

氏 名 (本籍)	細 江 英 夫 (岐阜県)
学 位 の 種 類	博 士 (医学)
学位授与番号	乙 第 9 5 9 号
学位授与日付	平成 7 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	再生末梢神経の misdirection に関する実験的研究 新しい評価法 “misdirection rate (MR)” の考案
審 査 委 員	(主査) 教授 松 永 隆 信 (副査) 教授 伊 藤 和 夫 教授 山 田 弘

論 文 内 容 の 要 旨

末梢神経損傷の治療成績は材料や技術の進歩に伴い向上してきている一方、避けられない過誤支配 (misdirection) のため、その機能回復には限界がある。臨床的には機能評価法が確立されているが、実験的には機能障害を直接反映するものは少なく電気生理学、病理学、生化学的評価がなされているのが現状である。よって機能に直接関係する misdirection を客観的・定量的に評価することは非常に重要な課題となるが、評価する方法がまだ確立されておらず、末梢神経縫合後における misdirection の形態に関する研究は皆無といっている。

そこで申請者は、horseradish peroxidase (以下 HRP と略) を使用し標識前角細胞から misdirection を定量化する方法を進展させ、wheat germ agglutinin-horseradish peroxidase (以下, WGA-HRP と略) を支配筋内に投与し坐骨神経横断面にて明瞭に観察できる標識軸索から misdirection を評価する方法『misdirection rate (以下 MR と略)』を考案した。この新しい misdirection の評価法をラットの坐骨神経切断縫合実験に使用し、その有用性を検討した。

実験材料および方法

- 1) 約200gのウイスター系雄ラットを使用し、坐骨神経切断縫合実験を行った。そのまま元の位置に神経上膜縫合したO群 (optimum suture group) を作成し、縫合後1, 2, 3, 4, 6, 8週で屠殺し経時的变化を検討した。
- 2) 同様に、180度捻転縫合したものR群 (180° rotational suture group, n=11) を作成し、切断縫合していない左側はC群 (control, n=6) とし縫合法の差を検討した。いずれも前下腿筋群 (腓骨神経支配) に1% WGA-HRP 20 μ l を注入、2日後に誘発筋電図を記録しいずれも全身灌流固定した。脊髄・坐骨神経を摘出し、2~3時間の後固定を行い、下腿三頭筋、前脛骨筋の湿重量を測定した。その後、50~60 μ mの脊髄・坐骨神経の凍結切片を作成し、Mesulamの方法に準じ取り込まれたWGA-HRPを発色させた。脛骨神経側の標識軸索数を全標識軸索数で除すことによりMRを算出した。

結 果

- 1) 標識軸索数、標識前角細胞数、筋湿重量、運動神経伝導速度、誘発波の振幅の各 parameter は縫合後2~3週で回復し始め4~6週で安定した。今までの報告と同様、MRを算出する (軸索が十分に標識される) 時期としては、6週以降が適当であることを再確認した。
- 2) 縫合後8週における各群 (O群, R群, C群) の結果を比較した。縫合部中枢側の各群の標識軸索数はO群では177 \pm 70, R群では173 \pm 86, C群では106 \pm 32で、標識前角細胞数はそれぞれ235 \pm 47, 239 \pm 165, 146 \pm

25であり、いずれもC群では少なくO群R群間には有意差を認めなかった。なお各群とも標識軸索数は、標識前角細胞数より少ない傾向にあった。次にMRはそれぞれ $41 \pm 6\%$ 、 $83 \pm 8\%$ 、 $6 \pm 3\%$ であり、O群R群C群間に有意差を認めた($p < 0.001$)。また縫合部末梢側における標識軸索数はともに中枢側より少なく、そのMRはそれぞれ $9 \pm 7\%$ 、 $9 \pm 10\%$ で、ともにC群の6%に近かった。

縫合後8週におけるO群R群の筋湿重量について両群とも健側に対しては有意に軽かったが、O群R群間には有意差を認めなかった。運動神経伝導速度、誘発波の最大振幅値に関しても、ともにO群R群間には有意差を認めなかった。

考察と結語

1) WGA-HRPの利用により再生軸索の走行を直接的に末梢神経レベルで把握し、機能に直接関係するmisdirectionをラットの坐骨神経横断面において定量化する方法『misdirection rate (MR)』を考案した。またもろい坐骨神経横断切片の安定化のため摘出坐骨神経の後固定を2～3時間加えた。この方法で算出したMRの結果は脊髄レベルで報告されているものとはほぼ同様の結果であったが、簡便さとmisdirectionを直接評価している点でより優れている。

2) 標識軸索数、標識前角細胞数、筋湿重量、運動神経伝導速度、誘発波の振幅は、縫合法に関係なく軸索の再生、成熟過程を表していたが、ラットにおいては縫合法の差を反映する機能評価としては不適当であると判断された。

一方MRは縫合法の差を明確に反映する方法で、標識軸索数、標識前角細胞数などが諸条件で多少変化しても算出可能であり、機能評価の困難な動物において簡便かつ非常に有用な評価法であると言える。

論文審査の結果の要旨

申請者細江英夫は、WGA-HRPにより再生軸索を標識しmisdirectionを評価する方法を考案し、ラットの坐骨神経切断縫合実験に使用しその有用性を検討した。その結果、この評価法は他の方法では不可能であった縫合法の差によって生じるmisdirectionの差(機能の差)を明確に表現することを明らかにした。この結果は末梢神経損傷の研究ならびに治療の進歩に寄与するものと認める。

[主論文公表誌]

再生末梢神経のmisdirectionに関する実験的研究

新しい評価法“misdirection rate (MR)”の考案

平成7年1月発行 岐阜大医紀 43(1): 119～125, 1995