

令和元年6月24日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20353

研究課題名(和文) マウス腕神経叢神経移行術モデルを用いた末梢神経再生経路全体の三次元的解析

研究課題名(英文) Development of a mouse nerve-transfer model for brachial plexus injury

研究代表者

若槻 華子 (Hanako, Wakatsuki)

新潟大学・医歯学総合病院・医員

研究者番号：20749642

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：マウス腕神経叢の支配髄節がヒトと同等で有り、筋皮神経はC5,6,7、尺骨神経はC8, Th1にその支配中枢を持つことを明らかにした。続いて、マウス腕神経叢を用いて筋皮神経を尺骨神経へ移行する神経移行術モデルの作成に成功した。本モデルを用いて神経移行術後の筋の再支配について電気生理学および組織学的に観察を行った。神経移行術後には、遠心性経路および求心性経路の再生が明らかになり、また再生神経の標的器官である筋の誘発筋電図の測定で活動電位を確認した。また、神経縫合術モデルと神経移行術モデルの比較を行い、神経移行術後と神経縫合術後における神経筋接合部におけるシナプス再生の過程を観察した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

神経移行術とは、損傷した神経が本来支配した筋に対し、異なる神経を切って移動し、その近位断端に元の神経の遠位断端を縫合する方法である。神経移行術後は、支配中枢が異なっても訓練による新たなネットワークが構築され、筋収縮が可能となる。これは、支配神経の可塑性に依存しているが、実際にどのような変化、経路を経るのか明らかにされていない。本研究ではマウス腕神経叢移行術モデルの作成に成功した。本モデルを用いることで神経移行術後の神経回路再編の解明につながると考えている。

研究成果の概要(英文)：To establish a mouse model for ulnar-musculocutaneous nerve transfer, we initially checked the anatomy of the mouse brachial plexus. the musculocutaneous nerve contains motor fibers from the ventral horn of C5 to C7 and sensory fibers from the spinal ganglions of C5 to C7 (Fig. 2A). Conversely, the ulnar nerve originated at the C8 and Th1 levels of the cord. We established an ulnar-musculocutaneous nerve-transfer model for the treatment of brachial plexus injury in mice. In this model, donor ulnar nerve regeneration and re-innervation was electrophysiologically and morphologically confirmed. This model should provide great opportunities to study regeneration, re-innervation and functional recovery induced by nerve transfer procedures, which could lead to new therapeutic methods for function recovery.

研究分野：末梢神経再生

キーワード：再生医学 再建外科学

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

腕神経叢の節前損傷に対する機能再建としての優先順位は肩の外転と肘屈曲である。すなわち、上腕筋と上腕二頭筋の支配神経である筋皮神経に対する神経移行術が有用である。上位型の麻痺の場合に最もよく用いられるのは尺骨神経運動枝の神経束の一部を用いる Oberlin 法 (Oberlin C, et al.: Nerve transfer to biceps muscle using a part of ulnar nerve for C5-C6 avulsion of the brachial plexus: anatomical study and report of four cases. J Hand Surg Am. 19(2):232-7,1994) である。これは、損傷した筋皮神経が本来支配した上腕筋と上腕二頭筋に対し、尺骨神経を切って移動し、その近位断端を尺骨神経の遠位断端に縫合する方法である。この方法で支配中枢が異なっても訓練により肘屈曲が可能となる。この現象は、再生神経の可塑性に依存した効果器官の再支配と考えられるが、そのメカニズムは明らかにされていない。これらを解明するためには、末梢神経の再生経路全長を連続的に観察することが望ましい。ラットに変えてマウス腕神経叢神経移行術モデルを用いることで、その小ささを利用して頸髄・胸髄～腕神経叢～神経縫合部に至る神経回路を連続的に三次元構築し、観察可能と考えた。

2. 研究の目的

腕神経叢の節前損傷に対する肘屈曲機能再建を目的とした神経移行術を行い、良好な結果が得られている。これは、損傷した神経が本来支配した筋に対し、異なる神経を切って移動し、その近位断端を元の神経の遠位断端に縫合する方法である。神経移行術後は、支配中枢が異なっても訓練による新たなネットワーク作り(知)覚再教育によって、肘屈曲が可能となる。これは、支配神経の可塑性に依存しているが、実際にどのような変化、経路を経るのか明らかにされていない。本研究で、神経移行術後の脊髄から末梢神経に至る神経再生経路および再生神経の発芽部位を明らかにすることで、末梢神経の可塑的再生ルート全体を解明する。

