

原

著

# 末梢神経端側吻合後における LacZ 遺伝子組み換え アデノウィルスを用いた神経再生経路の検討

—— ラット腕神経叢モデル ——

新潟大学大学院医歯学総合研究科可塑性機能制御講座

形成・再建外科学分野（主任：柴田 実教授）

陳

煒

## Neurotracing After End-to-side Nerve Coaptation Using Lac Z Containing Adenovirus Vector

Chen WEI

*Division of Plastic and Reconstructive Surgery,*

*Department of Functional Neuroscience,*

*Niigata University, Graduate School of*

*Medical and Dental Sciences*

*(Director: Prof. Minoru SHIBATA)*

### Abstract

Nerve regeneration through end-to-side coaptation has been confirmed. The regenerating fibers are believed to sprout from the internodal space of the recipient nerve.

A new nerve tracing technique allows this belief to be tested. By introducing a recombinant adenovirus vector containing the LacZ gene into a severed nerve, the regenerating nerve fiber can be traced to its origin.

We used this tracing technique for the tracing of the regenerating nerve fiber after end-to-side nerve coaptation. The severed musculocutaneous nerve was coapted end-to-side to the median or ulnar nerve. In the median nerve recipient group, most of the regenerating fibers

**Reprint requests to:** Minoru SHIBATA  
Division of Plastic and Reconstructive  
Surgery Department of Functional  
Neuroscience Niigata University Graduate  
School of Medical and Dental Sciences  
1-757 Asahimachi-dori,  
Niigata 951-8510 Japan

別刷請求先： 〒951-8510 新潟市旭町通り 1-757  
新潟大学大学院医歯学総合研究科可塑性機能制御講座  
形成・再建外科学分野 柴田 実

were coming down from proximal site and directly entered into the coapted musculocutaneous nerve. In the ulnar nerve recipient group, T-shaped sprouting fibers from the recipient nerve fibers were present suggesting internodal sprouting if there was no demonstrable pathway from the C7 brachial plexus root to the ulnar nerve. Mixture patterns of the regenerating fibers going directly into the coapted musculocutaneous nerve segment and T-shaped sprouting fibers from the recipient nerve fibers were present if there was a communicating branch between the C7 root and the ulnar nerve.

This finding suggests that neurotropism for the reinnervation by the original neurons of the donor nerve may be more involved in end-to-side nerve repair than internodal sprouting from the recipient nerve.

**Key words:** nerve regeneration, adenovirus vector, LacZ gene, neurotracer, end-to-side coaptation

## はじめに

塗銀法, DiI などに代表される神経線維染色法や逆行性軸索流を利用した Horseradish enzyme に代表される神経トレーサの導入により, 近年さまざまな末梢神経再生経路の研究が行われてきた。

二十世紀初頭に Cajal<sup>1)</sup> は塗銀染色法により既に, 詳細な末梢神経再生の観察研究をおこない, Neurotropism など, 今日なお注目されている重要な現象の多くを記載している。また, 後者の神経軸索流を用いたトレーサによる神経経路の研究で, 発色の異なる二種類のトレーサを取り込ませて神経細胞を二重に標識することも可能となり, 末梢神経再生における新しい事実の解明が進んでいる。

さらに, 最近, 遺伝子導入を利用したトレーサの開発により中枢神経では神経経路の連続追跡が可能となっている<sup>2)</sup>。

三輪ら<sup>3) 4)</sup> は LacZ 遺伝子組み換え Adenovirus vector を用いて末梢神経の軸索から神経細胞までその全長に渡って末梢神経経路を連続的に追跡した。

一方, 神経を端側吻合することにより神経再生が得られることが解ってきており, 臨床応用でも有用な結果が報告<sup>5) - 7)</sup> されてきている。この神経端側吻合法は腕神経叢引き抜き損傷や近位神経が大きく欠損している場合に, 神経移植をしないで修復できる方法として魅力的であり, 大きな注

目を集めている。

城倉ら<sup>8)</sup> はラット腓骨神経を切断し, 同側脛骨に端側吻合したモデルを作成し, Adenovirus vector を用いてその再生経路を検討した。その結果, これまでいわれてきたように端側吻合を受けた脛骨神経線維の Ranvier node の space から collateral sprouting した神経線維が再生しているのではなく, 端側吻合部よりはるか近位から再生しており, 端側吻合した腓骨神経のものの神経細胞もしくはその軸索の近位レベルで sprouting している可能性が示唆された。

腕神経叢では第5頸髄神経根から第1胸髄神経根までの5個の神経根により末梢神経が形成されるが末梢神経の組み合わせにより, 支配神経髄節レベルが重なる組み合わせと, 重ならない組み合わせの選択が可能である。この実験では臨床的に想定される腕神経叢損傷をも考慮し, ラットの筋皮神経を切断し, 支配髄節レベルの重なる正中神経, あるいは支配の重ならない尺骨神経に端側吻合し, Adenovirus vector を用いて神経再生経路を検討した。

実験は二つに分けて行い, 実験 I ではヒト末梢神経の支配髄節レベルの分布は検討, 解明されているが実験に用いた Wistar ラットの支配神経髄節レベルの分布は明らかではないので正常ラットをコントロールとして用い, LacZ 遺伝子組み換え adenovirus を用いて筋皮神経, 正中神経, 尺骨神経の支配髄節レベルの分布を検討した。

実験Ⅱでは筋皮神経を正中神経もしくは尺骨神経に端側吻合し、一定期間経過後に LacZ 遺伝子組み換え adenovirus を用いて神経再生経路を検討した。

## 実験動物と方法

10週齢（体重 300 ～ 350g）Wistar 雄ラット 84 匹の左上肢腕神経叢を用い、次の 2 つの実験を行った。

### 実験Ⅰ．（コントロール：n=27）：

肘関節の近位部で筋皮神経、正中神経あるいは尺骨神経を切離し、その近位端からウイルス導入し、4 週間後に神経を灌流・摘出し染色後に各神経の支配神経節レベルの分布を検索した。

### 実験Ⅱ．（神経端側縫合モデル：n=57）：

神経端側吻合手術とウイルス感染・導入手術をそれぞれ行った。

#### 〔第 1 回手術：端側縫合モデルの作成〕

ネンブタール（1 mg/ 100 g）の腹腔内投与による麻酔後、ラットを仰臥位に固定。左上肢の肘から肩まで縦切開を加え、大胸筋をそのほぼ中央で切離し、腕神経叢を露出した。筋皮神経を同定し、顕微鏡下（Olympus OCS-PS）にその分岐部より 5 mm 遠位で切離し、近位部は 90 度反転してその断端を大胸筋内に埋没し、9-0 ナイロン糸で固定した。遠位断端をドナーとし、レシピエントの正中神経（n=30）あるいは尺骨神経（n=27）に神経外膜を約 1 mm 開窓して 10-0 ナイロン糸 3 針で端側縫合を行った（図 1）。

