

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K11318

研究課題名(和文) 智歯抜歯時に生じた舌神経障害の疼痛を抑制する手技開発

研究課題名(英文) Technical Innovation of Lingual Nerve Reconstruction to Inhibit Allodynia of Lingual Nerve Injury

研究代表者

藤田 茂之(Fujita, Shigeyuki)

和歌山県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：50228996

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：舌神経における神経修復術後に関連する因子を同定するために、我々は舌神経修復術を施行された70人の患者に対して舌神経感覚評価を行い、切除した断端神経腫30標本を対象にシュワン細胞の存在比を評価した。マイクロアレイ解析にて断端神経腫を分析し、遺伝子発現の変化を観察した。舌神経感覚評価と損傷してから手術までの期間との間に有意な差は認められなかった。断端神経腫におけるシュワン細胞の存在比は、損傷から手術までの期間が長い症例において有意に減少した。遺伝子発現解析の結果、20の遺伝子から翻訳されたタンパク質のうち5つのタンパク質は、感覚機能が顕著に回復した患者により多く発現した。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to identify the factors associated with after the microneurosurgery removing traumatic neuroma in lingual nerve. The sample population was 70 patients who underwent microneurosurgery removing traumatic neuroma in lingual nerve. The recovery ratio of lingual nerve sensory was not significantly different in the patients who underwent the microneurosurgery less than 6 months after injury (early cases) than the other patient (late cases). However, the abundance ratio of Schwann cells in the 30 traumatic neuromas was significantly decreased in the late cases compared with early cases. Further, the gene expression changes were analyzed in traumatic neuromas using microarray analysis, and the candidate genes associated with lingual nerve repair was indicated using pathway analysis. The five proteins out of the proteins translated from the 20 genes were more expressed in the traumatic neuroma from the patients whose sensory functions were remarkable recovered.

研究分野：顎顔面外科学

キーワード：舌神経 舌神経修復術 断端神経腫 神経再生 神経再生誘導管

1. 研究開始当初の背景

舌神経は下顎埋伏智歯の舌側を走行しており、下顎埋伏智歯抜歯の際に稀に舌神経を損傷することがある。埋伏智歯抜歯時の舌神経・下歯槽神経損傷率は0.5-0.1%との報告があり、日本では月間46,797件の埋伏智歯症例(厚生労働省ホームページより(2016年6月))が行われており、この統計からみると舌神経損傷は稀ではあるが決して少ない症例ではない。さらに現在の日本人の下顎骨は小さくなってきており、以前の症例と比べ埋伏智歯の抜歯件数は増加し、舌神経損傷のリスクは高くなってきている。末梢神経を損傷した際に、Sunderland分類 度・度の重度の末梢神経障害では、損傷部位から炎症組織や線維組織が侵入し、神経再生を阻害する。正常な神経修復機構では、増殖したシュワン細胞は軸索が末梢受容器に到達することによりミエリン化し減少するが、線維組織が侵入し末梢へ伸長できない末梢神経では、増殖したシュワン細胞はミエリン化することなく、損傷部位の中核側に断端神経腫を形成する。また侵入した炎症誘発性物質や過増殖した疼痛受容器が痛みの知覚伝導路に対して影響を与え、異痛感覚を生じさせると考えられている。

舌神経損傷症例では、知覚・痛覚・温冷覚・味覚の消失、異痛感覚が出現し、患者の日常生活に苦痛をもたらす。舌神経損傷の治療法として、薬物療法や神経ブロック療法、レーザー療法といった保存的療法が用いられるが、Sunderland分類 度・度の末梢神経障害では効果が薄いため、外科的手術が必要となる。さらに、舌神経修復術を行った際には術後の治療予後に強いばらつきが認められており、治療予後に関連する因子の特定や治療成績の向上のために盛んに研究がおこなわれている。しかし、日本での舌神経修復術の複数例に渡った臨床成績の報告は、少ないのが現状である。

