

Valnerability of Gradually Elongated Peripheral Nerves

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9488

末梢神経慢性伸張時における易損傷性に関する実験的研究

金沢大学医学部医学科整形外科科学講座 (主任: 富田勝郎教授)

横 山 光 輝

末梢神経の伸張を行った場合の神経の易損傷性を解明する目的で、家兎坐骨神経を伸張し圧迫損傷を加え検討を行なった。日本白色家兎の大腿骨に脚延長器を装着し、1日2.0 mm (2.0 mm伸張群)と1日4.0 mm (4.0 mm伸張群)の速度で合計30 mmの脚延長を行なうことによって、坐骨神経の伸張を行った。脚延長終了後、坐骨神経の中央部に15 g/0.1cm²、30 g/0.1cm²、60 g/0.1cm²の圧迫損傷を30分間加えた。脚延長しない家兎の坐骨神経を対照群として、同様な圧迫損傷を加えた。神経圧迫前、直後、神経圧迫後2、4、8週のそれぞれにおいて電気生理学的・組織学的検討を行なった。電気生理学的には複合神経活動電位の変化を観察し、組織学的には神経圧迫部位とその10 mm近位および遠位の神経を採取して電顕で観察した。対照群において15 g/0.1cm²の圧迫損傷は、電気生理学的にも組織学的にも問題の生じない軽微な圧迫であった。30 g/0.1cm²の圧迫損傷では、複合神経活動電位の振幅において圧迫直後には7.01 ± 1.21 mVであったが、圧迫後8週では13.56 ± 2.01 mVとなり、圧迫前の16.5 ± 0.99 mVとは有意差がなく一過性神経不動化 (neurapraxia)の状態であった。60 g/0.1cm²の圧迫損傷は8週までに十分回復傾向を示す軸索断裂 (axonotmesis)の状態であった。2.0 mm伸張群では、複合神経活動電位の振幅は低下し、軽度の伝導障害を認めた。15 g/0.1cm²の圧迫損傷では、1.94 ± 0.55 mVと振幅は低下したが、8週後には3.39 ± 0.32 mVまで回復し、一過性神経不動化の状態と考えられた。30 g/0.1cm²の圧迫損傷では、電気生理学的には2週間後に0.55 ± 0.14 mVと振幅は低下した。8週後における組織所見において、圧迫部と10 mm遠位部において正常神経線維に混じって、小径の神経線維の再生像が認められた。複合神経活動電位の振幅においても1.12 ± 0.22 mVと回復傾向を示した。したがって、この損傷は神経線維の一部に軸索断裂を含んだ状態と考えられた。60 g/0.1cm²の圧迫損傷で複合神経活動電位の振幅は、圧迫直後には0.65 ± 0.15 mVであり、8週後でも0.61 ± 0.19 mVであり電気生理学的な回復は認められなかった。組織学的には小径線維の再生像は認められたが、髄鞘形成は未熟な状態でありその数は少なかった。つまり、“回復の遅れる軸索断裂の状態”と考えられた。4.0 mm伸張群では、伸張直後には複合神経活動電位の振幅は1.34 ± 0.18 mVとなり、圧迫前から有意な伝導障害を生じていた。15 g/0.1cm²の圧迫損傷8週後においても振幅は0.89 ± 0.33 mVと回復を認めなかった。組織学的には、8週後で薄い髄鞘を伴った小径の軸索がまばらに認められたが、神経内膜には線維化が生じていた。この変化は圧迫部より近位まで広がっていたことから、“遠位性軸索変性を伴った回復の遅れる軸索断裂”と考えられた。つまり、慢性伸張された神経においては、健常神経では問題とならない程度の軽微な圧迫力でも、容易にWaller変性に陥り、その上その障害範囲は圧迫部を中心に広範囲に及んだ。また、伸張群で認められた“回復の遅延する軸索断裂”は、伸張された神経に特有の障害形態である。結論として、神経欠損に対して神経伸張が将来的に臨床へ応用されるようになった場合、過度の速度で伸張された神経は易損傷性であることから、その際には圧迫損傷に対して十分な注意を払う必要がある。

Key words peripheral nerve, elongation, compression injury

外傷や腫瘍切除により末梢神経が欠損した場合には、自家神経移植が行なわれている。しかし、縫合部が2か所になることや神経の径が一致しないことから、端々縫合に比べその成績は劣る¹⁾。そこで、神経を伸張することで、神経移植の代用とする試みがなされるようになった²⁾³⁾⁴⁾。つまり、欠損長だけ神経を伸張することで、縫合部は1か所となり神経の径も一致する。この方法が確立されれば理想的な神経欠損再建方法となる。末梢神経の延長モデルとして、当教室の森下が創外固定器を家兎の大腿骨に装着することで坐骨神経の伸張を行った⁵⁾。そして、伸張速度の違いによる神経障害の有無について検討を行った。それによると、1日0.8 mm以下の神経伸張は伝導障害なしに延

長可能であるが、2.0 mm以上では神経がWaller変性に陥っていないにもかかわらず伝導障害をきたしていた。さらに中山は、1日4.0 mmの神経伸張ではWaller変性には陥らないが、伸張後8週においても伝導性の回復が認められないことを報告した⁶⁾。このような、変性に陥らずに伝導障害が持続するという病態は、神経伸張時に特有のもので、神経切断時や圧迫損傷時には認められないものである。このように速い速度で慢性伸張された神経が易損傷性になることは容易に想像がつく。しかし、伸張神経がどの程度までの損傷ならば可逆的な変化を示すかについての基礎的な報告はない。本研究では、森下のモデルにさらに圧迫損傷を加えることにより、その回復の程度を評価することと

