

様式 C-19

科学研究費補助金研究成果報告書

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：基盤研究 (C)
研究期間：2006～2008
課題番号：18591968
研究課題名(和文) 脱神経萎縮防止に関する実験的研究・流入型端側神経縫合の検討
研究課題名(英文) Experimental study for prevention of denervation atrophy; flow-in type end-to-side nerve suture
研究代表者 上田 和毅
(UEDA KAZUKI)
公立大学法人福島県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：40160163

研究成果の概要：

流入型神経端側縫合の効果のエビデンスを求めて実験を行った。まず神経端側縫合の軸索再生能力が、神経端々縫合に匹敵していることを確認した。しかし、健常な神経に対する効果は僅少であった。一方、受け入れ側の神経が損傷を受けている場合は障害程度が大きいほど多くの軸索が端側神経縫合部を介して受け入れ側神経に流れ込むことが判明した。結果として、病的神経に対する神経端側縫合の臨床応用への期待が膨らんだ。

交付額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2006年度 | 700,000 | 0 | 700,000 |
| 2007年度 | 500,000 | 150,000 | 650,000 |
| 2008年度 | 900,000 | 270,000 | 1,170,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 2,100,000 | 420,000 | 2,520,000 |

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：神経科学、脱神経性萎縮、端側型神経縫合

1. 研究開始当初の背景

筋肉は動物を文字通りの動物とあらしめ重要な運動の担い手であり、人間活動の根幹となる組織である。筋肉には周知のごとく必ず支配神経があり、神経と筋肉は神経筋単位(neuromotor unit)として一体として機能している。筋肉自体が損傷を受けた場合は、いわば自動車のエンジン部分が損傷されたこ

ととなり、機能停止するのはやむをえないが、神経が損傷を受けた場合も筋肉細胞自体は健常であるにもかかわらず機能が廃絶される。これに対して神経を修復することで対処するのであるが、たとえ神経の修復に成功し再神経支配が回復しても筋肉細胞が従前の状態に戻らないということはむしろ現在常識となっている。この原因は神経再支配が成立するまでの待ち時間に筋肉細胞が脱神経

性萎縮に陥ってしまうためである。

この脱神経性萎縮を回避するためにこれまでさまざまな試みがなされてきた。たとえば、再生軸索が筋接合部に達するまで筋肉を持続的に電気刺激し続ける方法 (electrostimulation)、筋肉を他動的に動かす方法、別の神経を筋肉の中に植え込む方法などである。しかし、電気刺激法も physical training 法も長期間始終続けていかなければならず、動物実験などで有効性が確認されても実際に臨床応用することには非常な困難を伴う。また、神経の植え込み法の効果は植え込んだ周辺に限られ大きな筋肉の場合には効果が薄い。筋肉の萎縮防止には本来の支配神経からの生理的な刺激がもっとも効果的であり、その意味からは Terzis の提唱する babysitter 法は意義深い。これは本来の支配神経の再生軸索が神経筋接合部に達するまでの間、別の神経をその支配神経に端々縫合でつないでおき、いわば子守させておいて、再生軸索が近くに到達した時点でその仮の縫合を切断し、本来の支配神経につなぎなおすというもので、理論的には素晴らしいが、一旦収縮を始めた筋肉をまた一時的ではあっても脱神経状態に戻すという危うさを含む。

一方、近年、神経の縫合に関して、端側型縫合の有効性がふたたび脚光を浴びてきた。これは、神経の側面に別の神経を縫合する方法で、端々縫合と比べて神経の切断が一方のみでよいという非侵襲性を持つ。これには流出型と流入型との2型がある。前者は、健康な神経の側面に遊離した神経を縫合するもので、再生軸索が本幹から枝が伸びるように遊離神経の中に伸長する。この型の端側神経縫合の研究は先行し、すでにその有効性は確認され、臨床応用されている。しかし、後者の流入型端側神経縫合の研究は遅れており、

