

平成 31 年 4 月 27 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K20517

研究課題名(和文) イヌにおける仮骨延長術と人工神経移植を用いた下顎骨の再生

研究課題名(英文) Inferior alveolar nerve regeneration with bifocal distraction osteogenesis and artificial nerve transplantation in dogs.

研究代表者

正元 洋介 (shogen, yosuke)

大阪大学・歯学研究科・招へい教員

研究者番号：80585745

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000 円

研究成果の概要(和文)：以前の報告で、小範囲の下顎欠損に対して仮骨延長術にて骨再建と下歯槽神経の再建を行うことは可能であったが、広範囲の下顎欠損に適応した場合には、神経の再建は困難であった。そこで人工神経移植を併用し、効率的な神経断端間の接合を図り、下歯槽神経を再建する方法を模索した。ビーグル犬に広範な下顎欠損を製作し、仮骨延長術のみと、人工神経移植を併用した仮骨延長術にて下顎骨を再建した2群に分け、回復した下歯槽神経の活動電位、神経トレーサーによる神経の連続性の確認、摘出した下顎骨を組織学的に検索し再生神経の評価を行った。人工神経移植併用群の1頭で再生神経の活動電位が得られ、組織的にも下歯槽神経の再生がみられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

広範な下顎欠損は悪性腫瘍などの術後にしばしば生じ、従来は金属プレートと腓骨などの骨移植による再建が一般的であるが、本来下顎骨に内包される下歯槽神経の再建はあまり行われていない。以前に報告したように下顎骨の再建に仮骨延長術を用いると骨とともに内包する下歯槽神経も再建することが可能であった。神経の再建には従来自家神経移植が広く用いられているが、この方法では採取する神経の支配領域に必ず機能障害が生じる。本研究では仮骨延長術と人工神経移植を併用することで、下顎骨を他組織の負担を伴わず、また神経を内包した本来の形態のまま再建できることができ、患者負担の少ない手術方法の一助になることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In our previous reports, it was possible to perform bone and inferior alveolar nerve reconstruction with distraction osteogenesis for a small mandibular defects, but in the case of wide-ranging mandibular defects, nerve reconstruction was difficult. Therefore, artificial nerve transplantation was used in combination to establish an efficient junction between the nerve stumps.

We made an extensive mandibular defect in beagle dogs and divided two groups, which were reconstructed with only distraction osteogenesis, and with combined distraction osteogenesis and artificial nerve transplantation. The action potential of the recovered nerve was examined, the continuity of the nerve was confirmed by the tracer, and the extracted mandible was examined histologically to evaluate the regenerated nerve. The action potential of the regenerative nerve was obtained in one dog of the artificial nerve transplantation combined group, and regeneration of the inferior alveolar nerve was also.

研究分野：口腔外科

キーワード：下歯槽神経 再生 仮骨延長術 人工神経移植

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19（共通）

1．研究開始当初の背景

下顎骨は多くの筋肉が付着し、複雑な顎運動を行い、咀嚼、嚥下、構音機能に大きな役割を担っている。また、長管骨とは異なり、骨内に下歯槽神経血管束を内包した独特の構造を有する。下歯槽神経は下顎孔より下顎骨内に入り、下歯槽管を経て、オトガイ孔に達し、下口唇オトガイ部の感覚を司っている。また下歯槽管内で多くの枝を分枝し、歯牙や歯肉の感覚を受容している。口腔内感覚は顎運動に密接に関係し、下歯槽神経の感覚受容にて下顎張反射や開口反射といった防御反射が生じる。歯肉癌などで下顎区域切除を行った後にはこれらの下顎の機能は大幅に障害される。骨移植やプレート再建といった従来の再建方法では下顎の外形的な回復は可能であるが、下歯槽神経を内包した下顎骨の本来の構造保った形態と口腔内感覚を回復させることは困難である。研究代表者は以前、イヌを用いて下顎骨区域切除後に仮骨延長術を施行し、下顎骨と同時に下歯槽神経も再建した結果、再生した下歯槽神経は組織的、電気生理学的にも回復し、中枢側までの軸索の連続性があることを明らかにした(Shogen et al. PLOS ONE 2014、Isomura et al. PRSJ 2013、Isomura et al. J Oral Maxillofac Surg 2013)。この結果は仮骨延長術にて自己の残存した下顎の組織のみで小規模な下顎欠損部を下顎骨本来の構造を保ち欠損を回復させること可能性を示唆している。また、実験の中で神経機能の回復には切断した神経断端間の確実な近接が必要であった。

