

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 5 月 22 日現在

機関番号：24405

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09210

研究課題名(和文)フルオレセイン蛍光造影法を用いた末梢神経絞扼性障害の病態解明—基礎から臨床—

研究課題名(英文)Fluorescein Fluorescence Imaging to Investigate the Pathophysiology of Peripheral Nerve Entrapment: From Experimental Models to Clinical Practice

研究代表者

岡田 充弘 (OKADA, MITSUHIRO)

大阪公立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：40309571

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：神経血流を評価することで末梢神経絞扼性障害の重症度を判定し、その重症度判定を根拠に予後予測を行うことができるかという事は解明されていない。フルオレセイン蛍光造影法とレーザードップラー血流計を使用し、末梢神経絞扼性障害の神経内血行動態を評価した。研究には、ラット坐骨神経慢性絞扼モデルと白色家兎坐骨神経慢性モデルを用いた。血流評価には、フルオレセイン蛍光造影法とレーザードップラー血流計を用いた。神経内血流の保たれているラット慢性絞扼モデルでは、両測定結果は相関していた。絞扼部位に微小な深部血流しか認めない白色家兎坐骨神経慢性モデルでは、フルオレセイン蛍光造影法のみが神経内血流を可視化できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

国内外の末梢神経の血流に関する研究では、レーザードブラ血流計が主に用いられている。レーザードブラ血流計は測定深度が浅いため、末梢神経の表層の血流の測定値を神経全体の血流として捉えているという欠点がある。本研究で用いたフルオレセイン蛍光造影法は、末梢神経内部の血流を含めて評価することが可能であることが証明された。また、これまでの末梢神経の血流測定機器と異なり、数値のみだけでなくリアルタイムに血管造影のように血流を視覚的に確認することもできる。これらの利点は、これまでの計測機器にはない利点であり、今後末梢神経の血流計測法の国内外の標準的な方法になる可能性が極めて高いと考える。

研究成果の概要(英文)：It remains unclear whether the evaluation of neural blood flow can determine the severity of peripheral nerve entrapment and if such severity assessment can be used to predict prognosis. This study assessed the intraneural hemodynamics of peripheral entrapment neuropathy using fluorescein angiography and laser Doppler flowmetry. The study utilized chronic constriction models of the sciatic nerve in rats and rabbits. Both fluorescein angiography and laser Doppler flowmetry were used for blood flow evaluation. In the rat chronic constriction model, where intraneural blood flow was maintained, the results of both measurements correlated. In the rabbit chronic constriction model, where only minimal deep blood flow was observed at the entrapment site, fluorescein angiography alone was able to visualize the intraneural blood flow.

研究分野：末梢神経外科

キーワード：末梢神経絞扼性障害 フルオレセイン蛍光造影法 レーザードップラー血流計 神経内血行動態

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

末梢神経絞扼性障害は、末梢神経が隣接組織によって慢性的の圧迫刺激を受け、その部位に局所性の神経束内・外での線維化が生じる。この線維化のため神経内の血流障害が発生し、神経・血管閉塞が破綻し、神経束内浮腫が発生する。この浮腫により、神経束内圧が上昇し、更に神経内の血液循環が悪化する。この現象を繰り返すことにより軸索は圧迫され変性していく。

2. 研究の目的

神経血流を詳細に評価することで、末梢神経絞扼性障害の重症度が判定することができるか、さらに、その重症度判定を根拠に、予後予測を行うことができるかということは解明されていない。我々の研究の目的は、フルオレセイン蛍光造影法とレーザードップラー血流計を使用し末梢神経絞扼性障害の神経内血行動態を詳細に評価し、末梢神経絞扼性障害の重症度を判定することである。

3. 研究の方法

ラット坐骨神経慢性絞扼モデル

モデルは過去の報告に基づきラット左坐骨神経にシリコンチューブ(内径 1.3mm 外径 2.0mm(Baxter Healthcare, Deerfield, IL))を 8mm 長にわたって巻き付け作製した。絞扼のないコントロール群、絞扼週数が 2, 4, 6, 8 週の計 5 群を設定し(n=8)、レーザードップラー血流計(FLO-C1, OMEGAWAVE, INC.)とフルオレセイン蛍光造影法を用いて神経絞扼部位の血流を測定した。坐骨神経展開後にレーザードップラー血流計では絞扼部位にプローブを接触させ 30 秒間の平均値を記録し、フルオレセイン蛍光造影法では腹腔内にフルオレセインを 0.4cc 投与し薬剤投与後 10 分間での最大輝度をソフトウェア(Flowinsight, Infocom Corporation)を用いて算出した。

白色家兎坐骨神経慢性モデル

ヒトへの臨床応用を焦点により大型の動物モデルとして、日本白色家兎(リタイア)を使用した。モデルは坐骨神経を 20mm にわたって展開し、4-0 ナイロン糸にて 6 箇所均等に圧迫をかけて作製した。4 週後にレーザードップラー血流計と、フルオレセイン蛍光造影法によって損傷部位の血流を評価し、コントロール群(健常の神経)と比較した。