その有効性についての検証が待たれている。

2. 研究の目的

流入型端側神経縫合の有効性が確認されれば、不全の神経障害例において見られるような軸索数に乏しい神経に端側型で別の神経を縫合することにより、その軸索数を増加させ、より良好な機能回復を得ることが期待される。あるいは、断端部直径の異なる神経の縫合において端側型神経縫合を応用することが可能となる。こうした点に関してのエビデンスはまだ得られておらず、臨床応用に先立つ実験的研究が焦眉の課題として挙げられている。本研究では、流入型神経縫合の効果を縫合形態の面から検討を加える。

3. 研究の方法

(1) 実験 : 神経縫合における流入型神経端側縫合の検討

S D系ラットをネプタールの腹腔内注入により麻酔し、腹臥位にて固定。顔面の下顎縁に皮膚切開を加え、顔面神経の頬骨枝と頬枝を剥離露出した。

頬骨枝と頬枝を切離し、一側では頬骨枝の中枢断端と頬枝の末梢断端とを端々縫合(図1・図2右)、他側では頬骨枝の中枢断端と頬枝の末梢断端とを端側縫合(図1・図2左)した。

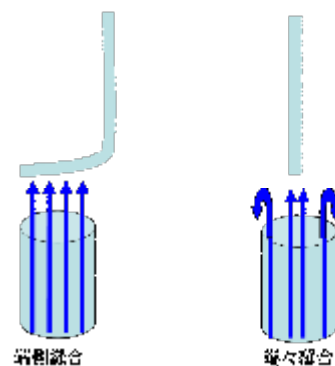


図1 神経縫合法

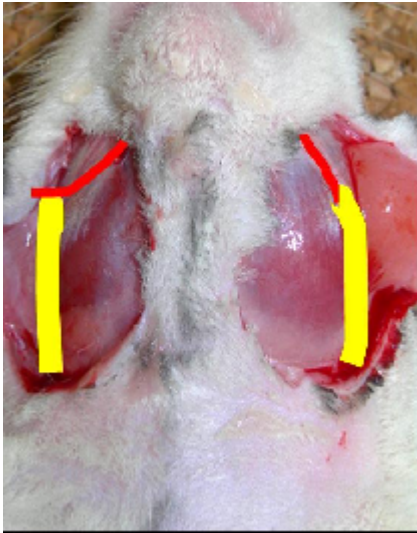


図2 神経縫合後

(2) 実験 : recipient nerve の損傷程度が流入型神経端側縫合に与える影響の検討

S D系ラットをネンブタールの腹腔内注入により麻酔し、腹臥位にて固定。顔面の下顎縁に皮膚切開を加え、顔面神経の頬骨枝と頬枝を剥離露出した。

頬骨枝を切離し、一側では頬枝の側面に epineural window を開いてここに頬骨枝の中枢断端を端側縫合、他側では頬枝を一旦切離し、直ちに切離部を再縫合した後、再縫合部より末梢の頬枝の側面に頬骨枝の中枢断端を同様に端側縫合した(図3)