#### 〔第 2 回手術：ウイルス感染・導入〕

第一回目の手術の 6 週間後、ネンブタール腹腔内投与により麻酔後、顕微鏡下（Olympus OCS-PS）にウイルス導入のため神経を露出した。導入部位は正中・尺骨神経モデルともそれぞれ、①反転した筋皮神経近位部、②端側縫合した筋皮神経の縫合部より 5 mm 遠位、③端側縫合部末梢のレシピエント神経本幹の 3 個所で、ウイルス約 2.5 ul ( $1.14 \times 10^{10}$ ) を塗布したナイフで神経を切離し、感染させた後、切離した神経断端同士を 10-0 ナイロン糸 2 針で縫合した（図 1）。

#### 〔標本摘出と $\beta$ -ガラクトシダーゼ組織化学反応〕

ウイルス感染の 4 週間後、ネンブタール腹腔内投与により麻酔後、開胸して心臓を露出。100 ml PBS, 4 % Paraformaldehyde 100 ml を左心室から順に注入し、全身灌流固定した。顕微鏡下に腕神経叢を脊髄と連続して取りだし、4 % Paraformaldehyde 30 ml に浸漬。4℃の冷蔵庫の中で 2 時間固定した後、PBS で洗浄。神経外膜のみ残し、軟部組織を可及的切除した後、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ反応液（表 1）に移し、発色が見られるまで 37℃ 恒温槽で約 12 時間攪拌。標本の発色程度は、実体顕微鏡下に直接確認しながら、適当な発色が得られた時点で 50 % グリセリンに標本を入れて反応を止めた。その後 24 時間ごとに 75 %, 90 % グリセリン液に換え、最終的に 100 % グリセリン溶液に保存。標本全体を透徹化し、実態顕微鏡下（Nikon SMZ-10）に観察した。

## 結 果

表 2 に神経標識によるコントロール、実験群の支配神経節レベルの分布解析結果を示す。

#### 〔染色性〕

全 84 匹のうち、軸索染色が認められたのは 55 匹で、染色率は全体で 65 % であった。実験 1 では 27 匹中 14 匹（52 %）、実験 2 の正中神経モデルでは 30 匹中 15 匹（50 %）、尺骨神経モデルでは 27 匹中 18 匹（67 %）が軸索染色陽性であった。また、ウイルスを導入した 3 ケ所により、各組の染色率を示してある。

#### 〔所見〕

##### 実験 1：

各神経の支配神経根レベルの分布は、筋皮神経は C5 ～ 7、正中神経は C6 ～ 8、Th1、尺骨神経は C8、Th1 であり、ヒトの解剖学的記載と一致していた。

##### 実験 2：

#### 【正中神経端側縫合モデル】

①筋皮神経近位部でウイルス感染・導入した場合  
染色率 4 / 8。筋皮神経の近位部のみに軸索染色が認められた（図 2）。軸索の神経根レベルの分

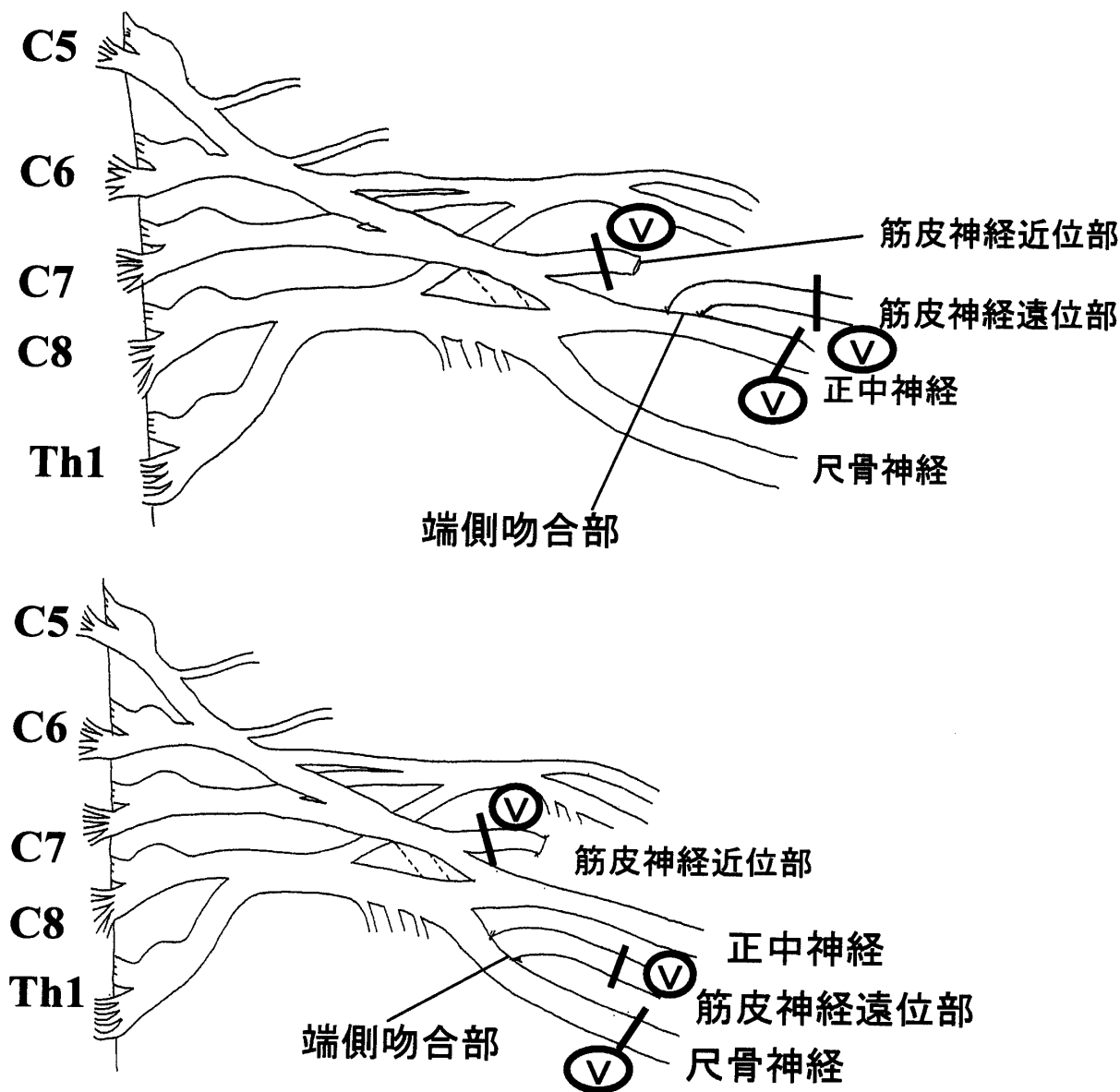


図 1

上は正中神経, 下は尺骨神経をレシピエントとしたモデル.