4. 研究成果

ラット坐骨神経慢性絞扼モデルでは絞扼週数とともにフルオレセイン蛍光造影法での絞扼部位の蛍光輝度は有意な相関をもって低下した(図 1)。同様に、レーザードップラー血流計の測定値も絞扼週数と有意な相関をもって低下した。組織学的評価では過去の報告と同様にマッソントリクローム染色で神経内の線維化面積を定量評価すると絞扼週数と有意に相関して増加していた(相関係数:0.79 P 値<0.01)。このことから本モデルの血流低下の病態は神経内の線維化進行し血流が低下していくことが関連していることが示唆される。さらに、フルオレセイン蛍光造影法の蛍光輝度と、レーザードップラー血流計での測定値も有意に相関していた(相関係数:0.58 P 値<0.01)ことから、より重症の白色家兎坐骨神経慢性モデルにもフルオレセイン蛍光造影法とレーザードップラー血流計を使用することとした。

白色家兎坐骨神経慢性モデルでは、筋電図検査では坐骨神経の振幅が(コントロール: 22.7mV vs 4 週絞扼モデル: 1.53mV, P 値<0.01)と絞扼モデルで著明に低下する重症のニューロパシーモデルであることが確認された。4 週後の肉眼所見において、損傷部位に明らかな色調変化を認め、フルオレセイン蛍光造影法で血流低下部を可視化でき、さらに正常部とのコントラストが明瞭であった(コントロール: 211.1 vs 4 週絞扼モデル: 159.4, P 値<0.01)。(図 3) レーザードップラー血流計では絞扼部での血流波形はほぼ得られていなかった(コントロール: 21.8 vs 4 週絞扼モデル: 6.78(ml/min/100g), P 値<0.01) (図 4)。さらにこのモデルではレーザードップラー血流計での測定値はフルオレセイン蛍光造影法と有意な相関を認めなかった。

の結果からフルオレセイン蛍光造影法とレーザードップラー血流計はある程度の血流の保たれているモデル(ラット慢性絞扼モデル)では相関していたが、より大型で重症のモデルにおいては損傷部位にも微小な深部血流がある場合フルオレセイン蛍光造影法では可視化できる可能性がありより詳細な評価が可能ではないかと考えている。

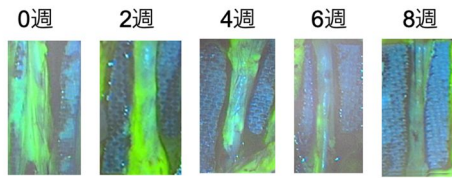


図1. 絞扼週数とフルオレセイン蛍光輝度の関係

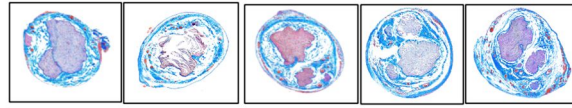


図2. 絞扼週数とマッソントリクローム染色

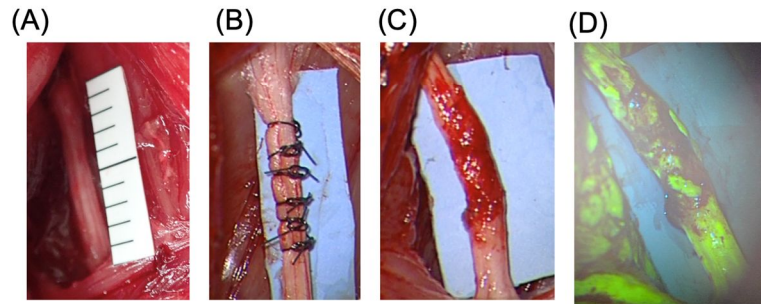


図3
 (A) 坐骨神経(損傷前) (B) 坐骨神経(損傷直後) (C) 坐骨神経(4週後)
 (D) フルオレセイン蛍光造影法によって血流低下部が可視化できる

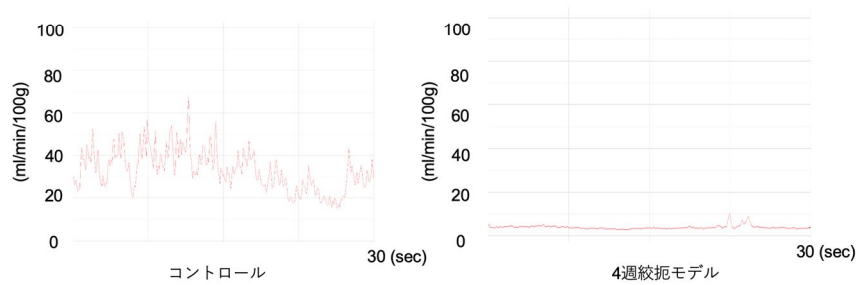


図4 レーザードップラー血流計の波形
 左：コントロール群 右：4週絞扼モデル

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 齊藤公亮、岡田充弘、江川卓弥、中村博亮
2. 発表標題 ラット坐骨神経慢性絞扼モデルにおけるレーザードップラー血流計を用いた微小血管血流評価
3. 学会等名 日本手外科学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 齊藤公亮、岡田充弘、中村博亮
2. 発表標題 ラット坐骨神経慢性絞扼モデルにおけるレーザードップラー血流計を用いた微小血管血流評価
3. 学会等名 日本末梢神経学会学術集会
4. 発表年 2023年

〔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
研究分担者	横井 卓哉 (Yokoi Takuya) (90711820)	大阪公立大学・大学院医学研究科・客員研究員 (24405)	研究補助およびデータの解析に従事した。

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
---------	---------