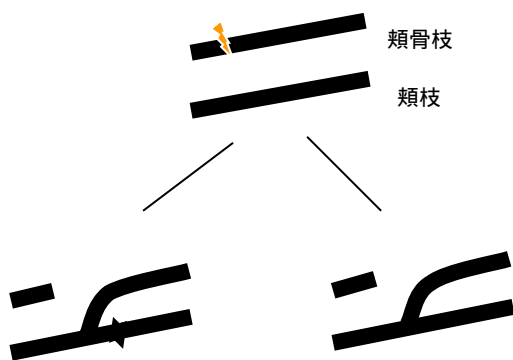


図3 実験 シェーマ

頬骨枝を切離し、頬枝の側面に epineural window を開いてここに頬骨枝の中枢断端を端側縫合した。そして、一側では端側縫合部

より中枢の一カ所において頬枝を切離後直ちに再縫合、他側では端側縫合部より中枢の二カ所において頬枝を切離後直ちに再縫合した(図4)。

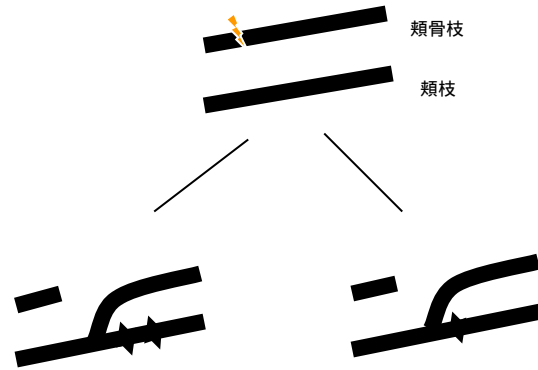


図4 実験 シェーマ

両実験ともに神経縫合はすべて 10-0 ナイロンを用いて手術用顕微鏡下に行った。手術後、端側縫合部を含んだ顔面神経を採取しエポキシ包埋で処理後、端側縫合部の末梢部における断面をトルイジンブルーにて染色し、有髄神経の数、直径、密度を測定した。

4 . 研究成果

(1) 実験 : 術後6週目(n=7)と12週目(n=7)に標本を採取し、評価を行った。6週では軸索再生率 (distal counts/proximal counts) は端々縫合の方が端側縫合よりも有意に高かった(p<0.05)が、12週ではほぼ同じ値であった(図5)。

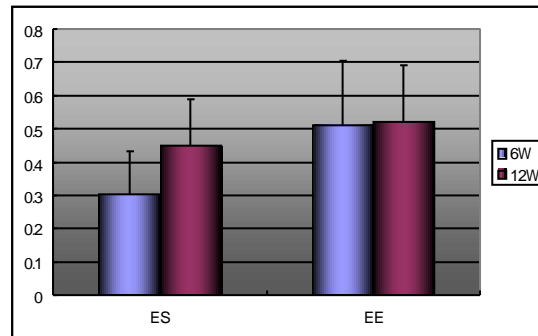


図5 軸索再生率(distal counts/proximal counts)

