

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2023

課題番号：18K16981

研究課題名（和文）末梢神経移行術後の神経回路再編および機能回復

研究課題名（英文）Rewiring of neural circuits following peripheral nerve transfers

研究代表者

若槻 華子（Wakatsuki, Hanako）

新潟大学・医歯学総合病院・特任助教

研究者番号：20749642

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：神経回路再編の機序や再生軸索の発芽や分枝を制御する機構、神経損傷後に起こるシナプスの消退と再生後の再接続の機構などを解明することを目的とし、マウス腕神経叢モデルで神経移行術後の遠心路の組織学的検討を行ってきた。神経縫合術、神経移行術を行った群で、神経縫合部より近位で電気刺激を行い、神経縫合術および神経移行術後に神経回路標識で標識された前角細胞と後根神経節細胞でのc-Fos(ニューロンでの刺激に応答して一時的に発現する)の発現を観察し、あらたな神経回路を通して別の支配髄節が興奮していることを証明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

神経回路再編の機序や再生軸索の発芽や分枝を制御する機構、神経損傷後に起こるシナプスの消退と再生後の再接続の機構などを解明することを目的とし、マウス腕神経叢モデルで神経移行術後の組織学的検討を行ってきた。神経縫合術、神経移行術を行った群で、神経縫合部より近位で電気刺激を行い、神経縫合術および神経移行術後に神経回路標識で標識された前角細胞と後根神経節細胞でのc-Fos(ニューロンでの刺激に応答して一時的に発現する)の発現を観察し、あらたな神経回路を通して別の支配髄節が興奮していることを証明した。

研究成果の概要（英文）：Nerve transfers have provided good clinical outcomes, the anatomical and molecular mechanisms that underlie this regenerative process remain unknown. I have demonstrated that neurons in new neural circuits are excited after nerve transfer by using a mouse nerve-transfer model for brachial plexus injury. This observation demonstrated that a different dominant spinal segment is excited through a new neural circuit.

研究分野：形成外科学

キーワード：再生医学 再建外科学

様式 C - 19、F - 19 - 1 (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(図1)。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。

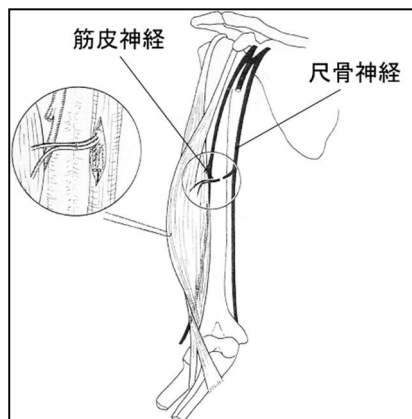


図1

J Bone Joint Surg Am. 2004 Jul; 86-A(7):1485-90. より引用

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。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～神経筋接合部～筋に至る神経回路を連続的に観察可能と考えた。

2. 研究の目的

切断された末梢神経は再生するが脊髄内には侵入できず、中枢神経系内では軸索再生が自然に起こることはないとされている。つまり、神経移行術後の神経回路の再編には、末梢神経における軸索の再生と中枢神経系(脳・脊髄)における軸索の発芽が大きな役割を果たしていると考えられる。脳血管障害や脊髄損傷後の運動回路の再編やその機序については多くの研究がなされており、損傷後に残った神経回路が軸索の発芽により再編することが予測されている。また、障害および損傷後には適切な運動訓練を課すことでより高い機能回復が得られることも分かっている。しかしながら、末梢神経の神経移行術後の神経回路の再編と機能回復については不明な点が多く、本研究でこれらを明らかにすることで、より確実に効果的な手術方法や手術後の運動訓練法の開発に繋がると考えていた。

3. 研究の方法

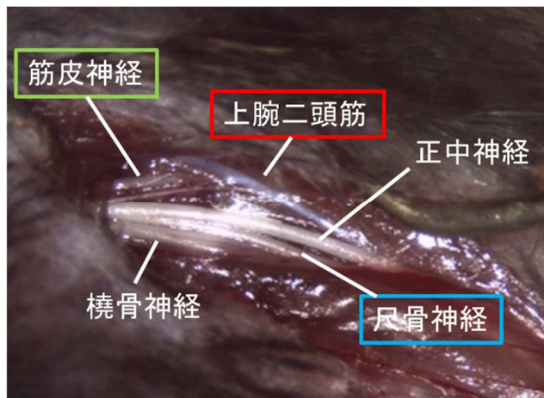
遠心路の観察を行うために、神経移行術後の上腕二頭筋での神経筋接合部の再生を組織学的に観察した。また、求心路の観察を行うために、神経移行術後の上腕二頭筋での神経筋接合部の再生に加え、筋紡錘の変化について観察した。また、神経移行術後に神経回路標識で標識された前角細胞と後根神経節細胞での c-Fos (ニューロンでの刺激に反応して一時的に発現する) の発現を確認することで、支配中枢での神経活動を証明する。実験にはマウス (C57BL/6J 8週齢) を用いる。各群 n=6 とした。

