

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25年 5月20日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591629

研究課題名（和文） 末梢神経の繰り返し圧迫が運動神経機能の回復と運動ニューロン数に与える影響

研究課題名（英文） Effects of repeated crush injuries on motor functional recovery of the sciatic nerve

研究代表者

加藤 博之 (KATO HIROYUKI)

信州大学・医学部・教授

研究者番号：40204490

研究成果の概要（和文）：日常における手足のしびれの原因として、手根管症候群、肘部管症候群、頸椎神経根障害、などの末梢神経の繰り返し圧迫による障害が多い。本研究では、ラット坐骨神経を反復圧迫するモデルを作成し、神経麻痺と回復機序を研究した。その結果、繰り返し圧迫が3回以上では筋線維径の回復遅延および神経線維の再生遅延により、最終的に正常運動機能が得られないことが示唆された。本研究は、末梢神経への反復圧迫回数がある限界回数を超えると不可逆性の運動障害が生じることを示した。

研究成果の概要（英文）：The present study was conducted to examine whether repeated crush injuries have significant effects on motor functional recovery of peripheral nerves. Repeated crush injuries of the sciatic nerve were inflicted on adult rats at 1-week intervals, and functionality of the sciatic nerve was assessed by the SSI, tibialis anterior muscle fibers size, and its fiber reinnervation. Compared to single crush injuries, which completely recovered by post-injury week 4, double crush injuries resulted in retarded, but complete recovery by post-injury week 6, whereas triple crush injuries resulted in marked retardation in the regenerative process with incomplete recovery during week 8 of the experimental period. Muscle fiber size for rats with triple crush did not recover to normal range at post-injury week 4, despite its normal size for rats with single crush. These results indicate that repeated crush injuries inhibit motor functional recovery of the damaged sciatic nerve, as evidenced by delayed and incomplete regeneration, atrophied muscle fibers, and delayed reinnervation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
2012年度	300,000	90,000	390,000
年度			
年度			
総計	1,700,000	510,000	2,210,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学

キーワード：筋・神経病学、絞扼性神経障害

1. 研究開始当初の背景

(1) 現代社会において、手根管症候群、肘部管症候群、頸椎神経根障害など末梢神経の繰

り返し圧迫による有連続性神経損傷が日常診療の多くを占める。しかし、臨床例に見られるような複数回の圧迫で惹起される病態、あるいは頸髄神経根と手根管部などの2カ

所の異なった部位による圧迫で生じる double crush syndrome (Upton & McComas, Lancet 1973) の病態を分析する実験モデルの報告はほとんどない。

2. 研究の目的

(1) 複数回の時間的に異なった圧迫を末梢神経に加えることにより、研究分担者の森泉らの単数回圧迫モデルを発展させて臨床例に類似した四肢末梢神経障害モデルをラットで確立することである。
 (2) さらに圧迫回数と神経機能回復の関係を明らかにすることである。

3. 研究の方法

12~14 週齢のラットの左臀部を切開し左坐骨神経を露出後、圧迫損傷を加えた。圧迫は鉗子にて 180 秒間行った (Figure 1)。損傷回数の違いにより、A~D 群のラットを作成した [A 群(control)、B 群(1 回圧迫)、C 群(1 週間隔で 2 回圧迫)、D 群(1 週間隔で 3 回圧迫)] (Figure 2)。

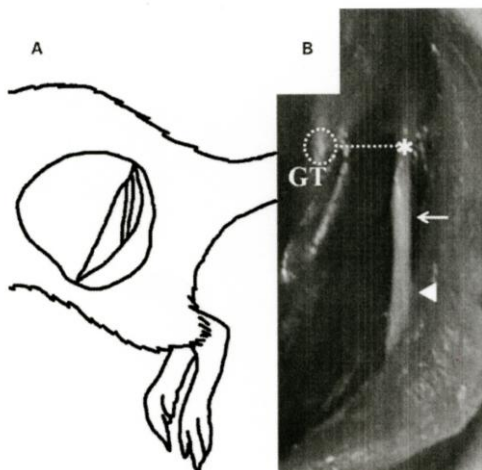


Figure 1 (A) Schematic drawing showing the left sciatic nerve of an adult rat. (B) Macroscopic view of the left sciatic nerve. An arrowhead indicates the first crush point in triple crush injuries; an arrow indicates the second crush point in triple crush injuries and the first crush point in double crush injuries; an asterisk indicates the crush point in single crush injury, and the final crush point in double and triple crush injuries.