末梢側における再生軸索の総数は6週では端々縫合の方が端側縫合よりも有意に高かった(p<0.05)が、12週では有意差を認めなかった(図6)。

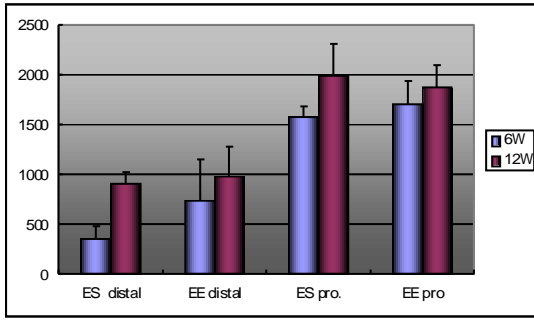


図 6 軸索数

短径毎の度数のピークは12週ではより太いほうにシフトしたが、端々縫合、端側縫合ともに同じサイズでピークになり、短径の平均値に有意差は認められなかった(図7)。

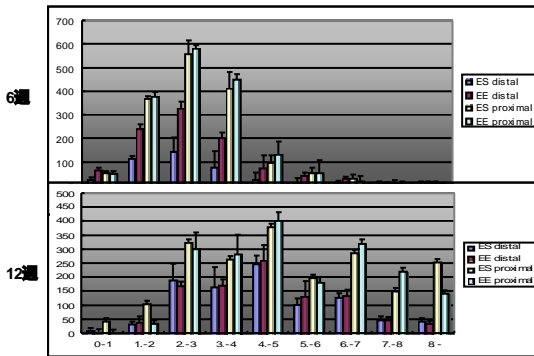


図 7 軸索の短径別の度数

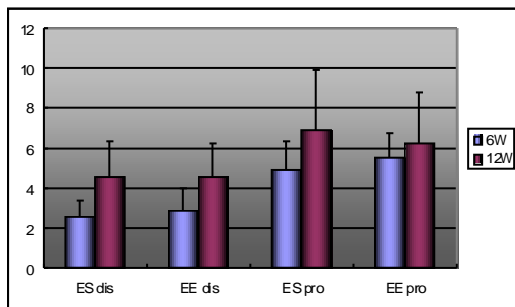


図 8 軸索短径の平均値

縫合する神経の直径が約2対1の比率で、直径の大きい神経から小さい神経を縫合する場合においては、再生軸索総数や再生軸索の短径に関して6週では端々縫合のほうが多く認められたが、12週においては有意差が認められなかったことになる。これは、受け入れ側の神経のcapacityが最終的な神経再生の程度を決定する重要な要因であることを意味するものと考えられるが、神経縫合法の違いによる影響があるかという視点から見ると端側縫合と端々縫合との間に差はないという結論になる。臨床上の手技としてはこのような口径差のある神経縫合の場合、端々縫合が一般的であるが、端側縫合でもそれに匹敵する成績が得られるというこ

とが言える。

(2) 実験

術後1ヶ月目に標本を採取し、評価を行った(n=11ほかにコントロールとしてn=2)。

AとcontrolであるNとの差はほとんどなかった。AにくらべてBでは直径2 μm程度の細い直径の軸索数が増加しており、その傾向はC、D、Eでは更に顕著に認められた。逆に直径5 μm以上の軸索はC、D、Eでほとんど見られなくなっていた(図9, 10)。

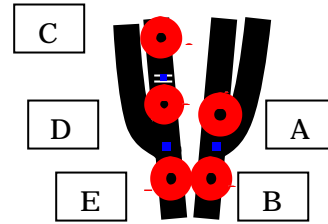


図 9 標本採取位置

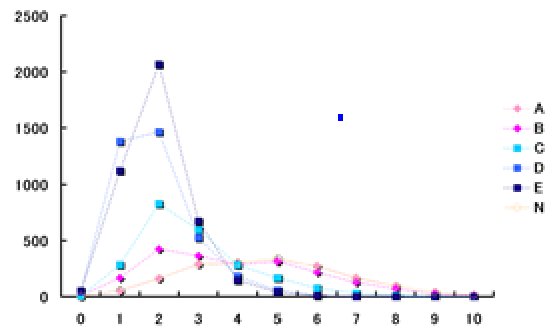


図 10 軸索径別平均軸索数

神経軸索数の増加率においてはそれぞれに有意差は認められなかったが端々吻合がもっとも多く、ついで神経障害を伴う端側吻合、最も少ないのが神経障害を伴わない端側吻合となった。則ち、A-B間とD-E間においては神経障害を伴うD-E間の増加率のほうが高い傾向にあり、端々吻合であるC-D間と端側吻合であるD-E間においてはC-D間の増加率が高い傾向となった(図11)。

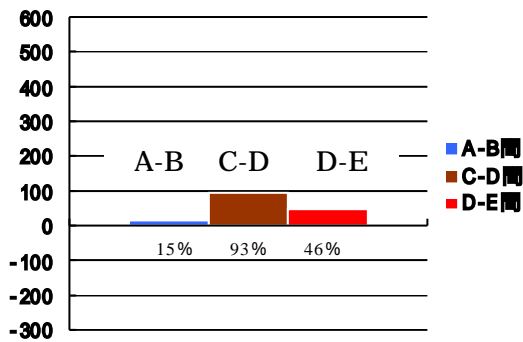


図 1 1 神経軸索増加率

健全な神経に流入型端側縫合を行うと、縫合部より末梢ではその健全な神経にも若干の軸索数の増加が認められたが、増加するのは細い神経が主体であった。これは健全な神経に対しても流入型端側神経縫合は軸索流入効果があることを示す。ただ、その量は軽微である。一方、障害を受けて神経に対しては明らかな軸索数増加をもたらす。その程度は神経の障害が高度であればあるほど大きかった。しかし、端々縫合における増加率よりは低かった。これは、流入型端側神経縫合による効果が補助的であることを意味する。

