and good regeneration of the axons. Both muscular contraction and evoked potential were observed by electrical stimuli in all three experimental groups. Our results indicate the possibility of clinical neuromuscular composite allografts with the use of CS as well as other organ transplantation.

はじめに

我々は同種複合組織移植 (Composite tissue allograft; 以下CTAと略す) の実験モデルとしてサイクロスポリンA (以下CS) を用いたラットの同種肢移植を行ってきた。これまでに関節軟骨や成長軟骨について検討し、機能的にも良好であることを報告してき

た。今回はCTAの機能的有用性の解明を目的として、本モデルの神経筋複合体について検討を加えたので報告する。

材料および方法

使用したラットはすべてinbredのFischer (F344; RT1¹), Lewis (LEW; RT1¹), Brown Norway (BN;

RT1ⁿ) の3系, 体重は150g~185gである。手術方法は既報の如く, 右後肢を大腿のほぼ中央で切断した後, 顕微鏡下の血管吻合と神経縫合を行い移植した。

同種移植群として LEW から F344 への minor 群と BN から F344 への major 群を作製した。CS は 25 mg/kg 皮下投与とし, 移植前日より16日間の連続投与した。対照群として F344 による同系移植群を作製した。以上の minor 群, major 群, 同系群の3群について各群それぞれ5頭ずつを16週目と52週目に筋電図検査と組織学的観察に供した。

図1 移植後52週目の major 群の筋組織。正常な構造を示している。

図2 移植後52週目の major 群の神経。鍍銀染色にて axon の再生が認められる。

結 果

1) 皮膚の拒絶反応出現による生着期間と疼痛刺激に対する反応について
同系群と minor 群では52週に至るまで移植肢全体に

拒絶反応を認めなかった。major 群では50±11日目に皮膚に拒絶反応を認めたが移植肢全体の壊死脱落には至らなかった。疼痛刺激に対する反応は3群とも10~12週目ごろより出現した。

2) 病理組織学的観察

16週目と52週目に観察した筋組織は3群とも正常な構築を示し, 拒絶反応を思わせる所見は認めなかった(図1)。鍍銀染色による移植肢下腿中央部の胫骨神経の観察では拒絶反応もなく軸索の染色性も良好であった。このことより3群とも移植された神経への軸索の再生が確認された(図2)。

3) 電気生理学的観察

縫合部より中枢側の坐骨神経より刺激し腓腹筋で記録した。3群とも電気刺激により筋の収縮が観察され誘発電位も認められた。

考 察

1976年 Borel¹⁾ のCS 発見以来世界の移植外科は飛躍的に発展し, 我が国でも臓器移植再開の機運が高まっている。一方, 直接生命にかかわらない筋骨格系の同種移植である CTA の場合使用する免疫抑制剤の副作用が臨床応用の大きな妨げの一つとなっている。その点 CS のような効果的かつ安全性の高い免疫抑制剤の出現は microsurgery の普及と併わせて CTA の臨床応用に道を開こうとしている。

CTA の臨床応用に残された医学的な課題としては, ①効果的かつ安全な免疫学的寛容の成立, ②移植組織の解剖学的・機能的有用性, ③移植片の確保と保存, などが挙げられる。CTA の本来の目的が「失われた運動器の解剖学的欠損のみならず機能的欠損をも補おうとするもの」という点からも機能的有用性の検討が基礎的にも最重要課題の一つとなっている。この問題について我々はこれまでに前述のラットを用いた肢移植モデルを用いて関節や成長軟骨の同種移植が機能的にも有用であることを報告してきた^{2) 3) 4) 5) 6)}。

今回同様のモデルを用いて神経筋複合体の同種移植が免疫学的に可能であるか, さらに可能であるとすれば機能は回復するかについて検討した。病理組織学的観察では神経・筋ともCSにより拒絶反応が抑制され, さらに神経軸索の再生も対照群とした同系移植群同様良好であった。誘発筋電計を用いた電気生理学的検討では, 電気刺激により筋の収縮が観察され誘発電位も

認められた。しかしながら同系移植群においても移植筋の誘発電位は低電位であり自発運動も不十分であった。この実験系では疼痛に対する反応（知覚の回復）に対して運動の回復が不十分であったという結果は臨床の場で経験する事実と一致するように思われる。

したがって今回の結果から四肢近位部での肢移植は臨床的には機能不全を残す可能性が高いことが予想され、あまり良い適応とはならないように思われる。しかしながら手指や四肢末端での移植は機能の回復が期待されることから皮膚に対する拒絶が克服できれば将来的には臨床応用できるものと思われる。

結 語

- 1) 複合組織同種移植のモデルとしてサイクロスポリンを用いたラットの同種肢移植を行い、神経筋複合体について検討した。
- 2) 神経・筋の組織学的観察では同種移植群においても対照群とした同系移植群と同様良好であった。
- 3) 疼痛刺激に対する反応は10～12週ごろより出現したが、活発な足趾の自動運動は対照群と同様52週に

至るまで明確ではなかった。

- 4) 筋電図検査による結果では、電気刺激により筋の収縮が観察され、誘発電位も認められた。

参 考 文 献

- 1) Borel, J.F., et al.: Biological effects of cyclosporin A: a new antilymphocytic agent. *Agents Actions*, 6 : 468-475, 1976.
- 2) 佛淵孝夫他, サイクロスポリンを用いたラットの肢同種移植. *日手会誌* 2 : 21-24, 1985.
- 3) 佛淵孝夫他, サイクロスポリンを用いたラットの同種肢移植—全関節移植のモデルとして—. *整形外科基礎科学* 13 : 326-329, 1986.
- 4) 佛淵孝夫他, サイクロスポリンを用いたラットの同種肢移植—骨成長と成長軟骨の動態について—. *中部整災誌* 9 : 55-57, 1986.
- 5) 佛淵孝夫他, サイクロスポリンを用いたラットの同種肢移植—関節軟骨の autoradiography による検討—. *整形外科と災害外科*, 34 : 1101-1104, 1986.
- 6) 佛淵孝夫他, サイクロスポリンを用いたラットの同種肢移植—Histologic Grading について—. *整形外科と災害外科* 35 : 354-357, 1986.