ⓧ はウイルス感染部位

布は C5 ~ 7 で, 実験 1 と同じ結果であった.

②端側縫合した筋皮神経に縫合部から 5 mm 遠位部でウイルス感染・導入した場合

染色率 4/12. 端側縫合部を越えて再生した軸索の支配髄節の分布は C5 ~ 8, Th1 で, 実験 1 より正中神経髄節レベルに C5 (筋皮神経) 髄節が加わった分布であった. 再生軸索は端側縫合部へ直接向かい, 縫合部末梢での正中神経本幹の染色性はきわめて悪く, 1 例でわずかに染色が見ら

表 1  $\beta$ -ガラクトシダーゼ反応液

薬 剤 名	薬剂量
PBS	7 ml
50mM potassium ferrocyanide	1 ml
50mM potassium ferricyanide	1 ml
1 M $MgCl_2$	20ul
4 % X-gal in DMF	250ul
1 % NP40	1 ml
総 量	約10ml

表2 ラット正中, 尺骨, 筋皮神経のコントロールおよび神経端側縫合後の LacZ 遺伝子を組み込んだ Adenovirus Vector による支配神経髄節レベルの検討結果

各神経のコントロールと各神経本幹に感染させた時の結果がほぼ一致している。実験群の筋皮神経近位からの標識と筋皮神経コントロールのレベル分布が一貫して一致している。筋皮神経遠位部より感染させたグループでは正中, 尺骨神経の支配髄節に筋皮神経の髄節レベルが加わった分布となっている。これは切断された筋皮神経のものの細胞から神経再生が起こっていることを示していると考えられる。

感染部位	筋皮神経 Control (n=15)	正中神経			尺骨神経				尺骨神経 Control (n=5)
		実験群 (n=30)			正中神経 Control (n=7)	実験群 (n=27)			
		① 筋皮神経 近位部 (n=8)	② 筋皮神経 遠位部 (n=12)	③ 正中神経本幹 (n=10)		① 筋皮神経 近位部 (n=7)	② 筋皮神経 遠位部 (n=12)	③ 尺骨神経本幹 (n=8)	
Number	7 (47)	4 (50)	4 (33)	7 (70)	5 (71)	4 (57)	7 (58)	7 (88)	2 (40)
染色陽性 (%)									
支配髄節 (n)	C5-C6 (3)	C5-C6 (2)	C5-C8 (1)	C6-T1 (4)	C7-T1 (3)	C5-C6 (2)	C5-T1 (2*)	C5-T1 (1*)	C8-T1 (2)
	C5-C7 (2)	C5-C7 (2)	C5-T1 (1)	C7-T1 (3)	C6-T1 (1)	C5-C7 (2)	C7-T1 (2*)	C7-T1 (3*)	
	C6-C7 (2)		C7-C8 (1)		C7 (1)		C8-T1 (3)	C8-T1 (3)	
			C7-T1 (1)						
髄節分布	C5-C7	C5-C7	C5-T1	C6-T1	C6-T1	C5-C7	C5-T1	C5-T1	C8-T1

\*C7と尺骨神経間に交通枝あり

れたのみであった。さらに2例では筋皮神経近位端にも軸索染色が見られた(図3)。

### ③端側縫合部末梢のレシピエント正中神経本幹でウイルスを感染・導入した場合

染色率は7/10。支配髄節の分布はC6～8, Th1で、実験1と同じであった。2例に端側縫合部でドナー筋皮神経内への再生軸索をわずかに認めた。また3例で筋皮神経近位部にも染色が見られた(図4)。

### 【尺骨神経端側縫合モデル】

①筋皮神経の近位部でウイルス感染・導入した場合  
染色率4/7。筋皮神経近位部のみが染色。支配髄節レベルの分布はC5～7で、実験1と同じ結果であった(図5)。

②端側縫合した筋皮神経に縫合部より5mm遠位部でウイルス感染・導入した場合

染色率7/12。端側縫合部を越えて再生した軸索の支配髄節の分布はC5～8, Th1に及んでおり、実験1より尺骨神経軸索の分布にC5～7(筋皮神経)が加わっていた。軸索再生パターンは、3/7例では端側縫合部へ直接向かい、縫合部末梢での尺骨神経本幹の染色は悪く、正中神経モデ

ルの場合と同じパターンで、支配髄節の分布はC6～Th1であった(図6)。しかし4/7例では、末梢まで良く染色された尺骨神経軸索から端側縫合部において著明なT字状のcollateral sproutingが認められた(図7)。このうち2例の支配髄節の分布はC7, 8であった。また支配髄節の分布がC5～C8, Th1であった2例で筋皮神経近位部にも染色が確認できた(図8)。この2例と支配髄節レベルがC7～C8, Th1であった2例では、再生軸索はC7と尺骨神経間を直接連絡する経路を通過して中枢から末梢へ伸長しているのが確認できた。C8, Th1を支配髄節とする3例はいずれもC7と尺骨神経間の交通枝はなかった。

③端側縫合部末梢のレシピエント尺骨神経本幹でウイルスを感染・導入した場合

染色率は7/8。3例では軸索支配髄節はC8, Th1で、実験1と同じ結果であった。4例で端側縫合部を通過してドナー筋皮神経内へ向かう軸索が見られたが、支配神経髄節の分布はそのうち3例でC7～C8, Th1であった。1例では筋皮神経近位部に染色が見られ、支配神経髄節の分布はC5～C8, Th1であった(図9)。支配髄節C8,