2. 研究の目的

損傷を受けた舌神経に著しい変性・断端神経腫が生じたとき、変性した神経を切除し正常な神経断端を縫合する必要がある。我々はこれらの症例に対して、切除した神経断端を吻合後、静脈を被覆し良好な結果を得た。しかし、舌神経修復術後も神経障害性疼痛が残遺する症例もあり、術後の神経回復の程度には、ばらつきが生じる。そこで創部に生じた断端神経腫に特異的に発現するタンパク質を解析し、神経修復術後の回復に関連する因子を同定することを目的とし、神経修復術の治療の向上と患者の苦痛の軽減に役立てる。

3. 研究の方法

和歌山県立医科大学歯科口腔外科にて舌神経修復術を施行した患者を対象に臨床学

的評価を行い、神経修復術時に採取した断端神経腫を解析し形態学的解析を行い、比較検討を行った。

○臨床学的評価

損傷から症状の改善しない症例または異痛感覚を伴う症例で、和歌山県立医科大学歯科口腔外科にて舌神経吻合術を施行した患者70症例を対象とした。手術前、手術後6か月、12か月、24か月と舌神経感覚評価を行った。舌神経感覚評価は定形の用紙[図1]を用いて、VASスケールを用いた生活支障度・自覚症状、SW知覚痛覚テスト、二点識別域検査、味覚検査、冷温覚テスト、Brush-strokeテスト、Tinel's reaction・allodyniaの有無を検査した。術後6か月以内を短期症例、術後6か月以上を長期症例として、ウィルコクソンの符号順位検定を用いて、術後12か月目のFSR(functional sensory recovery)の達成率を比較検討した。FSRは、二点識別域検査と異痛感覚の有無を用いて検査する手法であり、知覚評価で一般的に用いられる評価法である。また、損傷から手術までの期間と術後12か月目の二点識別域検査の結果をピアソンの相関係数を用いて評価した。二点識別域の検査部位は患側の舌尖、舌背、舌縁部とし、二点で接触し識別可能な距離を0mmから20mmまで1mm間隔で測定し、3点の平均値をとった。

舌感覚異常プロトコール

名前 _____ ID _____ 検査日 年 月 日

I 生活支障度

支障なし ←-----→ これ以上ないほど生活に不便を感じている (支障最大)


どのような支障がありますか _____

II 自覚症状

全くない ←-----→ これ以上ないほど異常を感じている

どのような感じがありますか _____

異常と感ずる部位を描いてください



III 検査値

部位	SVMテスト		痛覚		2PD		味覚検査			
	患側 (健側)	スコア	患側 (健側)	スコア	患側 (健側)	スコア	S	N	T	Q
①	()		()		()		患側 (健側)	患側 (健側)	患側 (健側)	患側 (健側)
②	()		()				()	()	()	()
③	()		()				()	()	()	()
	()		()				()	()	()	()
	()		()				()	()	()	()

IV Brush stroke テスト
1) 前方部 2) 後方部

V Tinel's reaction

VI 冷水痛
1) 前方部 2) 後方部
1) 前方部 2) 後方部

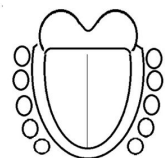


図1: 舌神経感覚評価シート

○ 形態学的評価

和歌山県立医科大学歯科口腔外科にて舌神経吻合術を施行した患者30症例を対象とした。舌神経吻合術の際に損傷部位を含んで

切除された断端神経腫 [図 2] をパラフィンで包埋し、縦断面に切片を作製した。作成した標本はシュワン細胞に特異的な抗 S100 を用いて免疫組織化学を行い、断端神経腫内に存在するシュワン細胞と断端神経腫の面積比率を測定した。損傷から手術までの期間が 6 か月以内の症例を短期症例、6 か月以上の症例を長期症例と分類し、ウィルコクソンの符号順位検定を用いて、断端神経腫内のシュワン細胞の存在率を測定した。

