

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 31 日現在

機関番号：32203

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010 ～ 2011

課題番号：22791729

研究課題名（和文） ラット交叉神経移植モデルにおける神経端側縫合と血管柄付神経移植の検討

研究課題名（英文） Evaluation of end-to-side anastomosis for cross trunk nerve grafting in rats and vascularized nerve graft.

研究代表者

梅川 浩平 (UMEKAWA KOHEI)

獨協医科大学・医学部・助教

研究者番号：70458371

研究成果の概要(和文):ラットの左右胸背神経間に神経移植を行い、交叉神経モデルを用いた。移植神経は右大腿神経を使用した。レシピエントの左胸背神経は末梢と端々縫合し、ドナーの右胸背神経は端側縫合をするもの、端側縫合後ドナー神経末梢を切断するもの、端々縫合をするものを比較した。各部位での神経軸索数を計測し、再生神経を比較したところ、端々縫合群が最も優れ、端側縫合群はドナー神経末梢の状態に関わらず、再生は悪かった。

研究成果の概要(英文): I performed cross trunk nerve grafting in rats between right thoracodorsal nerve to left using right femoral nerve. At the recipient site I performed end-to-end anastomoses between the graft and distal stump of the left thoracodorsal nerve. At the donor site the graft was anastomosed the right thracodorsal nerve. I compared end-to-end anastomosis with end-to-side anastomosis. I count regenerating nerve axons. End-to-end anastomosis was most effective.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	700,000	210,000	910,000
2011 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,200,000	360,000	1,560,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・形成外科学

キーワード：医療・福祉、移植・再生医療、脳・神経

1. 研究開始当初の背景

顔面神経麻痺は、Bell 麻痺、Hunt 症候群

や、悪性腫瘍切除、外傷など様々な要因で生じうる疾患であるが、ひとたび生じると、表

情を作るたびに顔がゆがむため、患者の QOL は著しく低下する。顔面神経の中樞断端は多くの場合は利用できない。当教室では、陳旧例に対して、遊離筋移植による動的再建などを含め、様々な方法で再建を行ってきた。近年、新鮮例に対する再建方法として、神経端側縫合を利用した方法が様々報告されるようになってきたが、一定の見解を得ていない。

神経の端側縫合は、損傷神経の末梢断端を非損傷神経の側部へ単純に縫合するものであり、ドナー神経を損傷する必要が無いという点で優れた方法である。切断された神経の中樞断端が使用できない場合の機能再生など、残された限られた神経を有効に利用し、機能損失のない方法として、1800 年代後半から用いられたが、その後、成績が良くなかったためか行われなくなり、1992 年に再び注目されるようになった。近年、神経端側縫合について多くの議論がなされてきた。端側縫合後の組織学的変化についてはよく研究されていて、神経端側縫合を介した軸索再生は確かに起こるが、端々縫合に比べると、再生軸索数で劣ることなどが分かっている。また、感覚神経に比べ、運動神経の再生が悪く、より大きな筋力が必要な整形外科領域では臨床に用いることに批判的な研究者が多い。しかし、顔面表情筋など繊細な動きの回復が必要な状況に対し、臨床現場でも応用され、良好な治療成績も報告されてきている。

神経端側縫合の最大の論争点はその再生様式である。実際の生体内では、1本の神経が枝分かれして複数の標的器官を支配する現象は認められない。今回、『側芽から再生した神経軸索が神経終末に到達したものは本幹側が退縮するか、もしくは本幹の中で機能しえていない線維が側芽を萌出する』という仮説を立て検証を行うこととした。

2. 研究の目的

神経端側縫合による神経再生様式の解明のため、神経端側縫合におけるドナー神経の末梢の条件を変化させることで、神経縫合法による影響と、神経の条件によるものの検証を行った。

本幹側の神経末梢を切断したモデルでの

神経端側縫合を行い、再生神経の程度を評価する。これにより終末器官に到達していない神経の存在が、神経再生における役割が重要であるかどうかを検討した。

3. 研究の方法

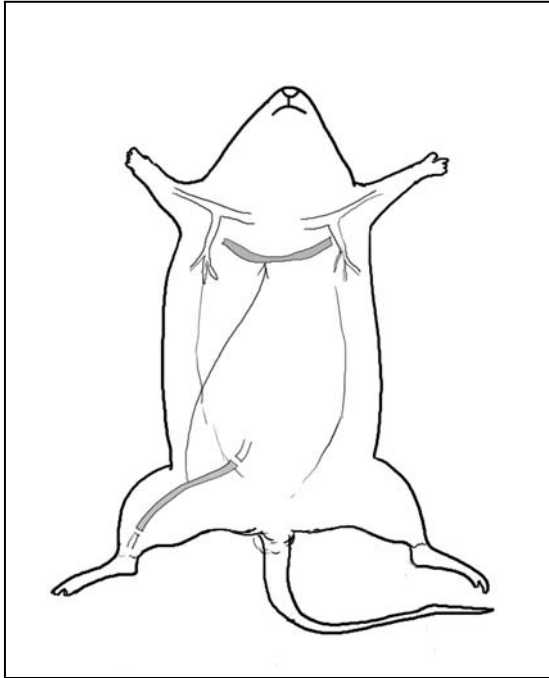
ウィスター系ラットを用いた。左右の胸背神経間に 4cm の右大腿神経を移植する交叉神経移植モデルを使用した。右胸背神経をドナーとし、左胸背神経をレシピエントとした

