

平成22年5月28日現在

研究種目：若手研究 (B)
研究期間：2008～2009
課題番号：20791316
研究課題名 (和文) 末梢神経静脈吻合による、神経再生と骨格筋の再支配に関する研究
研究課題名 (英文) Peripheral nerve regeneration in neuro-venous anastomosis
研究代表者
白石 知大 (SHIRAISHI TOMOHIRO)
杏林大学 医学部・助教
研究者番号：40433726

研究成果の概要 (和文)：

Wister 系ラットを用いて胸背静脈遠位端と胸背神経近位端の縫合を行うことで3ヶ月後に神経刺激により胸背神経支配筋である広背筋の収縮が見られることが確認された。坐骨神経・大腿静脈縫合モデルでは1か月で約1cmの神経の伸長が確認できたが、3カ月、6カ月の経過でも肉眼での伸長距離は同様に1cm程度であった。以上の結果から、神経は静脈内を成長し、筋を支配しうるが、期待できる伸長距離は短いことが分かった。

研究成果の概要 (英文)：

Thoracodorsal nerve and vein were cut and the proximal end of the nerve was anastomosed to the distal end of the vein. It was found that a newly regenerated nerve which runs through the vein innervates a latissimus dorsi muscle of a rat. Then, the sciatic nerve and the femora vein of a rat were also cut and the proximal end of the nerve and the distal end of the vein was anastomosed. The regenerated nerve also ran through the vein, but the maximum length it ran through was about 1cm long.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	700,000	210,000	910,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,400,000	420,000	1,820,000

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：神経再生

1. 研究開始当初の背景

| 末梢神経修復の試みとしては19世紀に

神経欠損部に種々の材料を用いた報告があるが、その成績は良好ではなく、その後マイクロサージャリーの導入や Millesi ら (Hall, S.: Nerve Repair: A neurobiologist's view. Br J Hand Surg. 2001) をはじめとする多くの先人たちの臨床経験をもって、自家神経移植が現在スタンダードとして用いられていた。しかしながら、ドナー神経の採取による損失の問題があり、現在、同種移植や人工材料による再建の研究がさかんに進められていた。(PGA-collagen tube, alginate gel など) (Matsumoto, K.: Peripheral nerve regeneration across an 80-mm gap bridged by a polyglycolic acid-collagen tube filled with laminin-coated collagen fibers: a histological and electrophysiological evaluation of regenerated nerves. Brain Res. 2000) しかしながら、欠損が神経の末梢部までを想定した場合(神経筋接合部など)の再生・再建についての研究は申請者が検索した範囲ではまだ行われていなかった。

本実験は現在研究が進んでいる神経再生分野としての一面をもち、その研究成果を生かすことができるが、それらが対象としている神経のバイパス法とは趣を異にする。本実験では末梢部が欠損した神経を末梢まで伸長させ、効果器に刺激を伝えること、すなわち神経筋接合部までの再生について研究することを目的とした。

本法は以下に示す理由により、神経再生に必要な条件を良好に満たしており、その可能性、応用が期待された。

本法では血液の充満した静脈と端々吻合を行っている。丁寧な吻合を行うことで吻合部からの血液の漏れは現在まで認めていない。静脈内は血栓形成を来すことが想像されるが、それにより内腔の物理的な狭小化が防がれ、内部は血栓化することが予想される。また用いている静脈はその血管壁自体への栄養は維持されたままの状態が存在している。(∵過去の神経欠損部の静脈移植による再建の報告では、神経は回復するものの、再生軸索の太さや本数は神経移植に比較してやや劣っていた。(末松:末梢神経欠損部への静脈移植法の実験的研究(第2報),日本手の外科学会雑誌 1987)その理由として、静脈は移植時には虚脱しており、内腔を維持できないためであるとし、内腔にフィブリンを充填することでそれを補え、その中に growth factor も存在するとする報告も存在する

(Choi BH: Autologous fibrin glue in peripheral nerve regeneration in vivo. Microsurgery 2005)。