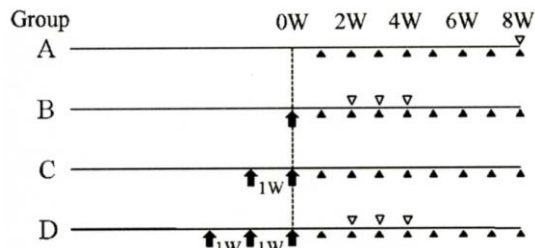


Figure 2 Schematic drawing showing the experimental paradigm. Arrows indicate the times of nerve crushing and dotted line indicates the time of the final crush. Black and white arrowheads indicate the times of functional assessment and muscular examination, respectively.

採取した foot print から第 1-5 指間距離と第 2-4 指間距離を測定し、Static Sciatic Index (SSI) 値を算出し運動機能を評価した。

筋繊維の直径

前脛骨筋を採取し縦切片を作成し HE 染色を行った。50 筋の筋繊維の最も直径の大きな中央部の直径を BIOREVO 顕微鏡 BZ-9000

(Keyence, Osaka, Japan) にて計測した。A~D 群のそれぞれの群における平均値を算出した。

神経筋接合部の観察

最終圧迫の 2、3、4 週後に採取した前脛骨筋から凍結切片を作成し、筋線維横径の計測と免疫染色による神経筋接合部の再支配率 (シナプトフィジン/ α ブンガロトキシン) の計測を行い、坐骨神経反復損傷による影響について評価した。

4. 研究成果

(1) SSI 値

B~D 群では、次第に SSI 値の回復が認められたが、B 群(1 回圧迫)に比較して C 群(1 週間隔で 2 回圧迫)、D 群(1 週間隔で 3 回圧迫)では回復の遅延が認められた。また、B 群では 4 週後に、C 群では 6 週後に SSI 値が正常域に達したのに対し、D 群では 8 週後においても正常域まで回復しなかった。B 群(1 回圧迫)の前脛骨筋の筋線維横径は、D 群(1 週間隔で 3 回圧迫)と比較すると、最終圧迫の 2、3、4 週後すべてにおいて有意に大きかった。D 群の神経筋接合部再支配率は 3 週後において B 群と比較して有意に低かった (Figure 3)。

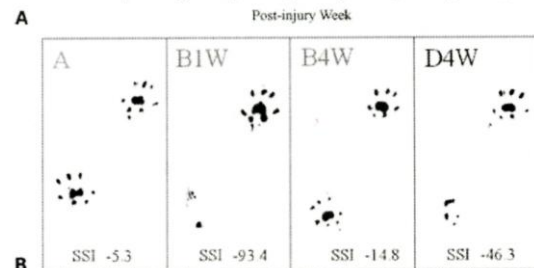
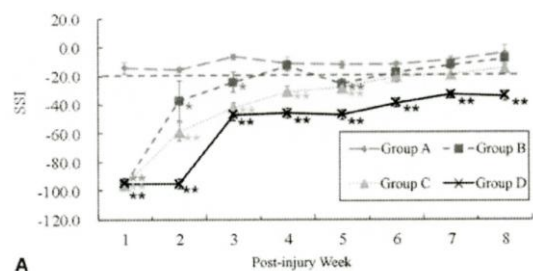


Figure 3 (A) Comparison of recovery determined by SSI in Groups A~D. SSI scores above the dotted line (-20) are considered to reflect normal function. Data are presented as mean \pm SEM, and single and double asterisks show statistical significance compared with Group A (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$). (B) Representative footprints taken from rats in Group A, Group B (B1W: post-injury week 1; B4W: post-injury week 4), and Group D (D4W: post-injury week 4).

A群の筋繊維直径は $20.4 \pm 0.3 \mu\text{m}$ であった。B群とD群の間には、すべての時期において、B群が有意にD群より大であった (Figure 4)。B群の筋繊維直径はD群の筋繊維直径に比して有意に大であった (Figure 4, 5)。最終圧迫後2週、3週においてA群とB群の間に有意差があった。