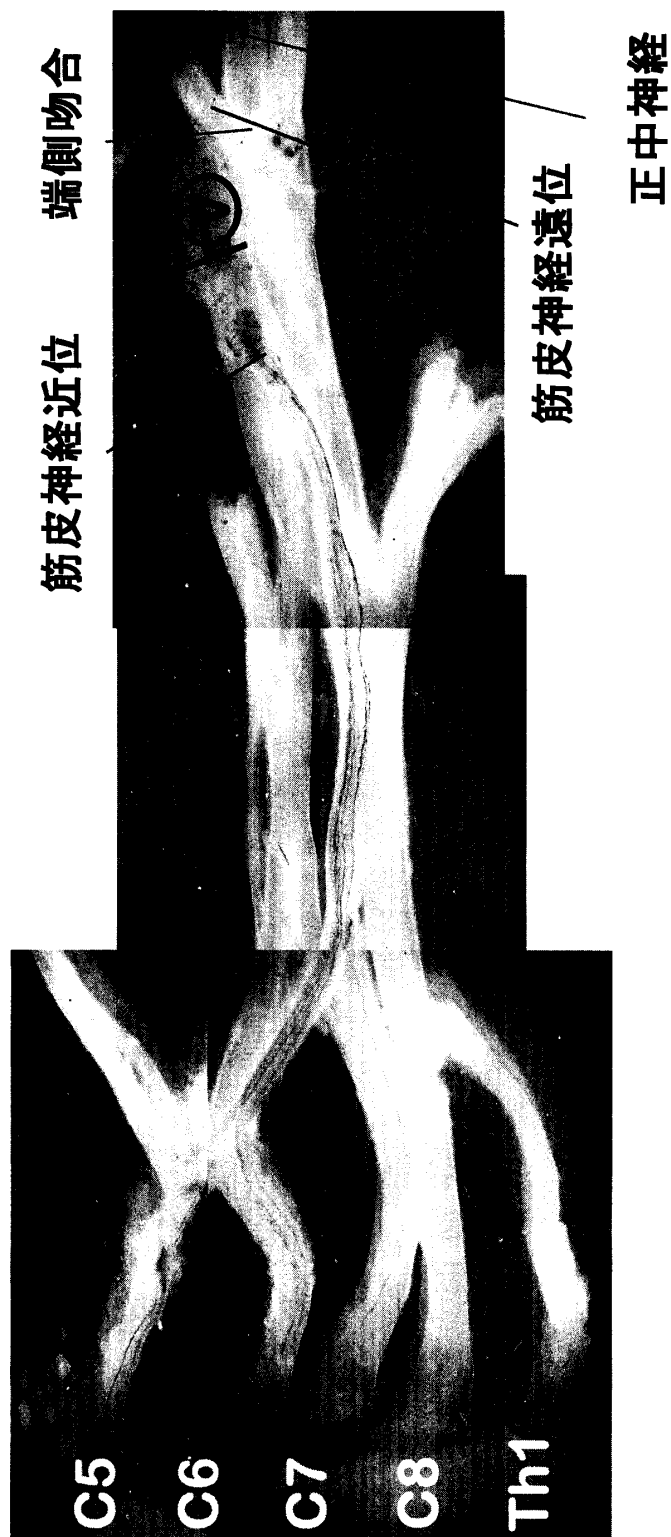


図 2

レシピエントは正中神経. 筋皮神経近位部よりウイルス感染させた.  
筋皮神経の近位部のみに軸索染色が認められ, 染色軸索支配神経は C5-7 であった.

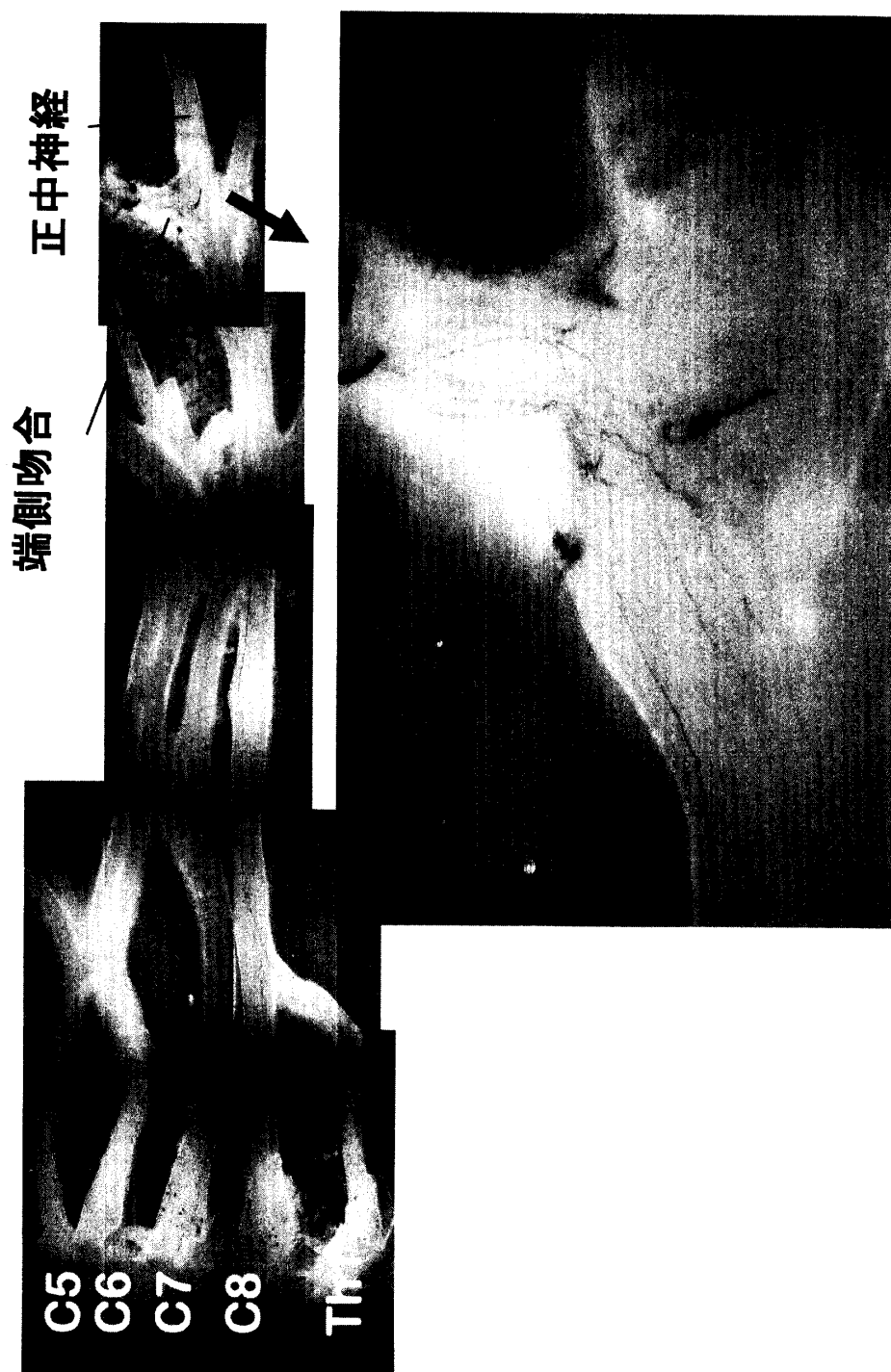


図 3

レシピエントは正中神経. 筋皮神経の遠位部よりウイルス導入.  
縫合部拡大図では近位から下降してきた再生神経が縫合部に通過して筋皮神経遠位部に直接伸びている. 縫合部より遠位のレシピエント正中神経本幹には再生神経は見られない.



