

氏 名	廣 藤 真 司
(ふ り が な)	(ひろふじ しんじ)
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学 位 授 与 番 号	乙 第 号
学 位 審 査 年 月 日	平成 26 年 7 月 9 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 名	Role of sodium channels in recovery of sciatic nerve-stretch injury in rats (ラット坐骨神経伸長損傷後の回復におけるナトリウムチャネルの役割)
論 文 審 査 委 員	(主) 教授 佐 浦 隆 一 教授 矢 野 貴 人 教授 林 秀 行

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

《背景と目的》

外傷や四肢先天異常による脚長差に対する治療として脚延長手術が行われている。術後合併症として末梢神経伸長損傷による神経支配領域の疼痛、感覚異常を生じることがあり、そのまま脚延長を続けると神経症状が増悪するため、脚延長を中断せざるを得ないことも少なくない。この疼痛、感覚異常の発現には、痛覚伝達に関与する無髄神経 C 線維の起始である後根神経節 (dorsal root ganglion、DRG) におけるテトロドトキシン抵抗性電位依存性ナトリウムチャネル (tetrodotoxin-resistant voltage-gated sodium channels、TTX-R VGSCs) 発現量の変化が関与すると考えられている。

これまで、神経の伸長損傷による TTX-R VGSCs の α subunit である Nav1.8、Nav1.9 の発現量の減少が報告されているが、神経損傷後の Nav1.8、Nav1.9 の発現量の経時的変

化については明らかではない。

そこで本研究では、ラット坐骨神経伸長損傷モデルを用いて、神経伸長損傷後の回復過程における Nav1.8、Nav1.9 の mRNA 発現量、電気生理学的特性、無髄神経線維の微細構造、痛覚閾値の変化を検討し、Nav1.8、Nav1.9 の mRNA 発現量の変化と損傷神経の組織学的修復および機能的回復過程との関連について考察した。

《対象と方法》

10 週齢、雄の Sprague-Dawley ラットを用いた。右大腿骨に骨延長器を設置後、大腿骨中央で骨切りを行い、1 日 1.5 mm で 10 日間延長した。脚延長終了翌日、10 日、20 日、30 日後に下記評価を行い、各群を E1 群 (n=8)、E10 群 (n=8)、E20 群 (n=8)、E30 群 (n=8) とした。また健常群を N 群 (n=5)、右大腿骨に骨延長器を設置し骨切りのみを行った偽手術群を S 群 (n=5) とし、S 群は偽手術 40 日後に下記評価を行った。

〈評価項目〉

1、電気生理学的評価

麻酔下に右坐骨神経を坐骨切痕部で刺激し、腓腹筋外側頭での複合筋活動電位 (Compound muscle action potentials、CMAP) を測定した。

2、TTX-R VGSCs の mRNA 発現量の評価

麻酔下に右第 4、5 腰神経の DRG を採取し real-time RT-PCR を用いて TTX-R VGSCs の α subunit である Nav1.8、Nav1.9 の mRNA 発現量を測定した。

3、組織学的評価

実験期間終了時に灌流固定を行い、坐骨神経をエポキシ樹脂に包埋後、薄切し透過型電子顕微鏡を用いて坐骨神経無髄神経線維の組織学的評価を行った。

4、行動評価

延長開始前日から実験期間終了日まで隔日毎に von Frey filament を用いて右足底を刺激し痛覚閾値を測定した。

《結 果》

1、電気生理学的評価

E1 群では CMAP の潜時、振幅ともに N 群および S 群と比較し、有意な遅延、低下を認めたが、E30 群では N 群および S 群と同等レベルに回復した。

2、TTX-R VGSCs の mRNA 発現量の評価

E1 群の Nav1.8、Nav1.9 mRNA 発現量は N 群および S 群と比較し有意に減少していたが、Nav1.8 は E10 群で発現量の増加傾向を認め、E20 群で正常化した。また、Nav1.9 mRNA 発現量は E10 群で回復し正常化していた。

3、組織学的評価

透過型電子顕微鏡を用いて E1 群および E10 群の坐骨神経無髄神経線維を検索したところ、細胞内骨格の減少、軸索の膨化、空胞変性など神経変性の所見を認めた。一方、E20 群では再生軸索が出現し、さらに E30 群では正常神経の形態に類似した無髄神経線維数が増加していた。

4、行動評価

痛覚閾値は脚延長開始後から低下しはじめ、6 日目以後は脚延長開始前と比較して有意な低下を認めた。そして、脚延長終了後は徐々に回復し、26 日後には脚延長終了直後に比較し痛覚閾値が有意に上昇したが、30 日後でも脚延長開始前のレベルには回復しなかった。

《考 察》

坐骨神経伸長損傷後の回復過程では、減少した TTX-R VGSCs の mRNA 発現量がまず正常化し、続いて無髄神経線維の再生、CMAP の改善、痛覚閾値の上昇が認められた。

このことから、末梢神経伸長損傷後早期からの TTX-R VGSCs の発現量の増加が、損傷神経の組織学的修復と機能的回復を促す役割を担う可能性が示唆された。

論文審査結果の要旨

外傷や四肢先天異常による脚長差に対する治療として脚延長手術が行われる。しかし、術後合併症として末梢神経伸長損傷による神経支配領域の疼痛、感覚異常を生じることが少なくない。この疼痛、感覚異常の発現には、痛覚伝達に関与する無髄神経 C 線維の起始である後根神経節におけるテトロドトキシン抵抗性電位依存性ナトリウムチャネルの α subunit である Nav1.8、Nav1.9 発現量の変化が関与すると考えられているが、神経損傷後の Nav1.8、Nav1.9 発現量の経時的变化と損傷神経の組織学的修復および機能的回復との関連は明らかにされていない。

そこで、申請者は脚延長後の損傷神経の回復機序について明らかにするために、ラットの右大腿骨に骨延長器を設置し脚延長を行った坐骨神経伸長損傷モデルを用いて、Nav1.8、Nav1.9 の mRNA 発現量、電気生理学的特性、無髄神経線維の微細構造、痛覚閾値の経時的变化を検討し、以下の結果を得た。

坐骨神経伸長損傷後、後根神経節において減少した TTX-R VGSCs の mRNA 発現量は損傷後早期から経時的に正常化し、続いて損傷無髄神経線維の再生、CMAP の改善、痛覚閾値の上昇傾向が認められた。

以上より、末梢神経伸長損傷後早期からの TTX-R VGSCs の発現量の増加が、損傷神経の組織学的修復と機能的回復を促す役割を担う可能性が示されたが、これらの知見は神経伸長損傷後の神経の回復機序解明の一助になると考えられる。

以上より、本論文は本学学位規程第 3 条第 2 項に定めるところの博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Muscle & nerve 50(3): 425-430, 2014