

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 17 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25861321

研究課題名(和文)放射線誘発性末梢神経障害に対する新規治療開発

研究課題名(英文)New strategy for radiation-induced peripheral neuropathy

研究代表者

四宮 陸雄 (SHINOMIYA, RIKUO)

広島大学・病院(医)・病院助教

研究者番号：80581454

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：90GyのX線をラット坐骨神経のみへ照射した群と手術手技のみを行ったsham群の2群を作製し、放射線の神経への直接的な作用を検証した。機能評価として照射後4, 8, 12, 16, 20, 24週でSFI(Sciatic Functional Index)を計測したが、2群間に有意差は生じなかった。24週で行った電気生理学検査ではX線照射群で振幅の低下を認め、伝導障害を生じていた。組織学的にもX線照射群で軸索変性所見を認め、部分神経障害モデルを確立できることが示された。しかし、この放射線誘発性末梢神経障害モデルを用いた端側縫合法による神経移植の有用性については評価できなかった。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to investigate the direct effects of radiation on rat sciatic nerves. In the radiation group (R group), only the exposed sciatic nerve was irradiated with 90 Gy X-radiation. In the sham group (S group), the surgical procedures were completed without radiation. The sciatic functional index (SFI) result demonstrated no statistical differences between the R group and S group. However, even though the surrounding soft tissue was not irradiated, the macroscopic and histological findings of the R group at 24 weeks after radiation showed scar formation around the radiated nerve. These findings on radiation neuropathy indicate that neurohumoral factors derived from the radiated nerve itself may cause fibrosis. The electromyographic and histological examination showed axonal degeneration in the R group. It is believed that this study is a first step toward identifying an accurate pathophysiology for intractable radiation-induced peripheral neuropathy.

研究分野：整形外科学、手外科

キーワード：放射線誘発性末梢神経障害 部分神経障害 端側縫合 神経移植

1. 研究開始当初の背景

(1)放射線誘発性末梢神経障害

放射線療法を行った場合、放射線に暴露された末梢神経の支配領域に痛み、しびれ、筋力低下を生じることが知られている。臨床症状から、この放射線誘発性末梢神経障害は神経の部分障害により生じるものと考えられているが、その機序は解明されておらず、治療に苦渋することが多い。その原因として、本疾患の動物実験モデルが開発されていないことが挙げられる。このため治療の開発するに当たり、動物実験モデルの確立は必須と考えられる。

動物実験モデルが確立されれば、難治性の放射線誘発性末梢神経障害の発生機序や治療に関する研究が促進されることが期待できる。

(2)端側神経縫合法による神経移植

一般的に一定距離以上の神経欠損が生じた場合、端端縫合による神経移植が治療の選択肢の一つになる。しかし、放射線誘発性末梢神経障害のように神経欠損を認めず、部分神経障害を呈している場合、端端縫合による神経移植は適応とならない(本法により完全麻痺を作り出すことになるため)。つまり、端側縫合法による神経移植は端端縫合による神経移植と異なり、末梢神経の障害部位を温存した状態で神経移植を行うことができ、部分神経障害に対する手術治療法の一つになりうる。

2. 研究の目的

ラット坐骨神経を用いて放射線誘発性末梢神経障害の動物モデルを作成し、同モデルに端側縫合法を用いた神経移植を行うことで、難治性の本疾患に対する新しい治療法を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

(1)放射線誘発性末梢神経障害モデルの作製

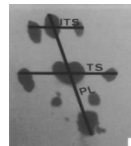
Lewis ラットの坐骨神経を露出後、手術用顕微鏡下に神経を剥離 X 線の照射範囲を 1cm とし照射範囲の両端の神経上膜に 8-0 ナイロン糸でマーキング。周囲の組織が X 線に暴露されないように剥離した坐骨神経の下層に鉛板を挿入、さらに周囲の皮膚や筋肉組織をすべて鉛で被覆。

照射群(R 群)では X 線照射装置を用いて 90Gy の照射を行った。Sham 群(S 群)では手術手技のみを行った後、X 線照射は行わず、15 分間放置。その後、両群ともに鉛板を抜去し閉創した。

機能的・組織学的評価

歩行機能：R 群,S 群ともに、照射前、照射後 4,8,12,24 週で Sciatic Functional Index を用いて歩行解析を行った。

$$SFI = -38.3 \left(\frac{EPL - NPL}{NPL} \right) + 109.5 \left(\frac{ETS - NTS}{NTS} \right) + 13.3 \left(\frac{EIT - NIT}{NIT} \right) - 8.8$$