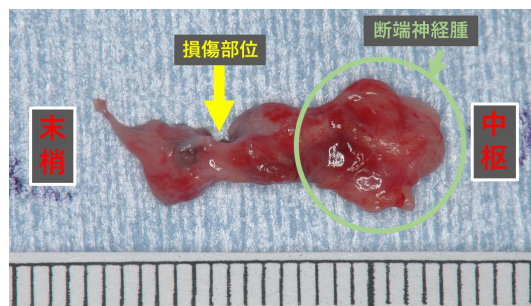


図 2 : 切除した断端神経腫

○ 遺伝子発現解析

・ RNA 抽出、Pathway 解析

舌神経吻合術の際に切除した断端神経腫の一部から 3 症例、コントロール群として 1 症例、合計 4 症例の total RNA を抽出した。断端神経腫から抽出した 3 症例の total RNA は混和した。コントロール群は舌全摘手術の際に採取した舌の腫瘍の反対側にある正常な舌神経の total RNA を抽出した。cDNA マイクロアレイ解析は、Genechip® Human Transcriptome Array 2.0 ; Affymetrix® を用いて行った。コントロール群と比較し、2 倍以上発現量が増加した遺伝子は 211 遺伝子認められた。その 211 遺伝子についてパスウェイ解析を行ったところ、Secreted extracellular protein について、20 種類の遺伝子群が認められた。パスウェイ解析には、DAVID (Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery Bioinformatics Resources 6.8 (<http://david.ncifcrf.gov>)) を使用した。

・免疫組織学的染色、評価

形態学的評価同様、和歌山県立医科大学歯科口腔外科にて舌神経吻合術の際に舌神経断端腫を切除した患者 30 症例を対象とした。手術後 12 か月後の二点識別域評価で、二点識別域検査の結果が 10mm 以下の症例を A グループとし、15mm 以上の症例を B グループとした。形態学的評価と同様に、舌神経吻合術の際に損傷部位を含んで切除された断端神経腫をパラフィンで包埋し、縦断面に切片を作製した。作成した断端神経腫の標本から、A グループと B グループの標本を選出し、得られた遺伝子群 20 種類の抗体を使用し DAB を用いて免疫組織学的に染色し、比較、評価した。

4 . 研究成果

○ 臨床学的評価

対象症例 70 症例のうち、短期症例は 46 例、長期症例 24 例であった。FSR の達成率は、短期症例 38 例 (82.6%) 長期症例 16 例 (75.0%) で明らかに有意な差は認められなかった ($p=0.517$)。

損傷から手術までの期間と術後 1 年目の二点識別域検査の相関関係には、有意な関係は認められなかった (Max=114 month, Mini= 2 month, $R^2= 0.11$, $p= 0.53$)。

○ 形態学的評価

対象症例 30 症例のうち、短期症例 22 例、長期症例 8 例であった。断端神経腫内に存在するシュワン細胞の存在比率は、短期症例 55.30%、長期症例 27.9% と有意な差が認められた ($p=0.02$)。

○ 遺伝子発現解析

・ cDNA マイクロアレイ解析

cDNA マイクロアレイ解析にて舌神経の断端神経腫の RNA サンプルから蛍光強度 100 以上生じる遺伝子を 70,523 個得られた。コントロール群と比較して、2 倍以上発現した遺伝子が 211 遺伝子あり、2 倍以上減少した遺伝子群は 377 遺伝子あった。

・パスウェイ解析の結果 (Table.4)

2 倍以上増加した遺伝子群をパスウェイ解析し、Secreted&Extracellular region のクラスターに分類したところ 20 種の遺伝子が発現増加されていた

・パスウェイ解析で得られたタンパク質 20 種類の免疫組織学的解析 (Fig.6-25)

術後 1 年目の二点識別域検査で 10mm 以下の A グループは 3 症例、15mm 以上の B グループが 4 症例あった。(Table.3) B グループの標本のひとつは断端神経腫内に神経組織を認めなかったため、免疫組織学的検査を除外した。A グループと B グループとで、パスウェイ解析で得られた Secreted extracellular region のクラスターの 20 種の遺伝子に対応する抗体を用いて免疫組織学的染色を行い、比較した。予後のいい A グループと予後の悪い B グループで比較した結果、明らかに免疫組織の染色性に差が生じたタンパク質 5 種類を同定することができた。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 1 件)

藤田茂之、下歯槽神経・舌神経の神経障害に対する診査・診断と外科対応、日本歯科医師会雑誌、査読あり、70 巻 Vol.1、2017、pp.1-5

[学会発表](計 20 件)

藤田茂之：「シンポジウム 智歯抜歯の工夫、神経障害対策」、第 60 回日本口腔外科学会総会、2015 (名古屋)