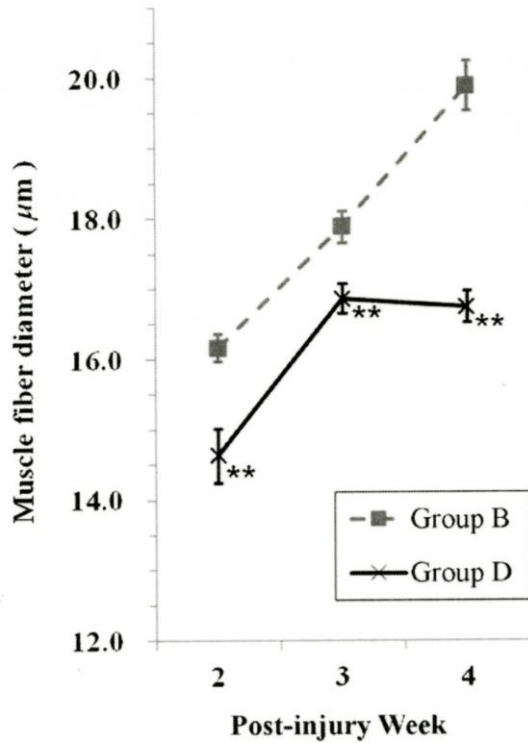


Figure 4 Muscle fiber diameters of tibialis anterior muscles in Groups B and D. Data are presented as mean \pm SEM. ** $P < 0.01$.

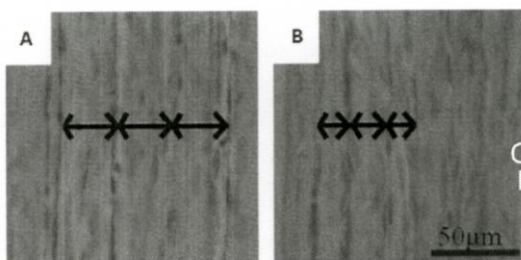


Figure 5 Representative photomicrographs of tibialis anterior muscles 4 weeks after the final crush in Groups B (A) and D (B). Double-headed arrows show muscle fiber size. Hematoxylin and eosin stain.

神経筋再支配

再生した軸索、神経筋接合部、終板が確認された (Figure 6)。

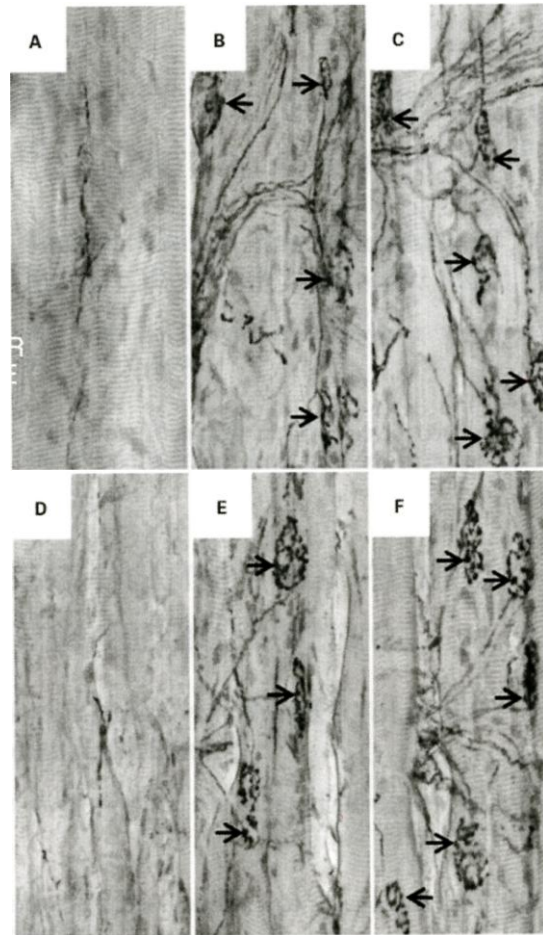


Figure 6 (A-F) 最終圧迫後のB群 (A-C), D群 (D-F) における synaptophysin 陽性神経終末 (矢印)。A, D: 2週、B, E: 3週、C, F: 4週

