

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 若槻 華子
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第 929 号
学位授与の日付 令和2年3月23日
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
博士論文名 Development of a mouse nerve-transfer model for brachial plexus injury
(腕神経損傷に対するマウス神経移行術モデルの作成)

論文審査委員 主査 教授 遠藤 直人
副査 教授 日比野 浩
副査 准教授 三上 剛和

博士論文の要旨

【背景】

末梢神経損傷により運動障害や知覚障害が生じる。臨床においては外科的再建手術が行われ、良好な機能の回復が得られている。

神経移行術とは、損傷した神経が本来支配した筋に対して、本来は別の筋を支配していた健常な神経の一部を切って移動し、その近位断端に損傷した神経の遠位断端を縫合する方法である。この方法は腕神経叢の神経根の引き抜き損傷など神経縫合や神経移植術では再建できない部位での神経損傷に対してしばしば行われている。オバランらは上腕二頭筋を支配する正中神経の運動枝に対し尺骨神経の一部を移行する方法で肘屈曲能が再建できることを報告した。臨床においては神経移行術後に良好な機能回復が得られることが知られているが、その機序は明らかとなっていない。

【目的】

これまで末梢神経の再生モデルとしてはその大きさや実験手技の容易さからラットの坐骨神経が広く用いられてきた。申請者は、ラット坐骨神経に代えてマウス腕神経叢を使用することで、遺伝子組換え動物などへの応用が可能となること、また臨床で治療対象とすることが多いヒト上肢と解剖学的、機能的に類似したモデル作成が可能となると考えた。そこで本研究では、マウスにおいて尺骨神経-筋皮神経移行術モデルを作成し、上腕二頭筋の機能回復の過程と神経筋接合部および筋紡錘の再神経化による形態変化を観察することで、神経移行術モデルとしての有用性を明らかにすることを目的とした。

【方法】

手術手技、腕神経叢の逆行性トレース

本研究ではC57BL6/J, 8週齢マウスを用いた。麻酔下に以下の各手術を行った。右側をシャム群とした。左側で脱神経群(左筋皮神経を切断)、神経縫合術群(左筋皮神経を切断後単純縫合)、神経移行術群(筋皮神経および尺骨神経を切断し、尺骨神経近位断端を筋皮神経遠位断端に移行)を作成した。手術後、各群とも神経再生期間として飼育を継続した。その後各群で逆行性トレーサーを用いて各神経の運動ニューロンおよび感

覚ニューロンの標識を行った。

誘発筋電図測定

シャム群、神経縫合術群、神経移行術群に対し、術後4週間で神経縫合部より近位で電気刺激し、上腕二頭筋の活動電位を測定した。

免疫組織学

シャム群、神経縫合術群、神経移行術群に対し、手術後4週または24週で上腕二頭筋を摘出、固定し、 α -ブングロトキシン、S46、ニューロフィラメント200、DAPIによる蛍光多重染色を行い、神経筋接合部および筋紡錘の変化、再神経支配の程度について評価した。

【結果】

神経移行術後のニューロンの逆行性トレース

筋皮神経の運動ニューロンをC5, 6, 7の前角、感覚ニューロンを同レベルの後根神経節で認め、尺骨神経の運動ニューロンを一部のC7とC8, Th1の前角、感覚ニューロンを同レベルの後根神経節で認めた。この結果は、ヒトの筋皮神経および尺骨神経と支配髄節が等しいことを示している。

尺骨神経-筋皮神経移行術後に縫合部より遠位から逆行性トレースを行うと、再生軸索が標識され、本来は尺骨神経の支配髄節であるC8, Th1のニューロンが標識された。

誘発筋電図測定

シャム群および神経縫合術群、神経移行術群において縫合部より近位への電気刺激により上腕二頭筋で活動電位を認めた。これは神経が再生し、筋を再支配していることを示す。

免疫組織学的評価

上腕二頭筋の神経接合部と筋紡錘の変化について評価を行った。脱神経群では両者の再生は認めなかった。神経縫合術、神経移行術後にはアセチルコリンレセプターは小型化、分節化しているものの再神経化しており、筋紡錘も規則正しい螺旋構造は認めないものの、再神経化していた。

神経筋接合部の定量

神経縫合術および神経移行術後1週、4週、24週で再神経化している神経筋接合部の数を測定し比較した。術後1週、4週では神経縫合術群での再神経化率が高かったが、術後24週では神経縫合術群、神経移行術群の再神経化率に有意差を認めなかった。

【考察】

申請者はマウス腕神経叢を用いた実験モデル作成を本研究の目的とし、尺骨神経-筋皮神経移行術モデルを確立した。本モデルにおいて本来筋皮神経によって支配されていた上腕二頭筋が尺骨神経の支配中枢であるC8, Th1によって再支配されることが明らかとなった。また術後4週で活動電位を認め、神経筋接合部および筋紡錘の再神経化も認めた。神経回路再生においては運動神経の再生のみならず筋紡錘からのフィードバックが重要とされているが本モデルはそれらを実験的に評価するのに有用である。

術後4週において神経移行術は神経縫合術に比して神経接合部の再神経化率が低かったが、術後24週では両者の再神経化率に差を認めなかったことは、神経移行術後には上腕二頭筋への再支配により長い期間が必要であることが示唆され、C5-7からC8, Th1へ支配中枢が変わることや脳や脊髄での神経回路再編に期間を要するなどの可能性が考えられる。

【結論】

申請者はマウス腕神経叢移行術モデルの作成に成功した。本モデルは遺伝子組換えマウスへの応用も可能であり、神経移行術後の分子メカニズムを明らかにすることで新たな治療法の開発に寄与すると考えている。

審査結果の要旨

神経移行術後に良好な機能回復が得られることが知られているが、その機序は明らかではない。

申請者はマウス腕神経叢における尺骨神経-筋皮神経移行術モデルを新たに確立した。本モデルにおいて本来筋皮神経によって支配されていた上腕二頭筋が尺骨神経の支配中枢である C8, Th1 によって再支配されることを明らかにし、また術後 4 週で活動電位を認め、神経筋接合部および筋紡錘の再神経化をも認めたことから、神経回路再生においては運動神経の再生のみならず筋紡錘からのフィードバックを評価するのに有用であることを示した。

神経接合部での再神経化率について術後 4 週では神経移行術群が神経縫合術群に比して低かったが、術後 24 週では差はなかった。このことは、神経移行術後の上腕二頭筋への再支配は神経縫合に比して長い時間が必要であることを示唆し、C5-7 から C8, Th1 へ支配中枢が変わることや脳や脊髄での神経回路再編に時間を要するなどの可能性が考えられた。

本研究ではマウス腕神経叢移行術モデルの作成に成功し、本モデルが遺伝子組換えマウスへの応用や神経移行術後の分子メカニズムを明らかにすることで新たな治療法の開発につながることを明らかにした点に学位論文としての価値を認める。