3. 研究の方法

8 週齢 C57BL/6J マウスを用いた。1 群は左筋皮神経を切断する、2 群は左筋皮神経を切断し縫合する (神経縫合術群: Nerve repair)、3 群は左筋皮神経、尺骨神経をそれぞれ切断し繋ぎかえる (神経移行術群: Nerve transfer)、コントロール群 (Sham) は右筋皮神経および右上腕二頭筋を使用した (図 1)。各群とも手術後 4 週間または 24 週間飼育を継続し、誘発筋電図の測定を行った。また、上腕二頭筋 α -bungarotoxin (AChR), Neurofilament 200 (Axon), Myosin heavy chain (muscle spindle), DAPI (nucleus) による免疫染色を行い、神経筋接合部および筋紡錘の脱神経または神経再支配の変化を観察した。

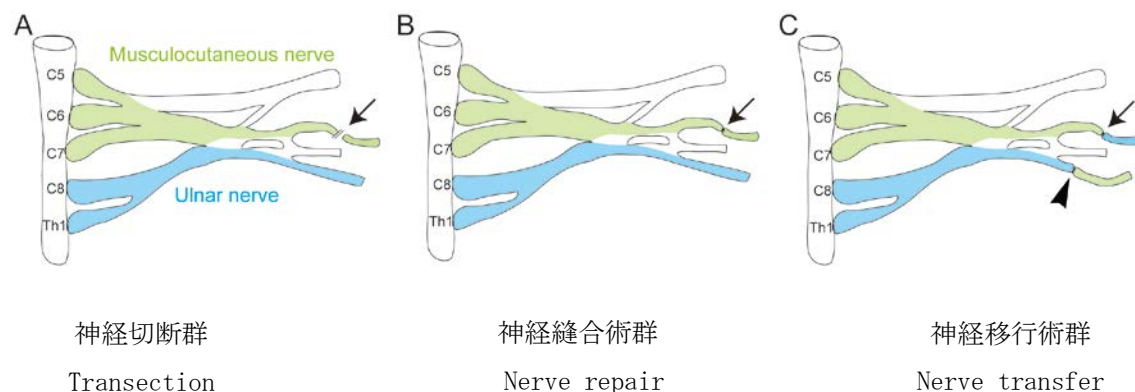


図 1

4. 研究成果

術後 4 週で各群とも神経縫合部より近位の神経刺激により、上腕二頭筋の活動電位を認め (図 2)、組織学的にも神経筋接合部および筋紡錘の再神経化を認めた。術後 4 週および 24 週時に 100 個のアセチルコリンレセプターを確認し、再神経化しているアセチルコリンレセプターと脱神経しているアセチルコリンレセプターの数を比較した。術後 4 週においては、2 群 (神経縫合術群: Nerve repair) では 72 ± 3.06 SE% の再神経化率、3 群 (神経移行術群: Nerve transfer) では 37 ± 2.89 SE% の再神経化率であった。術後 24 週においては、2 群 (神経縫合術群: Nerve repair) では 97 ± 1.73 SE% の再神経化率、3 群 (神経移行術群: Nerve transfer) では 93 ± 1.15 SE% の再神経化率であった。つまり、術後 4 週での神経筋接合部の再神経化については 2 群では 3 群に比べ再神経化した神経筋接合部数が有意に多かったが、術後 24 週経過した 2, 3 群においては有意な差はなかった (図 3)。神経移行術では神経縫合術に比してより長い治療期間を要することが明らかとなった。

