

## 教育講演 1

## コホート研究の実践：久山町研究

清原 裕

九州大学大学院医学研究院環境医学分野

久山町研究は、1961年に福岡県久山町の地域住民を対象として始まった疫学調査である。その主な目的は、日本人の脳卒中の正確な病型頻度とその死亡率を明らかにするとともに、日本人の脳卒中の要因を解明してそれを疾病の予防につなぐことにあった。そこで、疾病と要因の因果関係を実証するうえで最も精度の高い疫学的手法の一つとされる、前向き追跡(コホート)研究の手法を基本的な研究スタイルとした。この研究は、当時九州大学医学部第二内科(現病態機能内科学)を主宰しておられた勝木司馬之助教授の発案によって開始されたが、1971年から尾前照雄教授、1984年から藤島正敏教授、2001年から飯田三雄教授の4代の教授によって継承されて今日に至っている。この間、研究室の責任者も廣田安夫先生、竹下司恭先生、上田一雄先生、そして私と4代にわたっている。この研究は、死因調査および脳卒中の病型診断の正確性を期すために死亡住民を全例剖検することをめざし、九州大学医学部第一病理(現病理病態学)および第二病理(現形態機能病理学)の全面的な協力を得て開始された。長い研究期間に研究組織は大きくなり、さらに臨床分野では精神科、心療内科、呼吸器科、眼科、予防歯科が、基礎分野では脳神経病理と生体防御医学研究所脳機能制御学(ゲノム)や、九州大学健康科学センター(運動)、中村学園大学(栄養)が参加するようになった。研究課題も多方面に広がり、当初の脳卒中に加え、虚血性心疾患、動脈硬化、老年期認知症、悪性腫瘍(胃癌)、腎疾患、肝疾患、肺疾患、眼科疾患、歯科疾患、高血圧、糖尿病、脂質異常症、肥満(メタボリックシンドローム)、飲酒、喫煙、食事性因子、運動など生活習慣病全体に及ぶようになった。さらに2002年からは、文部科学省のリーディングプロジェクトの指定を受けてゲノム疫学研究が開始されたが、これを契機に他大学・研究施設や民間企業との共同研究も始まっている。この研究が半世紀にわたり継続できた大きな原動力は、九州大学の研究スタッフと久山町住民、そして地元開業医の熱意とお互いの信頼関係である。

## 教育講演 2

## マイクロサージャリー(微小外科)の実際

金谷 文則

琉球大学大学院医学研究科 整形外科学講座

## 1. マイクロサージャリーとは

マイクロサージャリーとは手術用双眼ルーペ(拡大鏡 x 2.5 ~ 6.0)または手術用顕微鏡を用いて行う微少手術である。切断肢再接着は肉眼では不可能であり、整形外科を含む外科医にとってその成功は永年にわたる夢であった。1960年に Jacobson と Suarez によってマイクロサージャリーが初めて紹介され、1962年に Malt と McKhann が初めて少年の右上腕再接着術に成功した。切断指に関しては、1968年本邦の玉井らが世界で初めて母指完全切断の再接着術に成功した。以来、マイクロサージャリーは発展を続け、指尖損傷の再接着術ばかりでなく、自家遊離組織移植による身体欠損部の再建も可能になった。

マイクロサージャリーは主に血管や神経の微少剥離と、血管吻合や神経縫合に用いられる。

## a. microvascular surgery (微小血管外科)

肉眼では吻合が不可能な 1.0mm 以下の血管吻合も手術用顕微鏡を用いて 20 倍以上に拡大すれば高い成功率(鋭利切断では 90% 以上)が得られる。1.0mm の血管は 10-0 ナイロン糸(針 60  $\mu$ m, 糸 20  $\mu$ m)を用いて 6 針で吻合する。

## b. microneural surgery (微小神経外科)

末梢神経の剥離、縫合や神経移植にもマイクロサージャリーは有用であり、顕微鏡により神経束縫合 funicular repair も可能になった。

## 2. 切断肢・指再接着術

上肢では前腕遠位～手関節での切断肢再接着術の機能的回復は良好である。一方、切断部位が近位になるにつれて神経再生に必要な距離が長くなるため感覚や運動の回復は劣り、さらに阻血に弱い筋肉が増えることから機能的回復も劣る。

a. 切断肢・指再接着術の適応：挫滅や汚染が高度な切断肢・指や、長時間の温阻血で再接着中毒症をおこす可能性が高い切断肢は再接着術の対象にならない。一方、指尖損傷を含めて、再接着可能な切断肢・指はすべて再接着術の相対的適応である。

b. 再接着可能時間：切断肢は複合組織であり筋が最も阻血に弱い。筋を含まない切断指は室温で 12 時間、4℃で 24 時間保存可能である。筋を含む切断肢は室温で 6 時間しか保存できないため、可能な限り速やかに再接着可能な医療機関に搬送する。

c. 再接着中毒症 replantation toxemia：長時間(6 時間以上)の温阻血におかれた切断肢を再接着した場合、壊死筋からの代謝産物が体循環に入り、ショックを含む全身状態への悪影響を生じる。これが再接着中毒症であり、再接着術直後の高 K 血症による心停止、代謝性アシドーシス、ミオグロビン血症による腎不全などを生じる。近位切断ほど筋量が多いので重症になりやすい。