藤田茂之：「シンポジウム 5 術後三叉神経障害を科学する」第 70 回日本口腔科学会総会、2016 (福岡)

武田侑也、藤田茂之：「下顎智歯抜後に生じた陳旧性舌神経障害（受傷後 8 年経過）症例への外科的修復が有効であった 1 例」、第 69 回日本口腔科学会地方会、2015（大阪）

森恵一、藤田茂之：「長期的な保存治療が奏功しなかった症例に対し外科的治療を施行した医源性舌神経損傷の 3 例」、第 70 回日本口腔科学会総会、2015（名古屋）

中西隆、藤田茂之：「舌神経損傷時に生じた神経吻合術の際に切除する断端神経腫の組織学的評価」、第 70 回日本口腔科学会総会、2016（福岡）

中西隆、藤田茂之：「下顎埋伏智歯抜歯時に生じた舌神経損傷例における断端神経腫の組織学的検討」、第 61 回日本口腔外科学会、2016（千葉）

中西隆、藤田茂之：「舌神経損傷時に生じた神経吻合術の際に切除する断端神経腫の組織学的評価」、第 71 回日本口腔科学会総会、2016（福岡）

藤田茂之：「下顎智歯の抜歯後に舌神経や下歯槽神経障害が生じたらどうしますか」、長崎県歯科医師会、2016（長崎）

藤田茂之：「下顎智歯抜歯後に生じる可能性のある下歯槽神経・舌神経障害への対処法」、高知県歯科医師会、2017（釧路）

Itaru Tojyo, Shigeyuki Fujita: "Iatrogenic lingual nerve injuries: Retrospective study of 82 cases", 7th Annual Conference and Joint Scientific Meeting of Nepalese Association of Oral and Maxillofacial Surgeons and Japanese Society of Oral and Maxillofacial Surgeon, 2017 (Kathmandu, Durbar Marg)

藤田茂之：「三叉神経損傷症例に対して顕微鏡下に神経修復術を施行した 90 例の検討」、大阪医科大学口腔外科学講座同窓会学術研修会、2017（大阪）

藤田茂之：「歯科診療における下歯槽神経および舌神経損傷に対する最善の対処法と再生医療も応用したアプローチを含めた外科的対応の現状」、第 62 回九州歯科大学近畿北陸地区連合会学術研修会、2017（京都）

新谷ゆかり、藤田茂之：「下顎智歯抜歯後における舌神経障害術後の主観的評価と客観的評価の検討」、日本口腔科学会学術集会、2017（松山）

上田眞道、藤田茂之：「下顎智歯抜歯による舌神経損傷後、8 年の長期放置期間にも拘わらず舌神経修復術を施行し Neuropathic Pain が著しく軽減した 2 例」、日本口腔科学会学術集会、2017（松山）

藤田茂之：「三叉神経損傷への対策および医療裁判」、第 58 回日本歯科医療管理学会、2017（北九州）

藤田茂之：「歯科医師が注意すべき歯科診療の偶発症」、紀南歯科医師会学術講習会、

2018（和歌山）

藤田茂之：「歯科医師が注意すべき歯科診療の偶発症」WDSC(Weekend Dental Study Club)、2018（和歌山）

藤田茂之：「舌神経損傷症例の修復術の勘どころ」、福岡歯科大学口腔外科学講座臨床研修会、2018（福岡）

Shigeyuki Fujita, "Sensory Outcome after Reconstruction of Lingual Nerve Discontinuities" The 59th Congress of Korean Association of Oral & Maxillofacial Surgeons, 2018, (Seoul, Korea)

Takashi Nakanishi, Shigeyuki Fujita "Clinical course of lingual nerve injury and factors promoted nerve regeneration in the traumatic neuroma." The 59th Congress of Korean Association of Oral & Maxillofacial Surgeons, 2018, (Seoul, Korea)

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

取得状況（計 0 件）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤田 茂之（Shigeyuki Fujita）
和歌山県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：50228996

(2) 研究分担者

木賀 紀文（Norifumi Kiga）
和歌山県立医科大学・医学部・助教
研究者番号：20625397

東條 格（Itaru Tojyo）
和歌山県立医科大学・医学部・講師
研究者番号：20625397

(4) 研究協力者

中西 隆（Takashi Nakanishi）