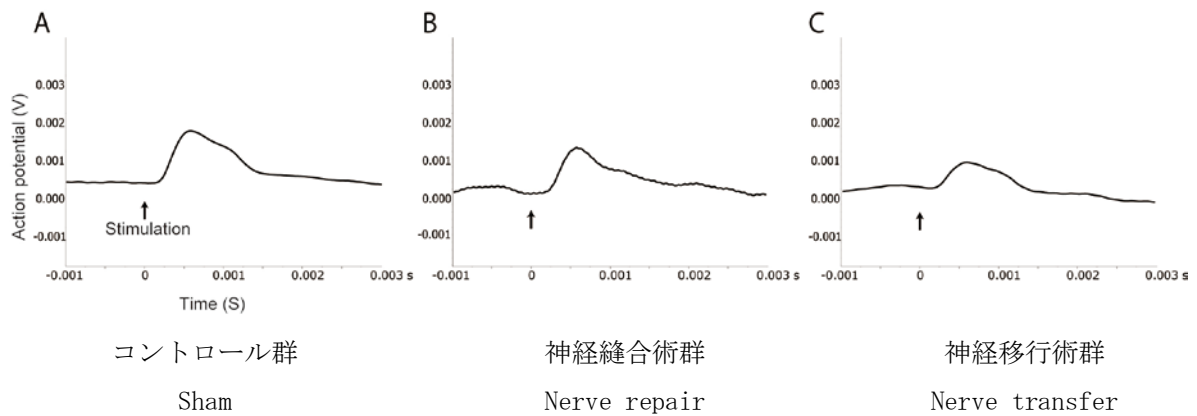


図 2

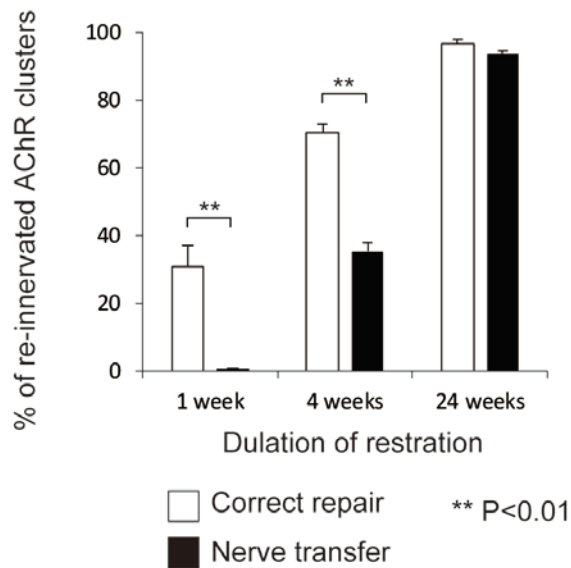


図 3

研究者はマウスを用いて、筋皮神経遠位部と尺骨神経近位部をつなぎ替える神経移行術モデルを作成することに成功した。マウスにおいて尺骨神経の運動神経細胞が第7頸髄節～第1胸髄節に位置していることを確認しており、この神経移行術モデルにおいて本来筋皮神経で支配される上腕二頭筋を神経移行術により移行した尺骨神経が再支配し、筋収縮が起こることを明らかにした。神経移行術後、どのように再生経路を構築していくのか解析を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 1 件)

- (1) Wakatsuki H, Shibata M, Matsuda K, Sato N
Development of a mouse nerve-transfer model for brachial plexus injury
Biomedical research 40(3), 2019 (in press) (査読有)

〔学会発表〕 (計 3 件)

- (1) 若槻華子、親松宏、柴田実、松田健、佐藤昇
末梢神経移行術後の神経回路再編: 第45回日本マイクロサージャリー学会学術集会 (2018)
- (2) 若槻華子、親松宏、柴田実、松田健、佐藤昇
末梢神経移行術後の神経回路再編: 第27回日本形成外科学会基礎学術集会 (2018)
- (3) 若槻華子、渡辺啓介、千葉映奈、柴田実、松田健、佐藤昇
末梢神経移行術後の神経回路再編: 第123回日本解剖学会総会・全国学術集会 (2018)

6. 研究組織

(1) 研究分担者

なし

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：佐藤 昇

ローマ字氏名：(SATO, Noboru)

研究協力者氏名：柴田 実

ローマ字氏名：(SHIBATA, Minoru)

研究協力者氏名：松田 健

ローマ字氏名：(MATSUDA, Ken)

※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。