図 4

レシピエントは正中神経. 正中神経本幹からウイルス導入.  
筋皮神経遠位部の染色は悪く, 筋皮神経近位部にも染色が認められた. 染色軸索支配神経は C6-8, Th1 であった.





図 5

レシエントは尺骨神経. 筋皮神経近位よりウイルス導入.  
筋皮神経の近位部にみに染色が認められ, 染色軸索の支配神経は C5 - 7 であった.

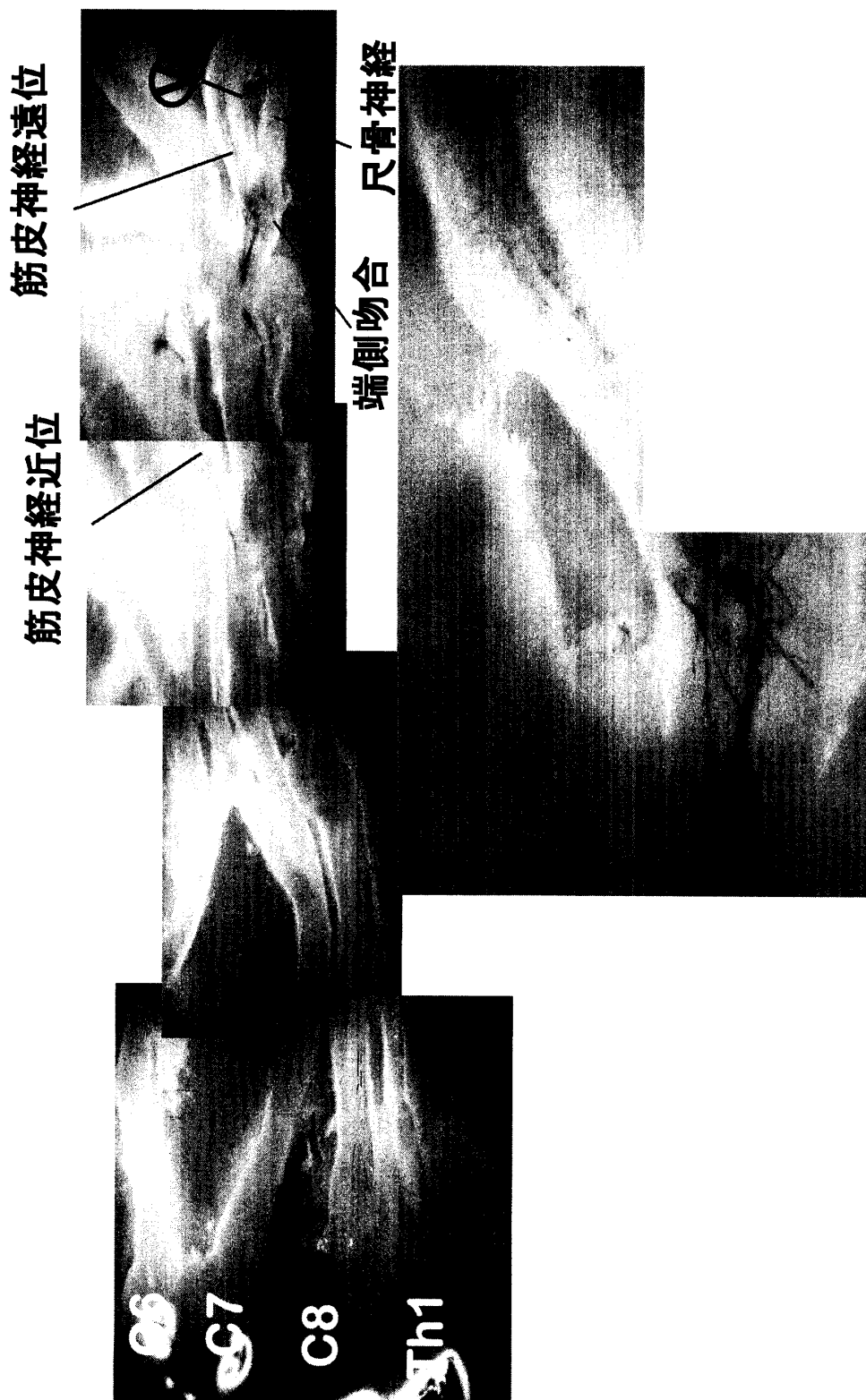


図 6

レシピエントは尺骨神経. 筋皮神経遠位部よりウイルス導入.

再生軸索は縫合部を通過, 直接筋皮神経の遠位部へ向かい, 尺骨神経の本幹には染色軸索はない. 筋皮神経の近位部にも染色線維が見え, 軸索の支配髄節は C6-Th1 であった.

縫合部拡大図では近位から下降してきた線維は縫合部を通過して筋皮神経に入り, 縫合部より遠位の尺骨神経本幹内を下降する線維は見られない.