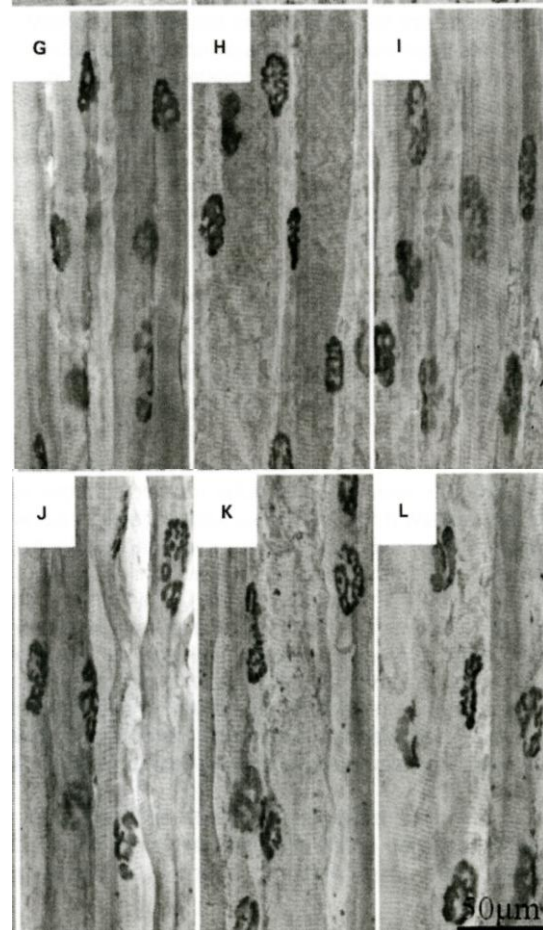


Figure 6 (G-L)最終圧迫後のB群 (G-I) , D群(J-K)における α ブンガロトキシン陽性運動終板. G, J:2週, H, K:3週, I, L:4週
神経筋接合部の再支配率 (シナプトフィジン/ α ブンガロトキシン)
 最終圧迫後3週において、D群の再支配率はB群に比べて有意に劣っていた(Figure 7)。

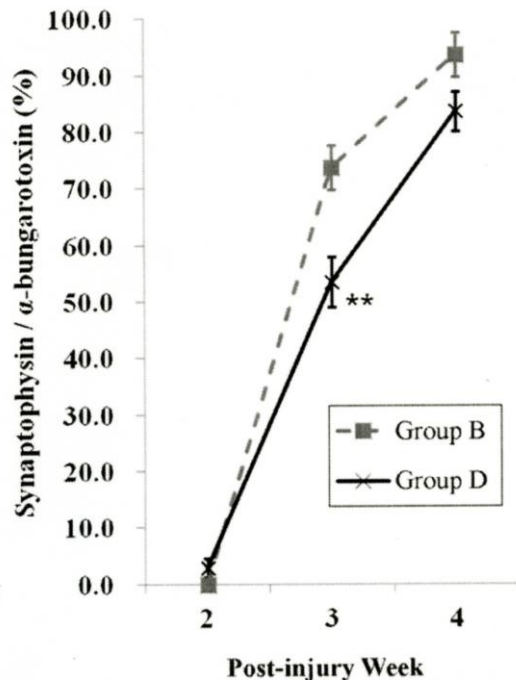


Figure 7 Ratio of synaptophysin-positive nerve terminals to alpha-bungarotoxin-positive AchRs in Groups B and D. Data are presented as mean \pm SEM. ** $P < 0.01$.

考察

坐骨神経に対する反復圧迫損傷では、1回の圧迫損傷と比較して運動機能の回復が遅く、3回以上の圧迫では筋線維径の回復遅延および神経線維の再生遅延により、最終的に正常運動機能が得られないことが示唆された。

神経に対する反復圧迫損傷に対する基礎研究はほとんどなく、今回の研究により反復損傷回数による機能低下が具体的に示された。

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2件)

① Itsubo T, Fukushima N, Kakegawa A, Yokouchi K, Kawagishi K, Kato H, Moriizumi T. Effects of repeated crush injuries on motor functional recovery of the sciatic nerve. *Neurol Res.*; 34(9):908-14, 2012, 査読有
 doi: 10.1179/1743132812Y.0000000089

② 伊坪敏郎, 掛川晃, 横内久美子, 中村恒一, 石垣範雄, 内山茂晴, 森泉哲次, 加藤博之. 坐骨神経多重圧迫に対する運動機能回復効果, 末梢神経. 20 巻 264-265, 2012, 査読有

[学会発表] (計2件)

① Itsubo T, Fukushima N, Nakamura K, Uchiyama S, Moriizumi T, Kato H. Effects of multiple nerve crushes on functional recovery of the sciatic nerve. 58th Annual Meeting of Orthopaedic Research Society Feb. 4-7, 2012, San Francisco, USA

② Itsubo T, Uchiyama S, Kato H. Effects of multiple nerve crushes on functional recovery of the sciatic nerve. 5th Combined Meeting of the Japanese and American Societies for Surgery of the Hand. March 26-29, 2011. Maui, Hawaii, USA

6. 研究組織

(1) 研究代表者

加藤 博之 (KATO HIROYUKI)
 信州大学・医学部・教授
 研究者番号: 40204490

(2) 研究分担者

内山 茂晴 (UCHIYAMA SHIGEHARU)
 信州大学・医学部・准教授
 研究者番号: 10242679

森泉 哲次 (MORIIZUMI TETSUJI)
 信州大学・医学部・教授
 研究者番号: 70157874

伊坪 敏郎 (ITSUBO TOSHIROU)
 信州大学・医学部附属病院・助教 (診療)
 研究者番号: 90467168