電気生理学的評価：X 線照射後 24 週で照射部中枢の坐骨神経を電気刺激し筋誘発電位測定による電気生理学的検査を行った。

組織学的評価：X 線照射後 24 週で電気生理学的評価を施行した後、坐骨神経を採取。エポキシ包埋し、X 線照射部より中枢、X 線照射部中央、X 線照射部より末梢の 3 部位に分け、トルイジンブルー染色を行い軸索の組織学的評価を行う。組織学的評価としては 1mm²あたりの軸索数の評価、軸索の径と個数を用いたヒストグラムの評価、神経束断面積の中で軸索面積が占める割合である軸索充填密度を評価。

(2)放射線誘発性末梢神経障害モデルに対する端側縫合法を用いた神経移植の有用性の検討

(1)で作製した放射線誘発性末梢神経障害モデルを用いて端側縫合法を用いた神経移植の有用性について検討する

照射部を避け、照射部より中枢-照射部より末梢間に端側縫合法による同種神経移植を施行する。端側縫合の際は、recipient 神経上膜に小さな開窓を作成する。

機能的・組織学的評価

歩行機能：神経移植後 24 週で Sciatic Functional Index を用いて歩行解析を行う。

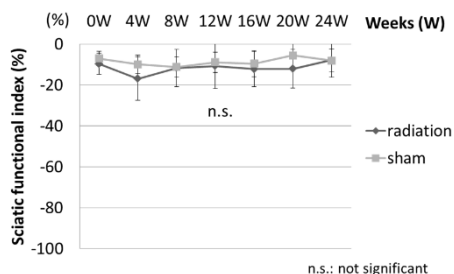
電気生理学的評価：神経移植後 24 週で照射部中枢の坐骨神経を電気刺激し筋誘発電位測定による電気生理学的検査を行う。

組織学的評価：神経移植後 24 週で電気生理学的評価を施行した後、坐骨神経を採取。エポン包埋し、神経移植部より中枢、移植神経中央、放射線照射部中央、神経移植部より末梢の 3 部位に分け、トルイジンブルー染色を行い軸索の組織学的評価を行う。組織学的評価としては 1mm²あたりの軸索数の評価、軸索の径と個数を用いたヒストグラムの評価、神経束断面積の中で軸索面積が占める割合である軸索充填密度を評価

4. 研究成果

(1)放射線誘発性末梢神経障害モデルの作製歩行機能評価

SFI は放射線照射後 24 週まで両群間に有意差は認めなかった。



電気生理学的評価

X線照射後 24 週における R 群の腓腹筋での複合筋活動電位の振幅は $12,660 \pm 1,206 \mu V$ 、S 群は $19,881 \pm 4,375 \mu V$ であり有意に R 群で低くなっていた。

病理学的評価

組織所見：R 群では S 群と比べ坐骨神経は瘢痕組織内に埋もれていた。また、R 群では神経線維周囲に線維化や微小血管の増生を認め、様々な段階の神経変性過程を示していた。S 群では比較的均一な神経線維を認めた。

Axon diameter：X線照射中央部と末梢部では R 群で有意に小さくなっていた。

| | Sham(μm) | Radiation (μm) | P value |
|----------|-----------------|-----------------------|---------|
| Proximal | 7.72 ± 0.49 | 7.47 ± 0.8 | 0.069 |
| Central | 7.66 ± 1.83 | 6.86 ± 0.77 | 0.008 |
| Distal | 7.02 ± 0.76 | 6.69 ± 0.56 | 0.02 |

Axon packing density：すべて領域において R 群で有意に小さくなっていた。

| | Sham(%) | Radiation(%) | P value |
|----------|-----------------|-----------------|---------|
| Proximal | 80.1 ± 3.57 | 73.0 ± 5.0 | 0.0007 |
| Central | 70.2 ± 5.8 | 57.6 ± 7.9 | 0.002 |
| Distal | 64.4 ± 5.4 | 54.4 ± 11.7 | 0.025 |

これらの結果から歩行能力に有意差は見られなかったが、電気生理学的評価と組織学的評価から 90Gy の X 線をラット坐骨神経へ照射することで放射線誘発性末梢神経障害モデルの作製が可能となった。

(2)放射線誘発性末梢神経障害モデルに対する端側縫合法を用いた神経移植の有用性の検討

(1)の結果から 90Gy の X 線照射後 24 週で端側縫合法を用いた神経移植を行ったが、手技的に神経移植の難易度が高いこと、結果を得るのに移植後 6 か月を要したことから正確なデータを得ることができなかった。今後、知覚テストなど SFI より鋭敏な検査を導入する