∵現在、神経再生の場として必要な条件は癒痕組織の侵入を防ぎ、Schwann 細胞を遊走させ、Schwann 細胞から放出される栄養因子を保持できる材料であれば内腔の存在する構造でなくてもよいとされている。(Hashimoto, T.: Peripheral nerve regeneration through alginate gel: analysis of early outgrowth and late increase in diameter of regenerating axons. Exp Brain Res. 2002)

∵血管柄付神経移植のほうが遊離神経移植よりも再生能力が高い。(Koshima I.: Experimental study of vascularized nerve grafts: Multifactorial analysis of axonal regeneration of nerves transplanted into an acute burn wound. J Hand Surg. 1985)

さらに、人工材料に神経の再生に必要な種々の栄養因子を組み込む試みもなされているが、本実験においても同様の栄養因子を静脈内に充填してさらなる実験を行っていくことも可能であると考えられた。

2. 研究の目的

①申請者の所属施設においては、臨床・研究の両分野においてマイクロサージャリーは大きなテーマのひとつである。申請者はラットを用いて基礎的な研究をするなかで、Wistar 系ラットの広背筋を栄養する胸背動静脈とその支配神経である胸背神経が近くを併走していることを利用して、胸背神経を胸背静脈へ吻合するモデルを作成した。このモデル作成後3ヶ月の時点で、広背筋筋体を神経血管束のみをつけた状態で、周囲より剥離挙上し、島状とした後に、神経刺激を行って見たところ、筋体が良好に収縮することが確認された(神経刺激は電気刺激でなくとも、鑷子で神経を挟む程度でも筋体は収縮した)。また、切除標本では HE 染色ではあるが、静脈の内腔包まれて再生軸索が存在することが確認されている。(参考:添付写真)。当時、実験はまだ preliminary な段階ではあったが、この事象自体は大変興味深いことであった。以降、本事象について、組織学的・電気生理学的な本現象の解明と、再生医学・再建医学的な有用性の検討を本研究の目的とした。

は神経筋刺激によりその支配領域を推定することは可能であり、神経刺激装置・筋力測定装置はすでに確立していた。しかし、求心性（感覚）神経についてはその支配領域およびその確認方法も不明である。神経支配領域を検討する方法として、順行性トレーサーとしてCholeratoxin β subunitを用いる方法を考え、その適正投与量・測定までの適正観察期間、および免疫染色の抗体の適正濃度の検討を行った。

上記で検討したトレーサーを用いて作成したモデルでの神経再生の確認を行った。

4. 研究成果

胸背神経・胸背静脈吻合モデルにおいてはもともと静脈が存在していた部分に神経線維の再生を認め、神経刺激により筋の収縮が認められたが、筋が軽度委縮している個体も認められた。

坐骨神経・大腿静脈吻合モデルではモデル作成後1か月を経過したラットの大腿静脈内には約1cmの神経延長が認められた。形態学的検討では、その神経内部には静脈の構造も残存しており、神経の再生と同時に膜構造のリモデリングが起きているのではないかということが推察された。本モデルをさらに長期間経過観察し、神経の伸長を確認した。本モデル作成後、1か月で約1cmの神経の伸長が確認できたが、3か月、6か月の経過でも肉眼での伸長距離は同様に1cm程度であった。

神経トレーサーを用いた検討については坐骨神経への投与量はマイクロシリンジを用いて5 μ lを投与、6日後に凍結切片を作成し、蛍光抗体法で染色するのがよいことが確認された。この方法で坐骨神経・大腿静脈吻合モデルに対してトレーサーを用いて染色を行ったが、遠位での蛍光は確認できなかった。

以上の結果から、神経は静脈内を成長し、筋を支配しうるが、期待できる伸長距離は短いことが分かった。

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)

[学会発表] (計0件)

[図書] (計0件)

[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

白石 知大 (SHIRAIISHI TOMOHIRO)

杏林大学 医学部・助教

研究者番号：40433726