

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 28 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592717

研究課題名(和文) 神経再生軸索の分散・収束に関する実験的研究

研究課題名(英文) Experimental study of dispersion and convergence of the regenerated nerve axon

研究代表者

上田 和毅 (UEDA, KAZUKI)

福島県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：40160163

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：顔面神経など分枝に富む神経の再建においては、複数の神経を利用して多角的に神経再生を図ることが必要である。利用できる神経源は限られているため、真に有効な神経縫合が求められる。本研究では、直径の異なる神経どうしの縫合、分枝の取り扱い方の2点に絞ってラットを用い研究をおこなった。その結果、神経縫合後の末梢側の神経再生は、最終的には末梢側の元々の軸索受け入れ可能性に負うところが大きく、末梢側には直径の大きいdonor nerveを選ぶことが望ましい、臨床的には、障害を受けた神経や細い神経にいかんにか新鮮なdonor nerveを縫合しても効果が期待されない可能性がある、ことが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：For reconstruction of nerve with many divergence such as the facial nerve, grafting of the plural nerves is necessary. The purpose of this experiment is to clarify how to treat the nerve suture from the standpoint of dispersion and convergence of the regenerated axons. This includes two experiments using rats: one is concerning to nerve suture with different diameter and another is to end-to-side anastomosis. As a result, the followings were clarified.

1. The axon regeneration depends more on the demand capacity nerve than on the supply capacity of the recipient nerve. Given the nerve with a large diameter on the recipient side, a good regeneration may be expected even if the diameter is small on the donor side. 2. The additional nerve suture in the end-to-side fashion may not supply effectively the regenerated axon to the recipient nerve. Accordingly, neural supercharge technique should be cautious to introduce.

研究分野：形成外科学

キーワード：神経再生 末梢神経 神経端側縫合

1. 研究開始当初の背景

神経の機能再建外科において最も肝要であるのは、神経の効果器官である筋肉あるいは感覚受容器に神経再生軸索をできるだけ早くかつ多く到達させることである。血管の再建であれば吻合直後から劇的な血流の改善が見込まれるが、神経縫合あるいは神経移植後の再生は遅遅としたものである（神経の再生速度は1日1mm以下であり、また神経縫合部を再生軸索が通過するのに1カ月近くを要する）。その間、肝腎の筋肉や感覚受容器は廃用性萎縮に陥る傾向があり、たとえ再生軸索が到達しても実際に得られる機能回復は満足すべきものとは言い難い。こうした苦境を打開する方策としては、再生軸索の伸長速度を速めることと再生軸索数を増加させることがあげられる。近年細胞増殖因子などの導入により細胞レベルで神経線維の増殖を促す研究が盛んに行われているが、それらは外科手技的にはあらたな方法を提供するものではない。一方、外科的には、本来の神経による再支配が成立するまでの間、別の神経によって筋肉を再神経支配させておく方法（成長するまで「子守」させておく、という比喻から babysitter 法と名付けられた）が考えだされ、一時脚光をあびたが、単一の donor nerve を用いるためか、期待したほどの効果が得られていない。われわれも2006年より科学研究費の補助を受け、神経を他の神経の側面に縫合する流入型の神経端側縫合法の実験的研究に取り組んできた。その結果、神経の側面に縫着された神経断端から神経の中へ再生軸索が進入しうることを確認された。また、神経を直接筋肉内に埋め込む方法によりある程度の脱神経防止効果が見られることを実験的に証明した[1]。この方法は臨床的にも非常に有用であるが、効果の及ぶ範囲が神経を埋め込んだ部分の筋肉に限定される点が難点であり、大きな筋肉に対する効果は限定的とならざるを得ない。こうした行き詰まりの中、Viterbo が端側型神経縫合法に新たな展開をもたらしたのを受けて、障害された神経に複数の神経移植を行い、neural signal を増強させる術式（neural signal augmentation）が提案された[2]。この方法は、神経再生と再生軸索の関係は dose-dependant であるはずだという optimistic な仮説に基づくものではあるが、神経外科に携わる外科医にとっては非常に魅力的な方法である。しかし、方法に関しては各施設でとに

かく数多くの神経移植を付加する形の術式がおこなわれているだけで、最良、最適な方法が確立されていない。神経付加にはかならず donor nerve を必要とし、「だめでもともと」の術式ではない。

複数の神経を単一の神経に縫合する手技には、donor nerve の再生軸索が recipient nerve にどのように収束、分散するか知識が欠かせない。今回の研究では、いかなる形の神経縫合法が donor nerve からの再生軸索をもっとも効率よく末梢側に到達させるかを明らかにしたい。

[1] Kazuki Ueda, Kiyonori Harii: Prevention of denervation atrophy by nerve implantation. *J Reconstr Microsurg*.20:545-53, 2004.