対照群：右筋皮神経・上腕二頭筋(非手術側)を使用

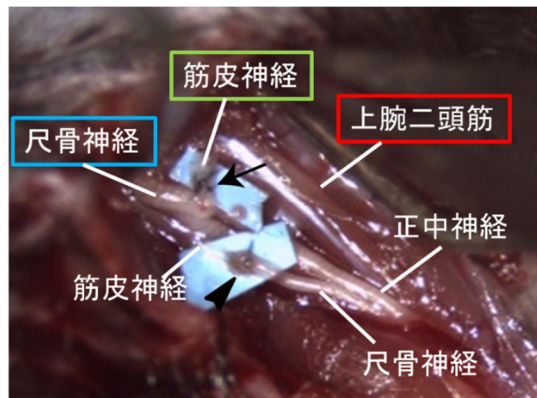
グループ：左筋皮神経を切断する(図2A)

グループ：左筋皮神経を切断後、縫合する(図2B)

グループ：左筋皮神経、尺骨神経をそれぞれ切断し、つなぎかえる(筋皮神経近位端 - 尺骨神経遠位端、尺骨神経近位端 - 筋皮神経遠位端となるように縫合する)(図2C)



マウス(C57BL6J)の腕神経叢



マウス(C57BL6J)腕神経叢 神経移行術モデル

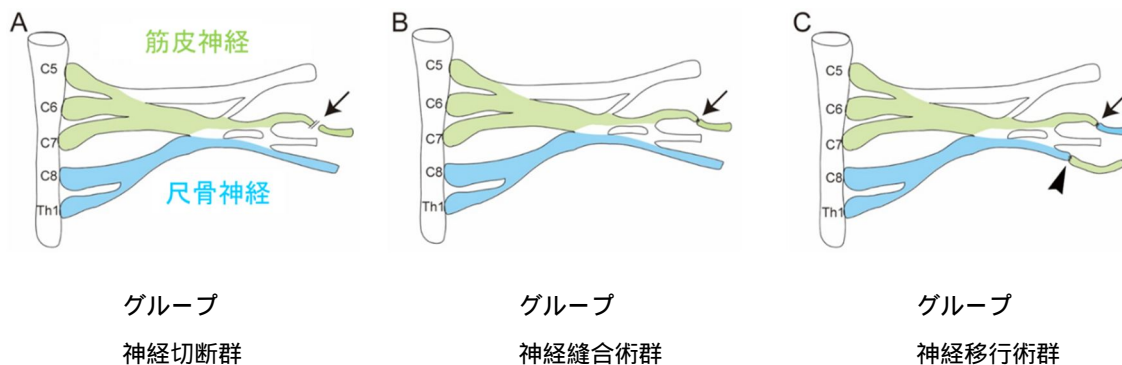


図 2

4. 研究成果

マウス(C57BL6J)での腕神経叢の逆行性トレースを行い、筋皮神経の支配髄節は頸髄5,6,7に存在し、尺骨神経の支配髄節は一部の頸髄7、頸髄8、胸髄1に存在することを確認した。これはヒトの筋皮神経、尺骨神経の支配髄節が存在するレベルと同じである。この実験では、末梢神経線維から連続して、遠心性経路である前角細胞～軸索、求心性経路である軸索～後根神経節を連続して観察することが可能であった。続いて、マウスで神経移行術モデルを作成した。前述のOberlin法のモデルとして筋皮神経と腕神経叢を切断し、それぞれの近位断端および遠位断端を入れかえ、尺骨神経近位-筋皮神経遠位、筋皮神経近位-尺骨神経遠位となるように繋ぎかえて縫合し、神経再生期間をおいた後に縫合部より近位で電気刺激を行い本来筋皮神経が支配していた上腕二頭筋が収縮することを確認した。また、上腕二頭筋を免疫組織学的染色法により観察し、遠心性経路のポストシナプスであるアセチルコリンレセプターの再生とそれを再支配する再生軸索の伸長を認めた。

神経移行術後のマウスの上腕二頭筋を電気刺激した後に、神経細胞活動性の指標となる c-fos で頸髄8、胸髄1の脊髄を免疫組織学的に観察したところ、前角細胞で発現が上昇していることが確認できた。これは、あらたな神経回路を通して別の支配髄節が興奮していることを示している。

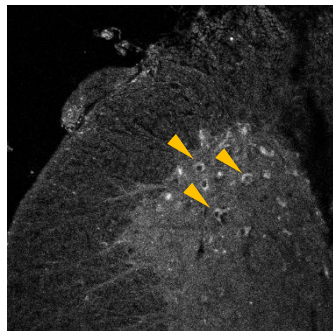


図 3

神経移行術後に、ドナーである尺骨神経の再生および標的筋の再神経支配が電気生理学的、形態学的に確認できた。マウスは解剖学的にヒトと類似しており神経移行術後の再神経支配・機能回復のメカニズムの解明に有用であり、遺伝子組換え動物への応用も可能である。より効果的な治療法やリハビリテーションの発展に寄与すると考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	佐藤 昇 (Sato Noboru)		
研究協力者	松田 健 (Matsuda Ken)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関