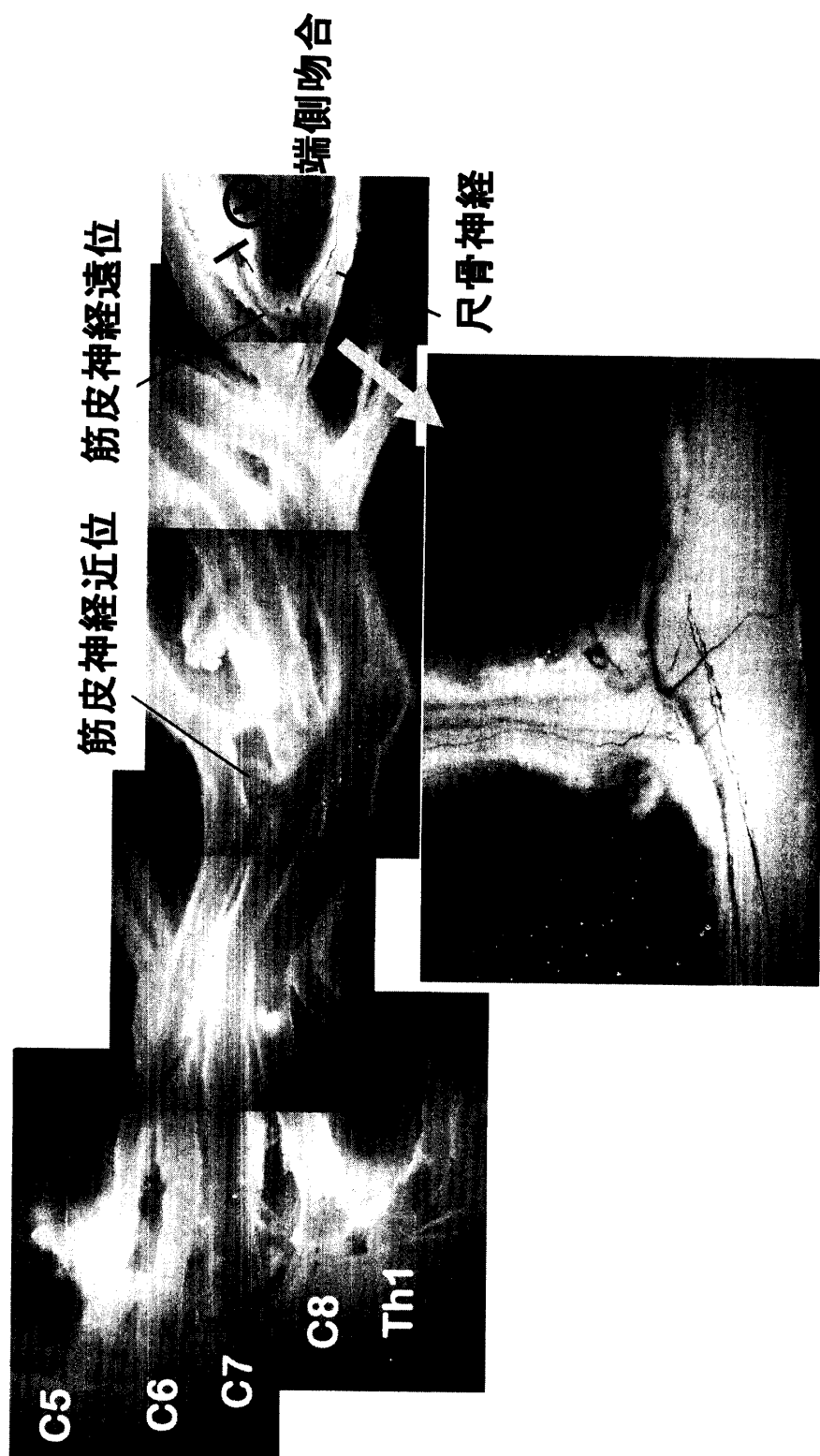


図 7

レシピエントは尺骨神経、筋皮神経遠位よりウイルス導入。  
 筋皮神経の遠位部と縫合部より末梢の尺骨神経に染色軸索が認められ、染色軸索の支配髄節は C8, Th1 であった。  
 縫合部拡大図では縫合部を過ぎて下降する尺骨神経と思われる神経線維から T 字状に分岐し、筋皮神経に入る線維が見られる。

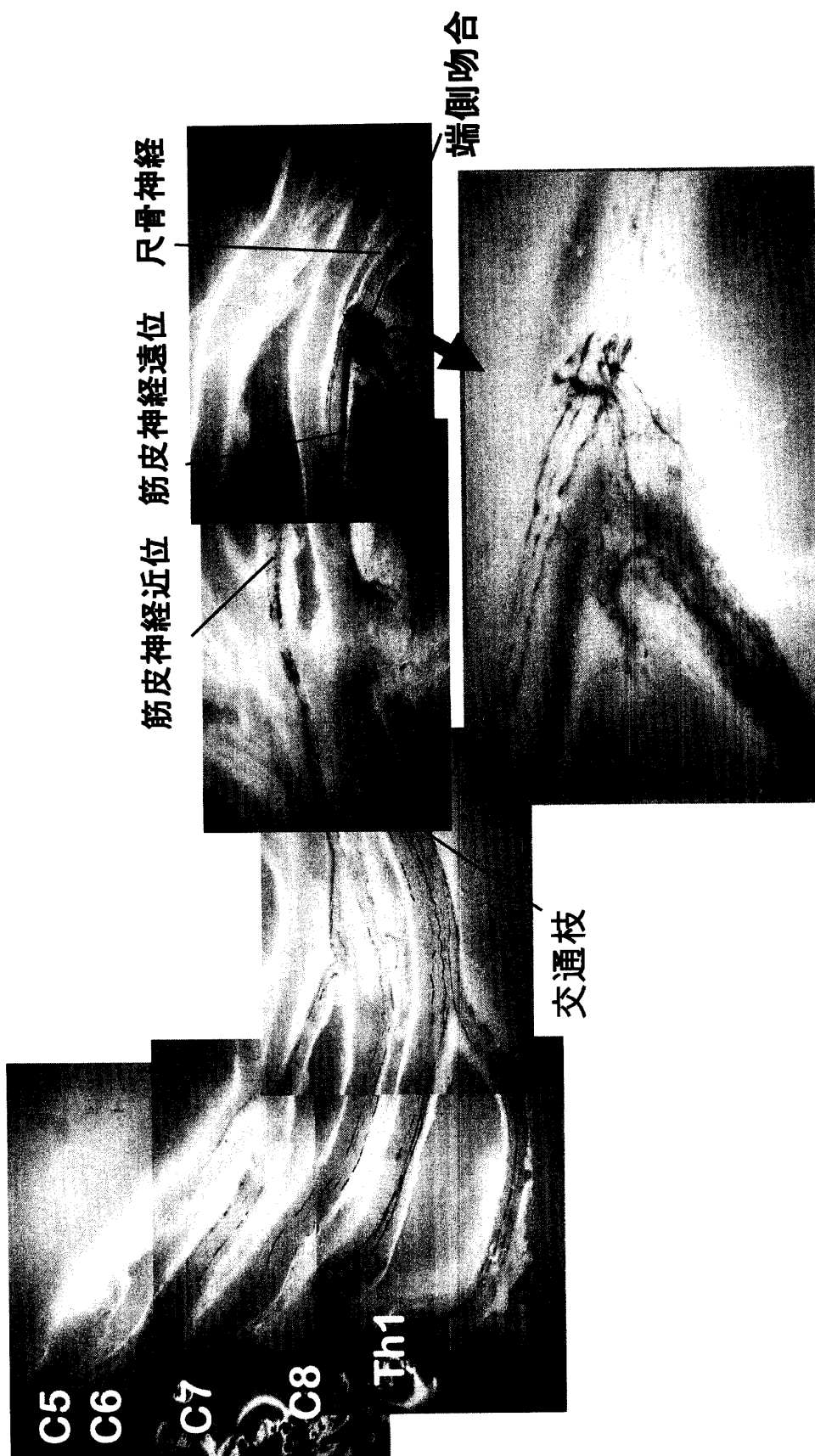


図 8

レシピエントは尺骨神経。筋皮神経遠位部よりウィルス導入。

筋皮神経の近位部、遠位部、端側縫合部より末梢の尺骨神経のすべてが染色された。C7と尺骨神経間に交通枝が認められた。軸索の

支配神経は C5 - 8, Th1 であった。

縫合部拡大図では近位から縫合部を通過して、筋皮神経遠位へ直接入る線維に加え、縫合部を過ぎて尺骨神経を下降する線維の一部から T 字状に分かれた線維が筋皮神経遠位へ伸びている。