[2] Yamamoto Y, Sekido M, Furukawa H, Oyama A, Tsutsumida A and Sasaki S: Surgical rehabilitation of reversible facial palsy: facial-hypoglossal network system based on neural signal augmentation/neural supercharge concept. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2007;60(3):223-31.

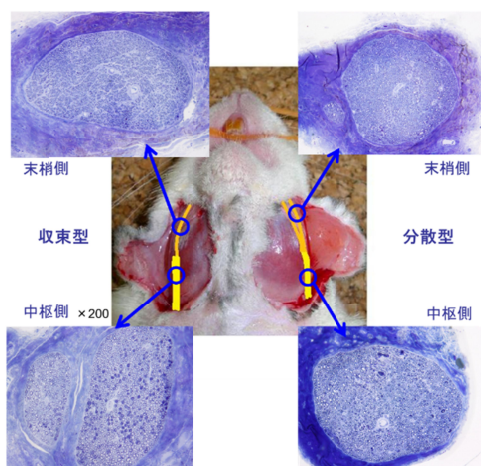
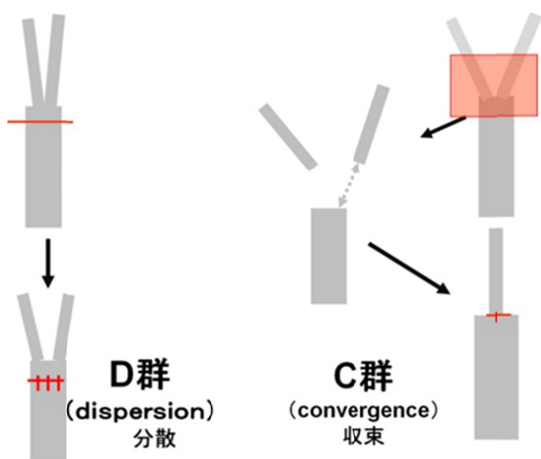
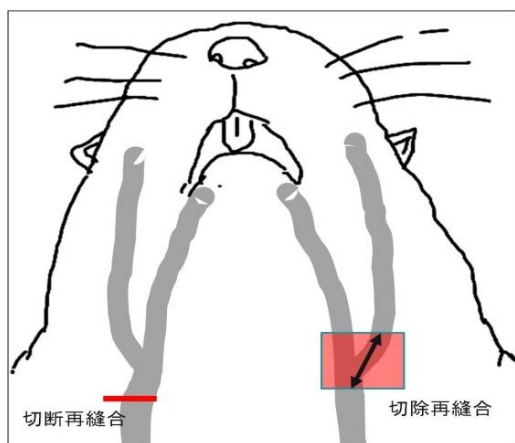
2. 研究の目的

顔面神経損傷など細く分岐に富む神経の再建においては、神経の直径が異なる神経と神経とを複数つなぎあわせなければならないことが多い。そうした場合、単に端々縫合、端側縫合といっても多彩な縫合法が選択可能であり、術者の好みに従って漫然と行われているのが実情である。細い神経の再建においては、一針のかける位置の違いや数ミリの縫合位置の違いが成功、不成功を分ける。ラットの顔面神経を用いて、微小神経縫合手技の **gold standard** を提案したいと考え、この研究を行った。

3. 研究の方法

(1) 実験 **端々縫合**における再生軸索の分散と収束の検討

Wistar 系ラットの顔面神経頬骨枝と頬枝をその共通幹からの分岐部周辺で剥離露出し、同一ラットの一側で共通幹の部で切断し再縫合し、(分散 **Dispersion モデル**)、他側では切断した共通幹を頬骨枝のみと縫合した(収束 **Convergence モデル**)。その後、一定の待機期間(12週)を経た時点で、末梢側の神経の評価を行った(nは各30)。



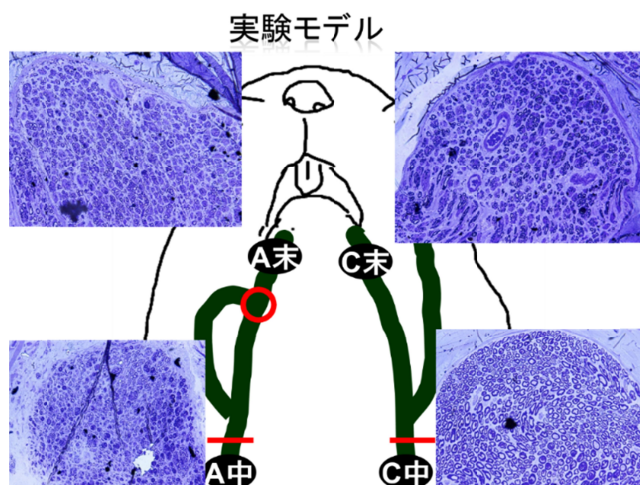
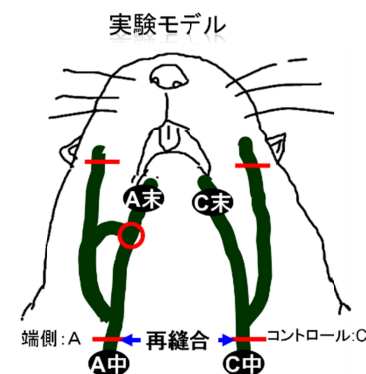
(2) 端側縫合における再生軸索の収束の検討

Wister系ラット10匹の顔面神経頬枝と頬骨枝を露出し、頬骨枝を切離し、その中枢端一側においては同根の頬枝に端側縫合(loop群)、他方は切離した(非loop群)ままとした。同時に頬枝と頬骨枝の合流部より中枢において神経を切断し、直

ちに10-0ナイロンにて再縫合した。術後6週間で縫合部の中枢と末梢で神経を採取した。

評価：2%グルタルアルデヒド固定、エポン包埋の後トリイジンプール染色。

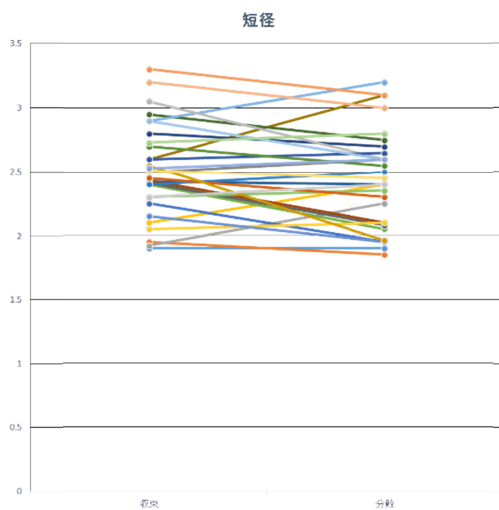
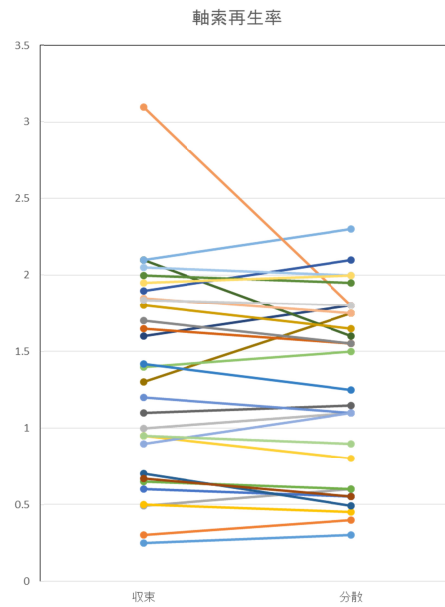
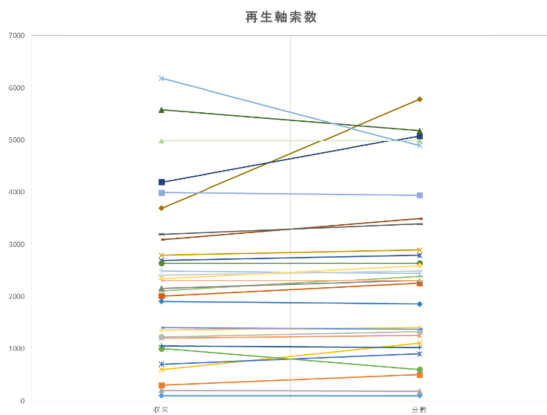
神経断端の軸索の数、短径を、画像解析ソフトImage Jで計測した。優位差検定はウイルクソンで行った。



4. 研究成果

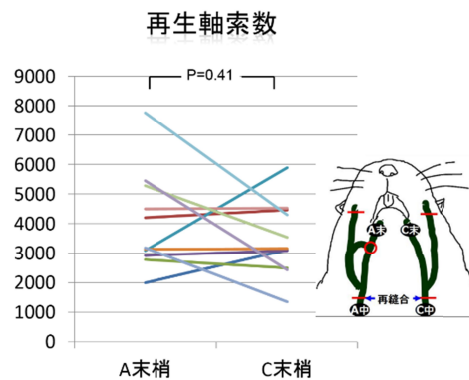
(1) 実験 端々縫合における再生軸索の分散と収束の検討

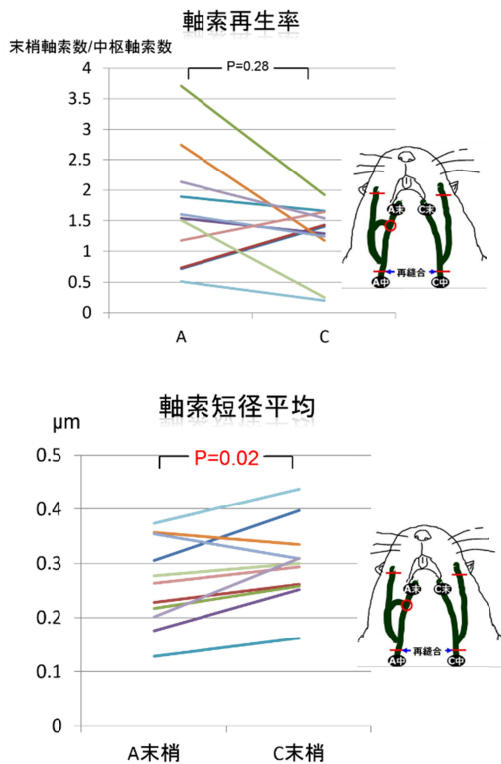
分散モデル群と収束モデル群の間で再生軸索数、軸索再生率、再生軸索短径に関して統計的有意差を認めなかった。



(2) 実験 **端側縫合**における再生軸索の収束の検討

末梢の再生軸索数ならびに軸索再生率（末梢軸索数を中枢軸索数でわったもの）に関しては、loop 群と非 loop 群との間に有意差は認められなかったものの、loop 側で若干高値を示す傾向が見られた。一方、再生軸索の短径については、loop 群において有意に小さかった。



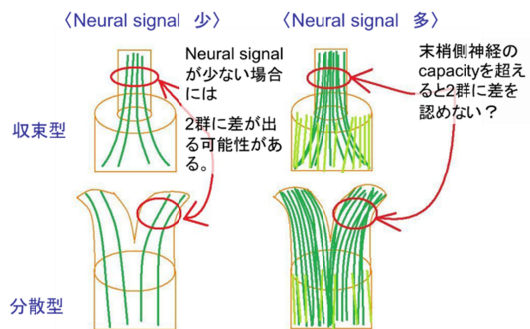


(3) 考察

分散型縫合であっても実質的には再生軸索は分散されず、縫合部より末梢側に達する再生軸索の量は収束型縫合と差がなかったという結果となった。この解釈において留意すべき点は、**末梢側神経の再生軸索の受け入れ能力には主としてその直径に応じて上限が存在する可能性がある**ということである。いかに強い neural signal が流入しようと上限が存在するのであれば、末梢側の再生軸索の量は同じであると思われる。今回検討したモデルは神経切断後直ちに再縫合されているので、かなりの量の neural signal が末梢側の神経に流入したと考えられ、分散型縫合であっても、分散の結果減少された量が受け入れ側の capacity を上回っていたために収束型との間に差が見られなかった可能性がある。今回の結果では、一定量以上の neural signal が流入した場合には二つの縫合形式に間に差が出ない可能性があるということにとどまる。

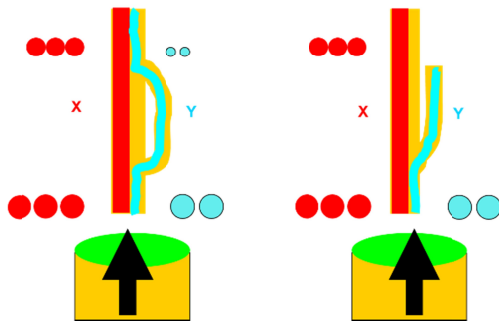
したがって、神経縫合後の末梢側の神経再生は、最終的には末梢側の元々の軸索受け入れ可能性に負うところが大きいと考えられた。つまり神経の断面積が重要であり、神経移植を行う際には末梢側には直径の大きい donor nerve を選ぶことが望ましいと言える。神経縫合後の軸索再生は供給

側の量よりも受容側の capacity に左右される傾向にあり、中枢側が細い神経であっても末梢側が太ければかなりの機能回復が期待される。



神経端側縫合により、recipient nerve に再生軸索が付加されることに関しては、近年、幾多の報告がなされている¹。始めは、donor nerve の側壁に開けた epineural window から再生軸索が伸長する現象に注目が集まったが²、その後、それとは逆に、recipient nerve の側壁に開けた epineural window から再生軸索が伸長する現象も注目を浴びようになった³。その結果、不全麻痺の症例に対し、罹患神経に別の神経を端側縫合により繋ぐことで、患部への innervation を増強しようとする臨床応用が報告された⁴。今回のわれわれの実験は、そのような再生軸索の付加が establish された神経に果たして有効であるか否かを、別の実験系により確かめたものである。結果は、再生軸索の伸長は認められたものの、統計的に有意なほどではなく、また、増加した再生軸索は細いものが多かった。

臨床的には、顔面神経麻痺の再建において、障害を受けた神経（不全麻痺側の神経）や細い神経にいかにかたい fresh な donor nerve を縫合しても効果が期待されない可能性がある。つまり、近年導入されて行われるようになった前述のような神経信号の付加手技の適応拡大には慎重であるべきかと考えられる。



4. 結論

一定量以上の neural signal が流入する場合には、末梢に達する再生軸索の最大量は、末梢側の神経の capacity がそれを決めてしまうので、神経の縫合法(分散か、収束型か)の影響を受けない。健全な神経、あるいは受傷後、時間の経過した神経に、端側型神経縫合により神経信号の増強を図る試みは徒勞に終わる可能性が大である。今後は neural signal の量を少なくした recipient nerve を持つモデルを用いた実験を行い、比較検討することが必要と思われる。

¹ Viterbo F, Amr AH, Stipp EJ, Reis FJ. End-to-side neurorrhaphy: past, present, and future. *Plast Reconstr Surg.* 2009;124(6 Suppl):e351-8.

² **Viterbo F**, Trindade JC, Hoshino K, Mazzoni Neto A. End-to-side neurorrhaphy with removal of the epineurial sheath: an experimental study in rats. *Plast Reconstr Surg.* 1994 Dec;94(7):1038-47.

³ Matsuda K, Kakibuchi M, Fukuda K, Kubo T, Madura T, Kawai K, Yano K, Hosokawa K. End-to-side nerve grafts: experimental study in rats. *J Reconstr Microsurg.* 2005;21(8):581-91.

⁴ **Yamamoto Y**, Sekido M, Furukawa H, Oyama A, Tsutsumida A, Sasaki S. : Surgical rehabilitation of reversible

facial palsy: facial-hypoglossal network system based on neural signal augmentation/neural supercharge concept.

J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2007;60(3):223-31. Epub 2006 Aug 7.

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計0件)

[学会発表] (計2件)

加藤基 上田和毅 梶川明義 大河内真之 望月靖史 館一史、ラットモデルでの神経端側縫合の検討 - 運動神経断端は同根の近傍筋枝に端側縫合すべきか?、第22回日本形成外科学会基礎学術集会、2013年11月7日、新潟

阪場貴夫、上田和毅、大河内真之、斉藤昌美、望月靖史、浅井笑子、大河内裕美、縦山真紀、神経の再生軸索の分散と収束の実験的検討、第22回日本形成外科学会基礎学術集会、2013年11月7日、新潟

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上田 和毅 (UEDA, Kazuki)
福島県立医科大学・医学部・教授
研究者番号 40160163