ことで、放射線照射後早期でのモデルづくりや、縫合手技を安定させることが必要と考えられた。

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6件)

- 1 Shinomiya R, Sunagawa T, Nakashima Y, Kawanishi Y, Masuda T, Ochi M: Comparative study on the effectiveness of corticosteroid injections between trigger fingers with and without proximal interphalangeal joint flexion contracture. J Hand Surg Eur Vol., 査読あり, 41, 2016: 198-203
- 2 四宮陸雄, 砂川融, 中島祐子, 川西啓生, 吉塚将昭, 越智光夫: 手指腱鞘炎に対する腱鞘内ステロイド注射後の再発に影響を与える因子の検討. 日本手外科学会誌, 査読あり, 32, 2015: 1-4
- 3 Sunagawa T, Nakashima Y, Shinomiya R: Spontaneous recovery of a case with suspected hourglass-like fascicular constriction and anterior interosseous nerve palsy. J Hand Surg Eur Vol. 査読あり, 2015, Epub ahead of print.
- 4 Nakashima Y, Sunagawa T, Shinomiya R, Ochi M: High-resolution ultrasonographic evaluation of "hourglass-like fascicular constriction" in peripheral nerves: a preliminary report. Ultrasound Med Biol, 査読あり, 40, 2014: 1718-1721.
- 5 Okuhara Y, Shinomiya R, Peng F, Kamei N, Kurashige T, Yokota K, Ochi M: Direct effect of radiation on the peripheral nerve in rat model. J Plast Surg Hand Surg, 査読あり, 48, 2014: 276-280.
- 6 四宮陸雄, 砂川融, 中島祐子, 越智光夫,

横田和典, 鈴木修身: 感染を合併した外傷性広範囲四肢軟部組織欠損の治療戦略. 日本マイクロサージャリー学会誌, 査読あり, 26, 2013: 121-126.

[学会発表](計8件)

- 1 四宮陸雄, ステロイド注射は手根管開放術後の予後予測に有用か?, 第59回日本手外科学会学会学術集会, 2016.4.22, 広島国際会議場(広島市中区)
- 2 四宮陸雄, 橈側列形成不全に対する仮骨延長法, 第59回日本手外科学会学会学術集会, 2016.4.21, 広島国際会議場(広島市中区)
- 3 四宮陸雄, 手部皮膚欠損に対する系統だった治療戦略-感染制御の観点から-, 第33回中部日本手外科研究会, 2016.1.23, ホテルアバローム紀の国(和歌山市湊通)
- 4 四宮陸雄, 感染を合併した骨軟部組織損傷に対する治療戦略, 第42回日本マイクロサージャリー学会学術集会, 2015.11.26, ラフレさいたま(さいたま市中央区)
- 5 四宮陸雄, 手指狭窄性腱鞘炎に対するステロイド注射の注射部位による効果の検討-腱鞘内注射と腱鞘外注射の比較-, 第88回日本整形外科学会学術総会, 2015.5.22, 神戸ポートピアホテル他(神戸市中央区)
- 6 Rikuo Shinomiya, Does the intrasheath steroid injection need for the treatment of trigger finger? -Comparative study between intrasheath injection and extrasheath injection-, AAOS, 2015.3.24, Venetian/Sands EXPO(Las Vegas, Nevada, U.S.A.)
- 7 奥原裕佳子, ラット坐骨神経を用いた放射線照射による末梢神経への影響 第2報, 第22回日本形成外科学会基礎学術集会, 2013.11.7, 朱鷺メッセ新潟コンベンションセンター(新潟市中央区)
- 8 奥原裕佳子, 放射線照射による末梢神経障害では逆行性にも軸索変性が出現する, 第28

回日本整形外科学会基礎学術集会，
2013.10.17，幕張メッセ（千葉市美浜区）

〔図書〕（計2件）

1 四宮陸雄，砂川融，横田和典，中島祐子，
越智光夫．南江堂，整形外科領域における移
植医療，感染を合併した広範囲組織欠損に対
する遊離組織移植を用いた治療戦略，2015：
73-78.

2 四宮陸雄，砂川融．南江堂，超音波診断・
治療の最前線，弾発指に対する超音波ガイド
下腱鞘内注射，2015:896-899.

6．研究組織

(1)研究代表者

四宮 陸雄（SHINOMIYA RIKUO）

広島大学・病院・病院助教

研究者番号：80581454

(2)研究分担者

（ ）

研究者番号：

(3)連携研究者

（ ）

研究者番号：