図 9

レシピエントは尺骨神経。尺骨神経本幹よりウイルス導入。筋皮神経の近位部、遠位部ともに染色が認められた。C7からの交通枝があり、支配髄節はC5-Th1であった。縫合部拡大像ではレシピエントの尺骨神経から筋皮神経遠位へ伸びる、collateral nodal sprouting したと思われる T 字形の染色線維が見られる。

Th1 の 3 例以外は C7 と尺骨神経の間に交通枝を認めた。

## 考 察

末梢神経再生経路を検討するには神経軸索を全長にわたって標識できる方法が理想的である。Horseradish enzyme を中心とした従来のトレーサーをこの目的で使用できないか検討したが、これらは逆行性軸索流により神経軸索を上行し、神経細胞に貯留するのでトレーサーに接触した軸索と結びつく神経細胞の探索には適しているが軸索全長を染めることは困難であった。

新しい神経トレーサーとして三輪ら<sup>3) 4)</sup> は従来、中枢神経系の神経回路研究に用い始められていた、新しい神経軸索トレーサーである LacZ 遺伝子組み換えアデノウイルスを末梢神経の再生研究に応用し、報告した。このトレーサーの原理は以下のように説明される。LacZ 遺伝子組み換えアデノウイルスを切断末梢神経断端に付着・感染させると逆行性軸索流により神経細胞に運ばれ、その核に LacZ 遺伝子が導入される。この遺伝子により産生されたβガラクトシダーゼは、順行性の軸索流によって下降し、神経軸索内に、充満・蓄積するので、このβガラクトシダーゼを組織化学反応により発色させることで神経軸索から神経細胞までが連続的に観察できる。神経細胞を共通とする別々の軸索が異なる末梢神経に再生していることを証明するには従来、二種類の異なるトレーサーを用いなければならなかったがこの方法であれば一側の神経からのトレーサー導入により、共通の神経細胞から伸びた軸索を他側の神経内に観察・追跡できる。

城倉ら<sup>8)</sup> はラット下肢で腓骨神経を切離しその遠位断端を脛骨神経に端側吻合し、三輪らの方法によりその神経再生経路を検討した。端側縫合部遠位部のドナーの遠位腓骨神経からウイルスを導入した場合、縫合部から遠くはなれた近位部から再生神経が脛骨神経内を通過して直接伸びて入っており、一部、腓骨神経近位部にも線維が伸びていた。しかし、縫合部の遠位脛骨神経には再生神経

はほとんど見られなかった。また、神経端側縫合部遠位で脛骨神経本幹からウイルスを感染させてもドナーの腓骨神経遠位部への再生神経線維は見られなかった。これらのことからこの下肢モデルでは再生神経は大部分、もとの腓骨神経を支配する神経細胞より出ているものと推察した。

今回は腕神経叢モデルを用い、筋皮神経を切離し、その遠位断端を正中神経に端側吻合した群と正中神経の代わりに尺骨神経に端側吻合した群を作成した。前者は支配髄節分布のうち C6, C7 が重なっており、下肢で腓骨神経を脛骨神経に端側吻合したモデルと共通しているが、後者は重なる神経根支配レベルがないモデルである。

ウイルスの導入部はいずれの群も共通で①筋皮神経近位部、②端側吻合したドナー筋皮神経遠位部及び③端側吻合遠位部のレシピエント神経本幹の三カ所であるが、両群とも、筋皮神経の近位部でウイルス感染・導入した場合では近位筋皮神経にのみ再生神経がみられた。筋皮神経遠位部からのウイルス導入で筋皮神経近位部にも再生線維が見られたので理論的には筋皮神経の近位部でウイルス感染・導入した場合、遠位筋皮神経にも染色される神経線維があっても良いはずであるが、見られなかった理由は本法の染色率が低いためとも考えられるが不明である。ドナー筋皮神経の端側縫合部末梢でウイルスを感染・導入した場合では正中神経群の 4 例すべてで近位から伸びてきた再生線維は端側吻合部を通過して筋皮神経遠位に直接伸びており、うち 2 例では筋皮神経近位部にも伸び、縫合部を過ぎて正中神経本幹中を末梢に向かう線維はほとんどなかった。これらの再生神経はもとの筋皮神経を支配する神経細胞からの sprouting である可能性が高い。

これに対し、C7 と尺骨神経の間の交通枝があった尺骨神経群 3/7 例では正中神経群と同様のパターンであり、もとの筋皮神経を支配する神経細胞からの sprouting である可能性が考えられる。残りの 4/7 例では、末梢まで良く染色された尺骨神経軸索から端側縫合部で T 字状に sprouting した線維が著明に認められ、これらはレシピエントの尺骨神経線維からの collateral nodal

sprouting と考えられる。

端側縫合部末梢のレシピエント神経本幹でウイルスを感染・導入した場合、正中神経群 2 例では端側縫合部においてドナー筋皮神経内への再生軸索をわずかに認めたが、これは正中神経からの collateral sprouting であると考えられる。尺骨神経レシピエントモデルでは端側吻合部遠位の尺骨神経本幹からのウイルス感染により 4 例で縫合部を通り過ぎて末梢に伸びる線維から T 字状に分岐した再生神経が縫合部を通過して筋皮神経遠位部に入っていた。この 4 例はいずれも C7 と尺骨神経の間に交通枝を認めた例であった。この部位からのトレースで C8, Th1 の支配髄節を示した 3 例では筋皮神経遠位に伸びる神経再生を認めなかったがその理由は不明である。

神経端側吻合は 1992 年 Viterbo<sup>9)</sup> の発表に啓発されて、この約 10 年間に実験的、臨床的研究結果の発表が相次ぎ、新しい神経修復法の一つとして注目されているがその神経再生経路はこれまでよく解明されていなかった。一般的には Ranvier の node から collateral sprouting が起こり、レシピエントの神経細胞支配の神経再生が起こるか、あるいは神経外膜切開の際に神経線維が損傷されて terminal sprouting が起こると考えられてきた。いずれの場合でも全てレシピエント神経細胞支配の再生となり、われわれの考えるようにドナー神経からの再支配が起きるという考えはなかった。