3. 術後管理：マイクロサージャリーの成功率にもっとも関与するのは吻合技術であるが，血管吻合の成功率をあげるために有効な術後管理として，十分な水分補給，愛護的な創処置・保温，禁煙，ウロキナーゼ，PGE1 やヘパリンの投与を行う。

4. マイクロサージャリーを用いた再建術・遊離組織移植術

マイクロサージャリーを用いた組織移植術により従来，切断せざる得なかった重度損傷肢や悪性腫瘍切除後の再建が可能になった。

## 教育講演 3

## Collateral Network Concept による脊髄保護

垣花 学

琉球大学大学院医学研究科 麻酔科学講座

胸部下行・胸腹部大動脈瘤に対する手術(人工血管置換術あるいは血管内治療)における術後合併症である虚血性脊髄障害は、ある一定の割合で発生する悲惨な合併症である。これまで、さまざまな対策(脳脊髄液ドレナージ、低体温、補助循環、ラジカスカベンジャー、運動誘発電など)が講じられてきたが、未だに解決していない。

以前は脊髄へ血流を供給するアダムキュービッツ動脈の重要性が論じられてきたが、最近では Griep らの提唱した”Collateral Network Concept”を考慮した脊髄血流温存を実践することが脊髄保護の手段として用いられている。実際、術前に行った MRA や CT アンギオでアダムキュービッツ動脈を術中遮断しても MEP が低下する症例は 30%程度であり、残りの 70%の症例ではアダムキュービッツ動脈よりむしろ側副血行路からの血流が脊髄血流に重要であるということが理解できる。

この Collateral Network Concept を考慮した脊髄保護には、脳脊髄液ドレナージ、遮断中枢側あるいは末梢側の血圧上昇、大動脈分節遮断などが実践されそれなりの効果を上げている。しかし、理論的には、遮断中枢側あるいは末梢側の血圧上昇と同時に脊髄へ血液を供給している血管が拡張することは非常に効率が良いと考えられる。

我々は、ラットならびにマウス大動脈遮断による脊髄虚血モデルと用い、虚血性脊髄障害に対する一酸化窒素(NO)の効果に焦点を当て研究を進めているが、本講演では最新の実験データを提示し、Collateral Network を増強させる可能性について提示したいと考えている。

## 教育講演 4

**Survival and maturation of spinally grafted human stem cells in spinal ischemia-induced spastic rats or naïve immunosuppressed minipig****Osamu Kakinohana**

University of California, San Diego, Neuroregeneration Laboratory, Department of Anesthesiology

Ischemic spinal cord injury in human represents a serious complication associated with transient cross-clamping of the descending thoracic or thoracoabdominal aorta, that is, procedure required to replace aortic aneurysm. The resulting neurological dysfunction is typically presented as paraparesis or fully developed spastic or flaccid paraplegia. Experimental animal studies show that the mechanism associated with the development of ischemic spasticity is primarily the result of selective loss of small and medium sized inhibitory interneurons in ischemic spinal cord segments. In our previous studies we have demonstrated that region specific grafting of human or rat fetal spinal cord neural precursors or human postmitotic hNT neurons leads to significant amelioration of spasticity, corresponding improvement in ambulatory functions, and this functional benefit parallels long term survival and development of putative synapses between grafted cells and persisting neurons of the host. In the present study, we characterize the survival and maturation of human embryonic stem (ES) cell-derived neural precursor cells (NPCs) once grafted into previously ischemia-injured lumbar spinal cord in rat or in naïve immunosuppressed minipig.

Proliferating human ES cell colonies were cultured on mouse fibroblasts and induced to form embryoid bodies. During the nestin positive stage the rosettes were removed, CD184<sup>+</sup>/CD271<sup>-</sup>/CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>+</sup> population of ES-NPCs FACS sorted and cells were expanded in the presence of FGF2. Proliferating NPCs were used for in vivo grafting. SD rats with spinal ischemia or naïve Gottingen-Minnesota minipigs were anesthetized with isoflurane and L2-L5 spinal segment exposed. Animals received 10 bilateral injections of ES-NPCs delivered in 0.5 (rat) or 6  $\mu$ l (pig) of media (15-20,000 cells/injection) into L2-L5 gray matter. Animals were immunosuppressed with Prograf (3->1 mg/kg/day; i.p.). 2 weeks -2 months after cell grafting animals were perfused with 4% PFA. Lumbar transverse sections were stained with a combination of human-specific (hNUMA, HO14, hNSE, hSYN) or non-specific (DCX, MAP2, CHAT, GFAP) antibodies and analyzed with fluorescent microscope.

In the majority of grafted animals, hNUMA<sup>+</sup> grafted cells were identified in targeted intermediate zone or in the ventral horn. At 2-4 weeks after grafting, numerous double labeled hNUMA/DCX immunoreactive neurons were seen with extensive sprouting of DCX<sup>+</sup> processes. At survival intervals longer than 4 weeks, in addition to the presence of DCX<sup>+</sup> neurons, hNSE<sup>+</sup> neurons and expression of hSYN was identified. Some hSYN positive terminals formed putative synapses with host neurons. These initial data show that ES-derived NPCs can represent an effective source of human NPCs to be used in CNS cell-replacement therapies.