従って、すでに神経筋単位がstableな状態となった陳旧性の神経障害に対し流入型端側型神経縫合によってneural signalを増強させようということにはあまり期待ができない。しかし、障害された神経に対して流入型端側神経縫合を行った場合には150%程度までの軸索数の増加が期待できる。一方興味深いことに再生軸索の流入はrecipient nerveの近位方向にも向かうようで、これはC

D間の軸索数の違いから類推される。

術後1ヶ月(n=10)ならびに4ヶ月目(n=10)で標本を採取し、評価を行った。

1ヶ月目では、再縫合1カ所側では中枢側に比べて末梢側で平均軸索数も平均軸索径も増加していた。また再縫合2カ所側では、平均軸索径では中枢と末梢で差は認められなかったが、末梢側での軸索数の増加はより顕著であった(図12)。

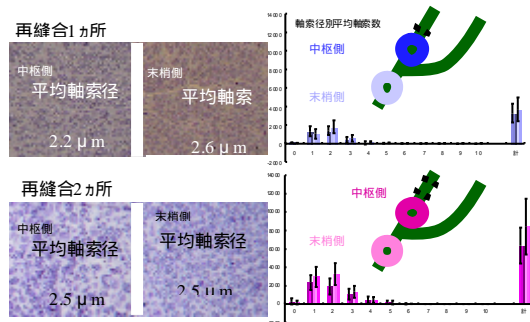


図 1 2 軸索径別平均軸索数 (術後 1 カ月)

4ヶ月後では、軸索径に関しては再縫合1カ所の場合では末梢側のほうで明らかに細くなっていたが、再縫合2カ所の場合では中枢側と末梢側の差はあまり認められなかった。軸索総数としては再吻合の数にかかわらず中枢側・末梢側間において大きな差は見られなかった(図13)。

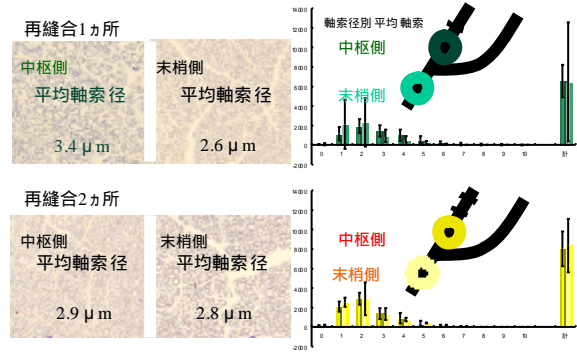


図 1 3 軸索径別平均軸索数 (術後 4 ヶ月)

術後1ヶ月で両群とも軸索数は同様に顕著な増加傾向にあるが、4ヶ月後では再縫合2カ所群における増加率の方が著しい(図14)。

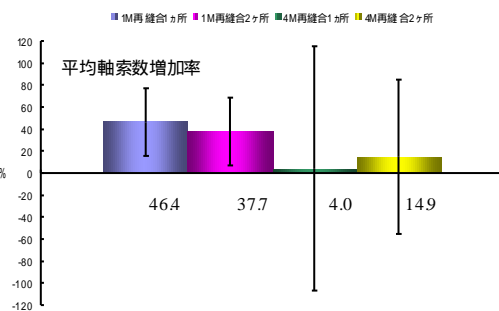


図 1 4 平均軸索数増加率

軸索径に関しては、再縫合1カ所の場合では1ヶ月後においては末梢側が中枢側に比べ軸索径が大きく、4ヶ月後においては逆に中枢側のほうが軸索径が大きくなった。再縫合2カ所の場合では1ヶ月後・4ヶ月後ともに大きな変化はなかった(図15)。