神経端側吻合の実験モデルは二つに大別される。多くは Viterbo<sup>9)</sup>、城倉<sup>8)</sup> およびこの研究のように神経を切断し、その遠位端をドナー神経として同側のレシピエント神経に縫合し、ドナー神経の末梢には target organ が接続しているモデルである。他は傷ついたドナー神経近位断端からの再生神経進入の可能性を防ぐために Lundborg<sup>10)</sup> らのように反対側から遊離の神経片を採取してレシピエント側の神経を傷つけないモデルである。これには target organ がついていない。Okajima<sup>11)</sup> らは後者のモデルを用いて術後 12 時間の早期に端側吻合部に collateral nodal sprouting の像を電子顕微鏡で観察している。Zhang<sup>12)</sup> は前者のモデルで腓骨神経と脛骨神経を用いて端側吻合後、

前脛骨筋に true blue、腓腹筋に diaminidino yellow を注入し、脊髓前根、後根神経節の切片で二重標識された神経細胞を観察した。その結果、コントロールには二重標識された細胞はみられなかったが神経端側縫合群にはみられた。Zhang<sup>12)</sup> の実験では端側吻合群 8 例中のすべてに二重標識された神経細胞がみられており、その数については述べられていないがレシピエント神経からの collateral nodal sprouting が起きることを示唆している。われわれの実験の正中神経をレシピエントとしたモデルでも、端側縫合部の遠位で正中神経本幹から感染させた場合、わずかではあるが縫合部を通過して筋皮神経遠位に再生神経がみられており、レシピエント神経からの collateral nodal sprouting が一部で起こっている可能性がある。

しかし、城倉の結果とこの実験の正中神経をレシピエントとするモデルでは、再生神経経路を連続的に直接観察しており、大部分はドナーの神経細胞もしくはその軸索の近位部から再生線維が sprout するものと考えられる。これらの実験では、同側神経を組み合わせて端側吻合モデルを作成し、レシピエント神経と支配髄節レベルが一部重なりあう神経をドナーとして切断直後に端側縫合している。この支配髄節の重なる神経同士の間を組み合わせを用いた場合、実験側でドナーとしての神経が損傷を受けていること、端側吻合した神経の末梢に target organ が接続していることを考えると、何らかの Neurotropism が作用してドナー神経細胞から再生神経が sprouting する可能性は十分あり得るものと推察される。

Kanje<sup>13)</sup> は後者のモデルである反対側から採取した坐骨神経片を端側吻合し、二つのトレーサーを用いて二重標識される細胞を脊髓前根および後根神経節に多数みだし、これらの二重標識細胞は、レシピエント神経から再生神経線維が collateral nodal sprouting した結果であると考えた。われわれの実験では C7 神経根と尺骨神経に交通枝のないラットで尺骨神経をレシピエントとした場合に多くの collateral nodal sprouting により再生したと考えられる再生神経線維がみられており、この結果からも反対側より神経片を採

取して移植したモデルでは collateral nodal sprouting による神経再生が起きるものと予想され、Kanje ら<sup>13)</sup> 実験結果と矛盾しない。

### まとめと結語

以上のことから同側神経を用いた神経端側吻合ではレシピエントとドナーの神経間に腕神経叢内で解剖学的に交通枝があり、ドナー神経が端側吻合部まで伸びることが可能な場合はドナー神経を支配する神経細胞より再生線維が sprouting し、しかも、そのレベルは神経細胞があるいはその周辺であると考えられる。交通枝のない場合には端側吻合の近辺でレシピエントの神経線維から collateral nodal sprouting が中心に起こると考えられる。これらのことはこれまで知られていなかった新しいレベルでの Neurotropism の存在を示唆するものと考えられる。

### 謝 辞

稿を終えるにあたり、実験指導、論文校閲をいただいた柴田 実教授に深謝致します。本研究の遂行にご協力、ご助言を頂いた新潟大学医学部保健学科平野茂樹教授、新潟大学大学院医歯学総合研究科車田正男教授、牛木辰男教授、城倉雅次先生、善財慶治先生、韓 久卉先生、新潟大学脳研究所柿田明美助教授に深甚なる感謝の意を表します。

### 参 考 文 献

- 1) Cajal RS: Degeneration and regeneration of the nervous system. Vol. 1, Oxford University Press, London, 1928.
- 2) Terashima T, Miwa A, Kanegae Y, Saito I and Okado H: Retrograde and anterograde labeling of cerebellar afferent projection by the injection of recombinant adenovirus vectors into the mouse cerebellar cortex. *Anat. Embryol* 196: 363-82 1997.
- 3) 三輪 仁, 柴田 実, 岡戸晴生, 平野茂樹, 城倉雅次, 善財慶治, 松崎浩徳, 高橋栄明: アデノウィルスベクターを用いた末梢神経軸索 trace の試み. *日整会誌* 73 S1710, 1999.
- 4) Miwa H, Shibata M, Okado H and Hirano S: Tracing axons in the peripheral nerve using LacZ gene recombinant adenovirus and its application to regeneration of the peripheral nerve. *J Neuropathol Exp Neurol* 60: 671-675 2001.
- 5) Mennen U: End-to-side nerve suture in the human patient. *Hand Surg* 3: 7-15 1998.
- 6) Kostaglu N: Motor and sensory reinnervation in the hand after an end-to-side median to ulnar nerve coaptation in the forearm. *Br J Plast. Surg* 52: 404-407 1999.
- 7) Santamaria E, Wei FC, Chen H and Chuang DCC: Sensory recovery on innervated radial forearm flap for hemiglossectomy reconstruction by using different recipient nerves. *Plat Reconstr Surg* 103: 450-457 1999.
- 8) 城倉雅次, 柴田 実, 三輪 仁, 善財慶治: 末梢神経端側縫合後再生軸索の動態—アデノウィルスベクターを用いた検索—. *日手会誌* 17: I-PA-11 2000.
- 9) Viterbo F, Trindade JC, Hoshino K and Mazzoni A: Latero-terminal neurorrhaphy without removal of the epineural sheath: Experimental study in rats. *Rev Paul Med* 110: 267-273 1992.
- 10) Lundborg G, Zhao Q, Kanje M, Danielsen N and Kerns JM: Can sensory and motor collateral sprouting be induced from intact peripheral nerve by end-to-side anastomosis? *J Hand Surg B19*: 277-82 1994.
- 11) Okajima S and Terzis JK: Ultrastructure of early axonal regeneration in an end-to-side neurorrhaphy model. *J Reconstr Microsurg* 4: 313-323 2000.
- 12) Zhang Z, Soucacos PN, Bo J and Beris AE: Evaluation of collateral sprouting after end-to-side nerve coaptation using a fluorescent double-labeling technique. *Microsurgery* 19: 281-286 1999.
- 13) Kanje M, Arai T and Lundborg G: Collateral sprouting from sensory and motor axons into an end-to-side attached nerve segment. *Neuroreport* 113: 2455-2459 2000.

(平成14年 1 月23日受付)