临床上では下顎半側欠損等の広範囲の下顎欠損もしばしば遭遇する。そこで以前の実験結果を臨床応用させるためにも、広範囲の下顎欠損に対して自己の残存した下顎骨と下歯槽神経、神経断端間の確実な近接のために人工神経を用いて再建を行う方法を模索することとした。

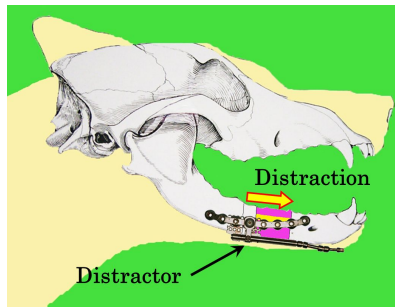
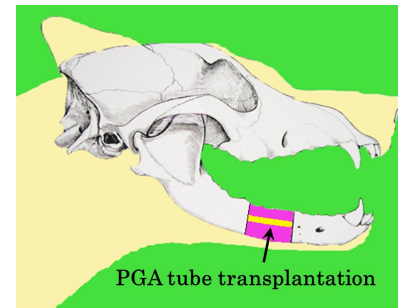
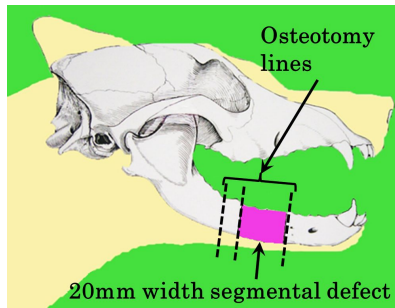
2．研究の目的

上記の背景より、本研究では前研究で行った仮骨延長術に加えて下歯槽神経断端間の人工神経移植を併用し、自家骨や自家神経移植をせずに、より広範囲の下顎欠損を再建できる手術方法を模索する。

3．研究の方法

実験にはイヌ（TOYO ビーグル、体重約 10 kg、24 週齢、オリエンタル酵母株式会社、東京）を 10 頭用いた。無作為に選んだ 5 頭に対し 20mm 幅の下顎欠損を作製し、下歯槽神経断端間に人工神経移植を行った後に仮骨延長術にて下顎欠損の再建を行った。残る 5 頭は仮骨延長術のみにて下顎欠損の再建を行った。そして術後 6 ヶ月後に再生骨の評価と再生神経の機能評価を行った。

下顎再建、仮骨延長器の設置および人工神経移植はミダゾラム、塩酸メドミジン、酒石酸ブトルファノールの筋注、気管挿管による全身麻酔下にて行った。右側を実験側とし、予め上下顎歯牙を犬歯と切歯を残し全て抜歯を行い、下顎骨外側面を剖出し、オトガイ孔の 10mm 後方に近遠心径 20mm 幅で下顎骨を分割離断し下歯槽神経血管束を含めた下顎欠損を製作した。そして欠損部の近位に下歯槽神経血管束を温存して骨分割を行い、移動骨片を製作し、人工神経を移植する群では下歯槽神経断端間に人工神経（PGA コラーゲンチューブ：ナーブリッジ®、東洋紡、大阪）を移植し、チタンプレート、仮骨延長器（ThreadLock Transport Distractor®、KLS Martin、 Tuttlingen、ドイツ）を装着した後、創を縫合閉鎖した。術後創部安静のために仮骨延長が終了するまでエリザベスカラーを装着し、術翌日から仮骨延長終了 1 ヶ月後までペースト食にて食事管理を行った。仮骨延長は術後 1 週間後より開始し、1 mm/日の速度で移動骨片が前方骨に接触するまで行った。



術後 6 ヶ月時に延長器及び固定していたチタンプレートを除去し、以下のように再生した下歯槽神経の機能評価を行った。

オトガイ孔、下顎孔間での電気生理学的検査

全身麻酔下にて再生した下歯槽神経を右側オトガイ孔、下顎孔部にて剖出し、それぞれの部にステンレス製針電極を神経に接するように配置し、電気刺激装置にてオトガイ孔部に電気刺激を加え、下顎孔部の電極にて活動電位を計測した。

オトガイ孔部へ順行性神経トレーサーの HRP を作用させ、三叉神経節への移行を確認する軸索の連続性の検査

の計測の後、オトガイ孔部で再生した下歯槽神経を切断し、その中枢側断端に軸索輸送によって作用点から神経細胞体へ移動する順行性神経トレーサーである HRP (Horseradish Peroxidase、SIGMA ALDRICH、St. Louis、アメリカ) を作用させ、1 週間後の灌流固定の際に、下歯槽神経の神経細胞体が存在する三叉神経節を摘出し、神経細胞内に取り込まれた HRP を TMB (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine、SIGMA ALDRICH、St. Louis、アメリカ) にて可視化し、再生した神経の中枢への連続性を調べた。

灌流固定を行い、摘出標本にて再生神経と再生骨の組織学的検査

の計測、のトレーサーを作用させた 1 週間後に、全身麻酔下にて灌流固定を行いオトガイ孔～下顎孔までの下歯槽神経も含めて下顎骨全体を摘出した。またこの際にの三叉神経節も同時に摘出した。摘出した下顎骨は 60 日間の脱灰の後、パラフィン包埋、薄切切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色並びに免疫染色にて神経線維のマーカである Neurofilament、シュワン細胞のマーカである S-100 タンパクの発現を検索した。

オトガイ孔、下顎孔部の神経の走査型電子顕微鏡での軸索数の観察

当初、の下顎骨摘出の際に行うことを予定していたが、人工神経移植個体で骨の再建と神経再生が十分であった個体が 1 例のみであり、またその個体でもオトガイ孔部の神経再生は希薄であつたため、中止とした。

4．研究成果

人工神経移植を併用した仮骨延長術にて下顎再建を行った 5 例、仮骨延長術のみにて下顎再建を行った 5 例とも術直後、仮骨延長期間、延長終了後に特に感染や延長器の露出等は見られな

かった。しかし、6ヶ月後の評価時には仮骨延長術のみの個体は全て骨形成が少なく（図1）、接合部に動揺をきたしている個体も1例みられた。人工神経移植を併用した仮骨延長術にて下顎再建を行った5個体の内3例は同様に骨形成が少なかったが、残る2例は残存骨とほぼ同等の十分な骨幅を有し回復していた（図2）。



（図1）



（図2）

オトガイ孔、下顎孔間での電気生理学的検査では、人工神経移植を併用した仮骨延長術にて下顎再建を行った個体の1例、仮骨延長術のみにて下顎再建を行った個体の1例にオトガイ孔部での電気刺激に対し下顎孔部での活動電位が観察され、神経機能の回復がみられた。神経機能の回復がみられた人工神経移植を併用して下顎再建を行った個体では骨の形態回復も良好であった。

順行性神経トレーサーである HRP を用いた軸索の連続性の検査では人工神経移植を併用した仮骨延長術にて下顎再建を行った5例、仮骨延長術のみにて下顎再建を行った5例とも三叉神経節内に HRP は検出されなかった。

なお実験代表者の異動により組織学的検索はまだ行えていない。科研の期間は終了しているが、さらに実験を継続し、今後明らかにし、論文や発表をもって代えたいと考える。

広範な下顎欠損に対し人工神経移植を併用した仮骨延長術にて再建を行うことは仮骨延長術単独で再建する場合と比べて骨の形態回復は良好であったが、神経機能の回復はどちらの方法でも十分とは言えなかった。神経は一度切断されると末梢側は変性、消失し（ワラー変性）、中枢側の断端から徐々に伸長する独特の再生様式をとる。このため神経の切断部が中枢に近いほど一般的に回復率は悪くなる。以前の小範囲の下顎欠損の再建と比べ本実験の方が神経の回復率が低いことは予測されたため、仮骨延長術単独でなく人工神経移植を併用して早期に神経断端間を接合し神経の回復を助長する方法も加えたが、神経再建の結果は芳しくなかった。現時点では同方法で下顎骨、下歯槽神経を再建することは難しく、臨床に応用するにはさらなる手法の変更など検討を要すると考えられる。

5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6．研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：
ローマ字氏名：
所属研究機関名：
部局名：
職名：
研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：中川 記世子
ローマ字氏名：NAKAGAWA, Kiyoko

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。