(図 1)。レシピエント側は移植神経と胸背神経末梢側を端々縫合した。ドナー側は移植神経を端側縫合する形とした。単純な端側縫合を行う群をグループ 1、ドナー神経を端側縫合部の末梢で一度切離し、端々縫合する群をグループ 2、端側縫合部の末梢を切離する群をグループ 3 とした。さらに、移植神経とドナー神経を端々縫合する群をグループ 4 とした (図 2)。

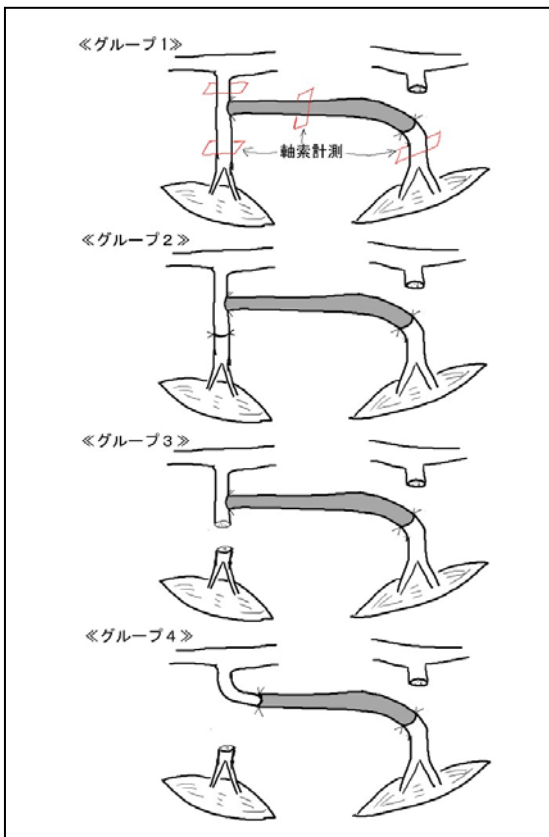
グループ 1、2 は神経移植を行ったあと、8 週後にドナー神経末梢を切断し、Di0 を接触させ、レシピエント神経末梢を切断し、DiI を接触させた。1 週後にドナー神経、移植神経、レシピエント神経を摘出し、組織学的検討を行った。さらに、脊髄を摘出し、脊髄前角細胞の観察を行った。グループ 3、4 は 8 週目で神経を摘出し、組織学的検討を行った。

神経採取部位はドナー側の神経縫合部より中枢側と末梢側、移植神経、レシピエント側の神経縫合部の末梢の 4 ヶ所で神経を採取した。それぞれ HE 染色を行い、神経軸索数を計測した。グループ 1、2 はさらに、10% ホルマリンによる還流固定を行い、脊髄を採取し、蛍光顕微鏡で観察した。

(図1)



(図2)



4. 研究成果

ドナー神経の中枢側では、軸索数は平均167.0本認められた。移植神経の軸索数とレシピエント側末梢の軸索数は、グループ1で57.5本、60.0本、グループ2で45.0本、59.0本、グループ3で67.0本、65.5本、グループ4で39.0本、48.5本であった。

右側の脊髄前角細胞において、DiI、DiOでの染色されている神経細胞を認め、交叉神経移植による神経再生が起こっていることが確認された。DiIとDiOで2重に染色されている前角細胞は認めなかった。

神経端側縫合の成否は、その縫合法ではなく、ドナー神経の予備能力による部分が大いのではないかと考えて行った実験モデルであったが、予想に反し、グループ1～4で有意差を認めない結果となった。この原因として、今回移植に用いた大腿神経の太さに原因があると思われる。移植神経が、レシピエント、ドナーに対し、細かったため、再生軸索の誘導がそれ以上起こらなくなってしまった可能性がある。つまり、元々終末器官に達していない休眠神経細胞など、神経の予備能力を越える移植を行えなかったと思われる。

また、今回実験で端側縫合を行う際、神経外膜を開窓しないで縫合したこと、移植神経の長さが長いことも神経再生を阻害した一因であると考えられる。端々縫合の場合、当然軸索断端が移植神経に接する状態が生じるが、端側縫合では、神経周膜、神経外膜越しにしか移植神経に接しない形となる。損傷神経から神経誘導因子が生じ、側芽を崩出すると考えられており、神経再生の旺盛なラットでは問題にならないと考えたが、予想以上に神経再生の阻害因子となったと思われる。また移植神経も4cmと長く、ドナー神経末梢での神経切断・再縫合群においても、対側への神経再生より、はるかに末梢への再生が容易に起こったものと考えられる。

今後、この実験モデルで、移植神経を坐骨神経など太いものに変更することや、神経端側縫合において、神経外膜を開窓することなどが改善点として挙げられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

なし

〔学会発表〕(計 0 件)

なし

〔図書〕(計 0 件)

なし

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

梅川 浩平 (UMEKAWA KOHEI)

獨協医科大学・医学部・助教

研究者番号: 70458371

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし