

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591786

研究課題名(和文) 拡散テンソル法を用いた末梢神経再生に対する非侵襲的診断法の確立にむけた基礎的研究

研究課題名(英文) Basic research for non-invasive evaluation of peripheral nerve regeneration by diffusion tensor imaging.

研究代表者

小田 良(Oda, Ryo)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：80516469

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、MRIの撮像法の一つである拡散テンソル法(DTI)を用いた末梢神経の損傷および再生に対する診断法の臨床応用へ向けた基礎的データの集積及び解析である。家兎を用いた解析の結果、DTIのパラメータは末梢神経損傷後の組織学的な構造変化と強く相関し、運動機能回復ともよく相関していた。以上の結果は小動物を用いた研究結果とも合致しており、DTIパラメータを用いた末梢神経損傷および再生の評価が、動物種や個体の大きさによらず有用であることを示した。本研究結果は、DTIパラメータを用いた末梢神経損傷および再生過程の評価が臨床応用可能であることを強く裏付けるものである。

研究成果の概要(英文)：Diffusion tensor imaging (DTI) represents a potential diagnostic tool for the peripheral nerve. However, more detailed information is needed for application of DTI in the clinical setting. In this study, peripheral degeneration and regeneration were evaluated using DTI-based analyses in a rabbit model. The changes in DTI parameters were compared to histological and functional changes after nerve injury. We used a high magnetic field (7.04 T) MRI system. Japanese white male rabbits were used as the model of sciatic nerve crush injury. Our results showed that DTI parameters were correlated with axon number and with motor function recovery, assessed with the toe-spreading index. This study clearly demonstrates the validity of applying DTI parameters to the in vivo evaluation of peripheral nerve regeneration. Furthermore, results suggest that DTI can be a potent tool for predicting the extent of functional recovery after peripheral nerve injury.

研究分野：整形外科

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：末梢神経 拡散テンソル法 神経再生

## 1. 研究開始当初の背景

末梢神経損傷は外傷や炎症など様々な要因で生じる。末梢神経損傷後に運動機能障害や知覚障害が残存することがあり、治療法を選択する上で末梢神経損傷を正確かつ早期に診断することは、きわめて重要である。従来、この末梢神経損傷の評価は、医師による診察で得られた理学所見や、筋電図などの電気生理学的検査を用いて行われてきた。しかし、末梢神経損傷の理学所見は、障害神経の放散痛を評価するもので、診断には経験を要する。電気生理学的検査は客観的な検査方法であるが、検査者の技量に左右されること、神経再生の指標が出てくるまで数か月の時間を要する場合があること、さらに、筋肉内に針を刺入する必要がある、侵襲的な検査であることが課題である。したがって、末梢神経損傷および再生を非侵襲的、客観的に評価できる診断法の確立が求められている。

核磁気共鳴法 (magnetic resonance imaging: MRI) は生体の器官や組織を評価する上で非常に優れた画像診断法である。また、単純 X 線や Computed Tomography (CT) とは異なり、放射線の照射を伴わない、非侵襲的な検査法である。その撮像技術の一つである拡散テンソル法 (diffusion tensor imaging: DTI) は、中枢神経領域において脳内や脊髄内の神経線束の方向性を評価できる手法として注目されている。神経軸索の細胞膜や軸索を取り囲む髄鞘によって水分子の拡散方向に偏りが生じる。DTI はこの水分子の拡散の方向性を解析し、画像化する技術である。また、DTI は水分子の拡散方向の偏りを数値化して評価できるため、定量的な評価が可能である。

このように、中枢神経領域において DTI は非侵襲的な神経線維の評価法として有用性が示されており、末梢神経に対する応用も試みられつつある。実際に、DTI を用いることで従来の MRI よりも鮮明に末梢神経が描出されることが示されている。しかし、末梢神経損傷および再生に対する DTI を用いた評価法の今後の臨床応用に際してはいくつか解決すべき課題が残されている。特に、末梢神経損傷後の DTI パラメータの変化が、どのような組織学的変化を反映しているかという点は、神経組織の摘出を伴うため、ヒトを対象とした研究は困難である。動物を用いた詳細な研究で、これらの課題を解決することで、DTI パラメータによる末梢神経損傷および再生の診断法を確立できる可能性がある。

## 2. 研究の目的

本研究は、拡散テンソル法による末梢神経の再生の評価を実用化するために、まだ解決できていない課題を克服することが目的である。

## 3. 研究の方法

(1) 家兎を用いて、末梢神経損傷後の DTI パラメータの経時的な変化を検討した。具体的には、家兎の右坐骨神経を絹糸を用いて 5 分間結紮を行った後に結紮を解除した。左側の坐骨神経は結紮を行わず、コントロールとした。7.04T 高磁場 MR 装置を用いて、坐骨神経損傷前および損傷 2、4、6、8 週後に撮像を行った。得られた画像から、坐骨神経の結紮部遠位 4mm における fractional anisotropy (FA)、axial diffusivity ( $\lambda_{\parallel}$ )、radial diffusivity ( $\lambda_{\perp}$ ) を算出した。FA は水分子の拡散異方性の指標となる値である。 $\lambda_{\parallel}$  は軸索に水平方向の拡散を示し、 $\lambda_{\perp}$  は軸索に垂直方向の拡散を示す。

(2) 坐骨神経損傷前および損傷 2、4、6、8 週後に坐骨神経を摘出し、組織学的評価を行った。摘出した坐骨神経の横断面を光学顕微鏡で観察し、単位面積当たりの軸索数および、一視野あたり髄鞘化している軸索が占有している面積率 (髄鞘化軸索面積率) で定量評価を行った。これらの数値と DTI パラメータの関連性を検討した。

(3) 末梢神経損傷後の運動機能回復を toe-spreading index (TSI) を用いて評価した。TSI は家兎の後頸部を把持して、垂直に落下させた際の足趾の姿勢反射を 4 段階で評価するものである。TSI は坐骨神経損傷前および損傷 2、4、6、8 週後に評価を行い、DTI パラメータとの関連性を検討した。

## 4. 研究成果

(1) 結紮側の FA は損傷 2 週、4 週後にコントロールに比べ有意に低下した。結紮側の FA は損傷 4 週後以降徐々に回復し、6 週後にはコントロールの値と有意差はなかった。 $\lambda_{\perp}$  は損傷 2 週後にコントロールと比べて有意に上昇していた。 $\lambda_{\parallel}$  は有意な変化を示さなかった。(図 1)

(2) 軸索数および髄鞘化軸索面積率は損傷直後に大きく低下し、その後徐々に回復した (図 2)。FA は軸索数、髄鞘化軸索面積率と強い相関を示し、 $\lambda_{\perp}$  は軸索数と相関を認めなかった (表 1)。

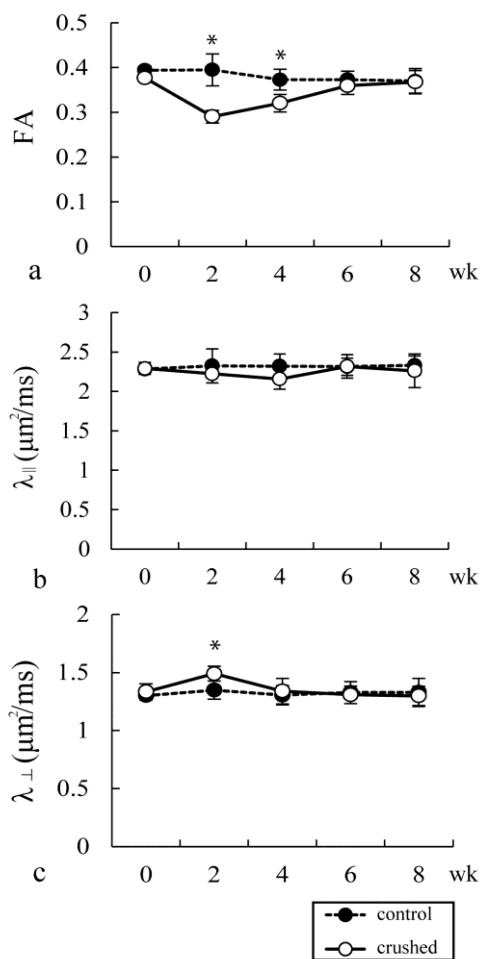
(3) TSI を用いた運動機能評価は、FA と強い相関を示した (表 1)。

(4) 本研究は、DTI を用いた末梢神経損傷および再生の評価法の臨床応用へ向けて、DTI パラメータと組織学的変化、運動機能回復の関連性を詳細に検討したものである。本研究結果は末梢神経損傷後の DTI パラメータが組織学的な回復の過程や運動機能回復と密接に関連していることを示した。さらに、本研究の結果は先に行われた小動物であるラットを用いた研究と矛盾しないものであり、動

物種や個体の大きさによらず DTI パラメータによる末梢神経損傷および再生の評価が可能であることを示した。したがって、これまで動物実験で得られた知見は、ヒトに対して臨床応用を行う際にも活用できると考える。

末梢神経損傷の診断に従来用いられてきた針筋電図検査や神経伝導速度検査が痛みを伴う検査であるのに対して、DTI は非侵襲的であり、臨床に応用する意義は大きい。また、DTI は定量評価が可能であるため、今後さらに詳細な検討を加えることで、末梢神経損傷後の予後予測もできる可能性があり、末梢神経領域の診断および治療に大きく貢献できると考えられると確信する。

(図 1)



(表 1)

	FA	$\lambda_{  }$	$\lambda_{\perp}$
軸索数	0.98 *	N.S.	-0.75
髄鞘化軸索面積率	0.85 *	N.S.	N.S.
TSI	0.71 **	N.S.	N.S.

(5) 今後の展望としては、臨床において手根管症候群や肘部管症候群などの比較的頻度の高い末梢神経障害を対象として、DTI 撮像

方法および評価法の確立を目指す。DTI は体の動きなどに大きく影響されるため、撮像を行う部位の動きを可及的に少なくする必要はある。DTI は従来の MRI に比して撮像時間が長くなるため、臨床応用においては、長時間、苦痛なく同じ姿勢を取れるような装具が必要となる。また、撮像方法の最適化を行い撮像に要する時間を可及的に短縮する必要はある。今後、これらの問題を解決することで DTI を用いた末梢神経評価法を広く応用できると考える。

## 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)

〔雑誌論文〕 (計 1 件)

① 森崎真介、小田良、藤原浩芳、岸田愛子、山崎哲朗、久保俊一

末梢神経再生における拡散テンソル法の有用性に関する検討: 日本手外科学会雑誌 28 巻 4 号 Page350-352 2012. 査読有

[https://www.jssh.jp/jssh\\_manager/pdfout?web=1&registcd=J-02000026](https://www.jssh.jp/jssh_manager/pdfout?web=1&registcd=J-02000026)

① Morisaki S, Ota C, Matsuda K, Kaku N, Fujiwara H, Oda R, Ishibashi H, Kubo T, Kawata M. Application of Raman spectroscopy for visualizing biochemical changes during peripheral nerve injury in vitro and in vivo. J Biomed Opt. 2013;18(11):116011. DOI: 10.1117/1.JBO.18.11.116011. 査読有

〔学会発表〕 (計 12 件)

① 勝見泰和、河合生馬、藤原浩芳、小田良、久保俊一

医療裁判からみた注射による末梢神経損傷の検討: 第 55 回日本手外科学会 2012.04.19 横浜

② 遠山将吾、藤原浩芳、小田良、奥田良樹、久保俊一

副神経損傷に対する治療: 第 55 回日本手外科学会 2012.04.19 横浜

③ 山崎哲朗、小田良、藤原浩芳、森崎真介、生駒和也、久保俊一

家兎末梢神経損傷モデルにおける拡散テンソル法を用いた in vivo 末梢神経再生の評価: 第 27 回日本整形外科学会基礎学術集会 2012. 10. 26 名古屋

③ 小田良、藤原浩芳、森崎真介、久保俊一  
末梢神経障害に対する新しい画像診断: 第 85 回日本整形外科学会学術総会 2012. 05. 17 京都

⑤ 勝見泰和、河合生馬、藤原浩芳、小田良、

久保俊一

整形外科手術における末梢神経損傷と医療安全対策：第 120 回中部日本整形外科学会災害外科学会学術集会 2013.04.05 和歌山

⑥藤原浩芳、小田 良、奥田良樹、玉井和夫、久保俊一

橈骨神経部分移植術を用いた肩機能再建：第 86 回日本整形外科学会学術総会 2013.05.23 広島

⑦森崎真介、藤原浩芳、小田 良、山崎哲朗、勝見泰和、久保俊一

ラマン分光顕微鏡による末梢神経の再生評価：第 24 回日本末梢神経学会学術集会 2013.08.23 新潟

⑧山崎哲朗、藤原浩芳、小田 良、森崎真介、祐成 毅、原佑 輔、林 成樹、生駒和也、久保俊一

家兎末梢神経損傷モデルにおける拡散テンソル法を用いた in vivo 末梢神経再生の評価 組織学的評価および運動機能評価との検討：第 28 回日本整形外科学会基礎学術集会 2013.10.17 千葉

⑨市丸宏三、藤原浩芳、森崎真介、小田 良、金谷文則、久保俊一

直流電気刺激による軸索再生促進効果の分子機構解析：第 28 回日本整形外科学会基礎学術集会 2013.10.17 千葉

⑩Morisaki S, Ota C, Matsuda K, Fujiwara H, Oda R, Kubo T, Kawata M.

Application of Raman spectroscopy for visualizing biochemical changes during peripheral nerve injury in vitro and in vivo. Neuroscience 2013. 2013.11.9 San Diego, USA.

⑪Yamasaki T, Fujiwara H, Oda R, Mikami Y, Ikeda T, Nagae M, Shirai T, Morisaki S, Ikoma K, Masugi-Tokita M, Kawata M, Kubo T.

In Vivo Evaluation Of Sciatic Nerve Regeneration Of The Male Rabbit With Diffusion Tensor Imaging (DTI) : Correlation With Histology And Behavior. : Orthopaedic Reserch Society Annual meeting 2014. New Orleans, USA. 2014.03.17

⑫山崎哲朗、小田 良、藤原浩芳、土田真嗣、久保俊一

家兎末梢神経損傷モデルにおける拡散テンソル法を用いた in vivo 末梢神経再生の評価：第 57 回日本手外科学会学術集会 2014.04.17 沖縄

(1) 研究代表者

小田 良 (ODA, Ryo)

京都府立医科大学・医学研究科・助教  
研究者番号：80516469

(2) 研究分担者

藤原 浩芳 (FUJIWARA, Hiroyoshi)

京都府立医科大学・医学研究科・講師  
研究者番号：90381962

(2) 連携研究者

なし ( )