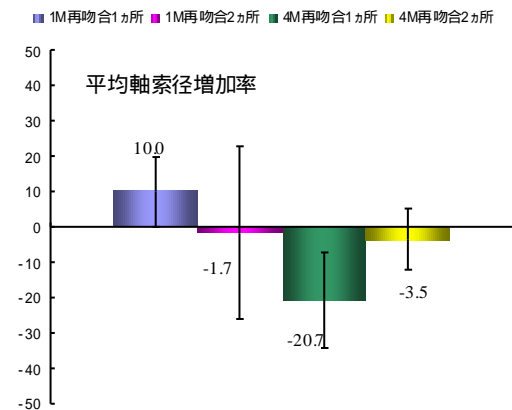


図 1 5 平均軸索径増加率

4ヶ月目においては再縫合が1カ所の場合流入型神経端側縫合部の末梢側では中枢側に比べて軸策数は多いが、その差は1ヶ月目におけるほど顕著ではない。これは時間的経過とともに再縫合部を経由した再生軸策が増加してくるためと考えられる。また、軸策径に関する末梢側と中枢側の差が少なくなってきたこと、再縫合部を経由しての再生軸策が末梢側にも伸びてきていることを伺わせる。ただ、軸策数総数においては、やはり流入型神経端側縫合部を境にそれより末梢側で増加したままであることには変わりはない。これは、流入型神経端側縫合が本来のルートを経た軸策再生の過程を阻害するものではないことを示唆しているものと思われる。

再縫合が一カ所の場合と二カ所の場合との比較では、流入型神経端側縫合部前後で平均軸策径に差はないが、軸策数において後者で増加率が高い。これは、神経障害の程度が高度な神経であればあるほど軸索流入効果が大きいことを示している。逆に言えば健全な神経に対する軸索増強効果は乏しいということになる。

まとめ

流入型神経端側縫合はさまざまな形での臨床応用が期待されているが、まだ一般的ではない。その理由は目的の項で述べたごとくまだエビデンスに乏しいということである。われわれの研究ではまず神経端々縫合に比べて神経端側縫合がどれほど軸索再生能力があるかを検証したが、前者に匹敵する能力を示した。こうした高い軸索再生能力のある神経端側縫合であるが、これを健全なrecipient nerveに施した場合の効果は僅少であった。このことは、神経には再生軸索を受け入れる限界というものがあ、それを越えて多くのneural signalを神経内に注入す

ることはできないということの意味する。従って、機能的な神経断端があるからといって、神経機能増強のために別の神経に端側縫合することは意味がない。一方、recipient nerveが損傷を受けている場合はその逆で、端側神経縫合の効果は大きい。障害程度が大きければ大きいほど多くの軸索が端側神経縫合部を介してrecipient nerveに流れ込む。

今後はこれらの結果を踏まえて臨床応用を具体化していきたいと考える。

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)

[学会発表](計 4 件)

館下亨、上田和毅、梶川明義、大河内真之、廣瀬太郎、大河内裕美、阪場貴夫、館一史、桂木容子、今西理也、木村眞之介、長谷川晶子、樺山真紀、桂木容子、直径差のある神経縫合の軸索再生について - 端側縫合と端々縫合の違い - 第 2 報、第 34 回日本マイクロサージャリー学会、2008 年 11 月 14 日、新潟

大河内裕美、上田和毅、梶川明義、館下亨、大河内真之、廣瀬太郎、阪場貴夫、館一史、樺山真紀、桂木容子、流入型神経端側縫合に関する実験的研究(第 2 報)、第 34 回日本マイクロサージャリー学会、2008 年 11 月 14 日、新潟

館下亨、上田和毅、梶川明義、大河内真之、廣瀬太郎、大河内裕美、阪場貴夫、館一史、桂木容子、今西理也、木村眞之介、長谷川晶子、直径差のある神経縫合における軸索再生について - 端側縫合と端々縫合の差 - 、第 84 回日本形成外科学会北海道東北支部東北地方会、2008 年 2 月 2 日、弘前

大河内裕美、上田和毅、梶川明義、館下亨、大河内真之、浅井笑子、阪場貴夫、館一史、樺山真紀、五来克也、桂木容子、今西理也、流入型神経端側吻合に関する実験的研究～レシピエント神経障害の有無による神経軸索流入量の変化、第 33 回日本マイクロサージャリー学会、2007 年 10 月 19 日、福島

6. 研究組織

(1)研究代表者

上田 和毅(UEDA KAZUKI)

公立大学法人福島県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：40160163

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし