

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 7 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25462787

研究課題名(和文) 移植神経軸索再生と移植床および移植組織の血流量との関連についての定量的解析

研究課題名(英文) The quantitative evaluation of relationship between the axonal regeneration of the transplanted nerve and the blood flow volume of the nerve and the grafted site.

研究代表者

田中 顕太郎 (TANAKA, Kentaro)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・特任助教

研究者番号：20569503

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ラット坐骨神経弁をvascularized nerve graftモデルとして作成した。神経移植部位に放射線照射し低血流癒痕組織を作成する計画であり、本研究の最大の特徴であったが、本学の放射線照射装置が使用不能となり大幅な実験計画の変更を余儀なくされた。代替実験として、100%エタノール液を移植部位に注射することで癒痕組織の作成を試みた。これらのモデルを用いて神経移植を行い、軸索再生の電気生理学的評価を行った。しかし100%エタノール液は注射後も注射部位からの逆流が起こり、移植部位だけでなく移植神経にも障害を及ぼした。そのため代替実験では適切な条件の作成が困難であるという結論に至った。

研究成果の概要(英文)：The sciatic nerve graft was harvested as a vascularized nerve graft in rat model. Low blood flow scar tissue will be developed in the nerve-grafted area by an exposure to radiation in this experimental design, and it is the greatest characteristic of this study. But the irradiation device in our institution broke down and became non-usable. We were forced to make a significant change in our experimental plan, and tried to cause a scar tissue formation by injecting 100% ethanol into the nerve-grafted area as an alternate method. The nerve grafting experiments were performed in these rat models, and the axonal regeneration of the transplanted nerve was evaluated electrophysiologically. But the injected 100% ethanol diffused from the injected site after operation, and produced permanent damage not only to the grafted site but also to the transplanted nerve itself. Therefore we came to the conclusion that the alternative experiment was unsuitable for making an adequate conditions.

研究分野：形成外科学

キーワード：神経移植 移植神経の血流量 移植床の血流量 軸索再生 放射線照射 組織エタノール注入 神経再生の評価 再建手術

1. 研究開始当初の背景

当研究室では悪性腫瘍切除後や外傷後などの様々な組織欠損に対して、組織移植を用いた再建手術を行っており、その際に顔面神経を代表とした神経損傷を伴う症例があり、神経移植を行っている。しかし、悪性腫瘍切除時には術前後の放射線照射を行うことや、骨上などの血流の乏しい移植床である症例もある。そのような条件下では神経移植部位の癒痕形成が促進されることが予想され、軸索再生が阻害されることとなる。そのため、移植神経そのものの血流を保った状態の vascularized nerve graft が推奨されるが、今までの研究では移植床の血流に焦点を充て、放射線照射野での基礎実験報告はなかった。

2. 研究の目的

神経移植術式は血流を保った状態の移植神経である vascularized nerve graft と血流の無い non-vascularized nerve graft に分けられる。本研究の目的は移植神経と移植床の血流の有無の関係が神経再生に与える影響を、ラットを用いた動物実験で明らかにすることである。

3. 研究の方法

本研究の実施に際しては本学実験動物センターの改修工事期間と重なってしまったこと、移植床作成に欠かせない放射線照射装置の故障および最終的には復旧不可となったことで実験方法に大幅な制約が加わってしまった。このような制限下でできる限りの成果を上げるべく実験を進めた。

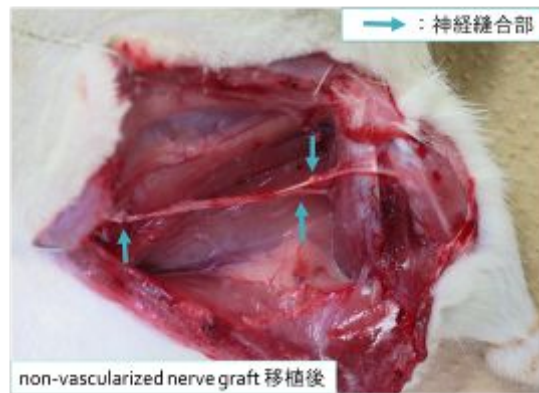
まずは SD ラットの坐骨神経を用いた vascularized nerve graft の作成を行った。過去の報告に基づき、後大腿動脈からの血流を保持して坐骨神経を血流付きで切り離した。



実際の血流の有無についてはレーザー Doppler 血流計を用いて確認することとした。Dopplerプローベ先端部の血流を感知する部位が 1mm 径しかないため、手動では誤差が大きくなってしまいうため、実際の測定時には精密な固定具を購入して用いることで、安定した測定が可能となった。

non-vascularized nerve graft は

vascularized nerve graft と同部位の神経をそのまま切断し作成した。



しかしながら、この時点で放射線装置の故障が起こり、長く修理のため待機していたが、最終的に復旧はできないと判断された。そのため実験計画の大幅な修正が必要となった。代替案として線照射装置が考えられたが、そもそも今回の実験計画では局所照射が可能な X 線照射装置を用いる予定であり、移植神経は保護し移植床のみの照射を行うことが重要であった。しかし線照射については全身照射のみの装置しか確保できず、また透過性が高く特定部位のみの遮蔽も困難であったため断念し、放射線照射以外で移植床作成を試みることにした。

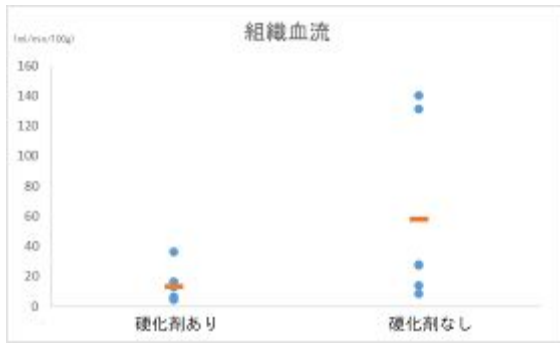
次に 100%エタノールを用いて癒痕作成を試みた。臨床的にも極めて効果が強い血管塞栓用の硬化剤であり、今回の血流の乏しい組織作成には適していると考えられた。坐骨神経周囲に局所注射したところ、すぐに組織の変性が見て取れる状態で、4 週後に再開創し血流の有無について確認した。



周囲組織は癒痕組織が強固に形成されており、血流の低下も認められたが、坐骨神経に対しても強い障害が肉眼的に確認できた。注射後の組織からの逆流、栄養血管の塞栓などが考えられ、注射薬剤量の減量・希釈および注射後の十分な洗浄を行い、神経への障害を最低限に留めるよう配慮した。

4. 研究成果

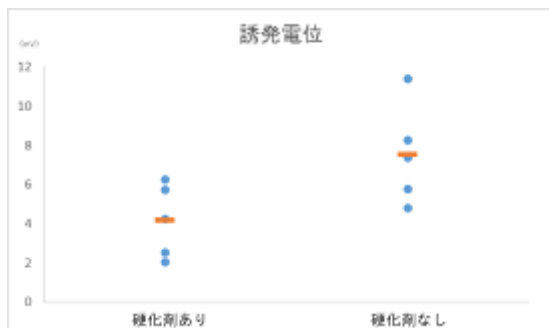
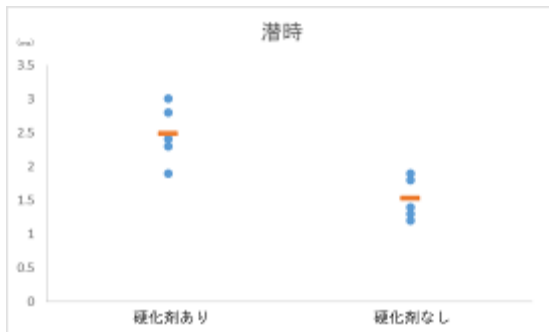
移植床への 100%エタノール液注射後 8 週後の組織血流は低下傾向を認めた。



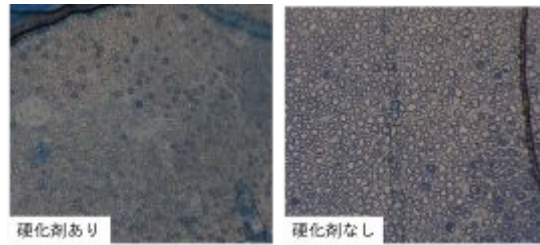
しかし前述したように、移植床と同時に移植神経を巻き込むように強固に癒痕形成しており、少なからず神経への障害が懸念された。



電気生理学的評価では周囲にエタノール注射を行った坐骨神経の潜時・誘発電位は、注射をしていない坐骨神経に比べて明らかな悪化を認めた。



また組織学的にも軸索数の減少、軸索径の大小不動が起きており、神経損傷は明らかであった。



このため神経移植を行うにあたり既に障害を生じており移植に適しているとは判断できず、本方法による実験を断念せざるを得なかった。

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

田中 顕太郎 (TANAKA, Kentaro)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・特任助教

研究者番号: 20569503

(2) 研究分担者

岡崎 睦 (OKAZAKI, Mutsumi)

東京医科歯科大学・医歯学総合研究科・教授

研究者番号: 50311618

(3)連携研究者

三浦 雅彦 (MIURA, Masahiko)
東京医科歯科大学・医歯学総合研究科・教授
研究者番号：10272600

若林 良明 (WAKABAYASHI, Yoshiaki)
東京医科歯科大学・医歯学総合研究科・講師
研究者番号：00431916

王 魏 (OU, Gi)
東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・助教
研究者番号：60451944

市野瀬 志津子 (ICHINOSE, Shizuko)
東京医科歯科大学・医歯学研究支援センター・助教
研究者番号：60014156

(4)研究協力者

なし ()