平成12年9月4日受付, 平成12年10月17日受理

Abbreviations : C-NAP, compound nerve action potential

した。つまり、健常な神経では問題とならない程度の軽微な圧迫損傷によって、伸張神経には障害が加わるかどうかを検討した。また、その場合の軸索再生能力は健常な神経と比較して違いがあるのかについても検討を行った。

対象および方法

I. 慢性神経伸張モデルの作成

体重2.5 kgから3.0 kgの雄、日本白色家兎50羽を実験動物として使用した。家兎に塩酸ケタミン(三共、東京)を筋肉内注射(40~50 mg/kg)し、その後ペントバルビタール(大日本製薬、東京)を静脈内投与(30~50 mg/kg)して全身麻酔を行なった。左大腿骨を外側から展開して、全周性に骨膜を剥離した。4本のハーフピン(OR-HM65-5025, Jaquet orthopedie S.A., Geneva, Switzerland)を骨軸に垂直に刺入後、当科で作製した骨延長器を装着した。この延長器はネジを一回転させることで、0.8 mm延長できる機構を持っている。Thread wire saw(越屋、金沢)⁷⁾を用いて骨幹部で骨切りを行った。創を閉じる前に、アミノグルコシド系抗生物質(カナマイシン、明治)20 mg入り生理食塩水100 mlを用い洗浄した。筋膜・皮膚の縫合を行ない手術を終了した。創の治癒を得るために1週間待機し、その後延長を開始した。1日に1回の延長操作を行なった。延長速度は、1日2.0 mm(2.0 mm伸張群:n=18)と、1日4.0 mm(4.0 mm伸張群:n=6)とした。総延長30 mmまで脚延長を行なった。

脚延長終了後、血管用ミニクリップ(Aesculap, 東京)(図1)を用いて坐骨神経の中央部に15(n=12), 30(n=8), 60(n=4) g/0.1cm²の圧迫力を30分間加えた。圧迫前、圧迫直後、圧迫後2週、4週、8週の坐骨神経について検討を行なった。坐骨神経に伸張操作を加えないものを対照群(n=18)として、その坐骨神経に同様に15 g/0.1cm²(n=6), 30 g/0.1cm²(n=6), 60 g/0.1cm²(n=6)の圧迫力を30分間加えた。

II. 電気生理学的検討

伸張終了後、圧迫直後、圧迫後2週、4週、8週の坐骨神経について検討を行なった。測定には一羽の家兎に対して圧迫前、

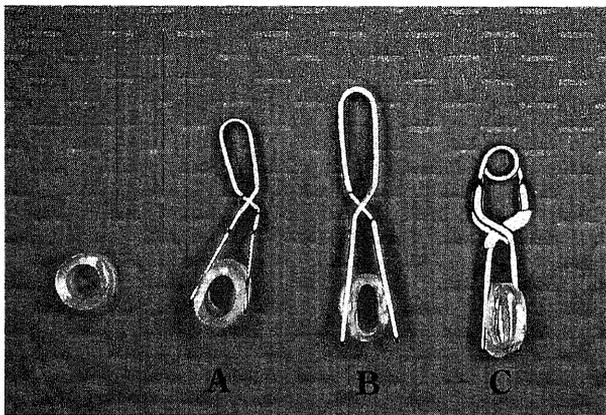


Fig. 1. Sciatic nerves are compressed using mini-clips. (A) a 15 g/0.1cm² compression mini-clip, (B) a 30 g/0.1cm² compression mini-clip, (C) a 60 g/0.1cm² compression mini-clip. Silicone tubes, diameter of 3.0 mm, are clipped by each clip.

圧迫直後、圧迫後2週、4週、8週において、毎回麻酔を行い坐骨神経を展開することで行った。塩酸ケタミン(三共、東京)を筋肉内注射(40~50 mg/kg)し、その後ペントバルビタールを静脈内注射して全身麻酔を行なった。坐骨神経を坐骨切痕と腓骨小頭で展開して、坐骨切痕部刺激で腓骨神経の筋肉進入部導出の複合神経活動電位(compound nerve action potential, C-NAP)を測定した。刺激部位には双極電極(ユニークメデイカル、大阪)を、導出部位には単極電極を用い、基準電極は腓骨筋に刺入した(図2)。刺激と記録には筋電計システムEuropack 1000(日本光電、東京)を使用した。電気刺激は0.05ミリ秒の矩形波で、頻度を1Hz、強度を最大上刺激とし、10回の加算平均を行なった。大腿外側部を展開することによる坐骨神経への手術操作の影響をみるため、神経圧迫時、2週、4週、8週において健常家兎の坐骨神経部位を展開して、C-NAPの測定を行なった。また、坐骨神経に対する手術操作による影響をみるため、健常家兎の大腿外側部を2週間ごとに展開して、坐骨神経のC-NAPの測定を行なった。

1. C-NAPの波形変化の検討

得られた波形から、C-NAPの潜時、持続時間、全振幅の測定を行ない、各群について比較検討した。

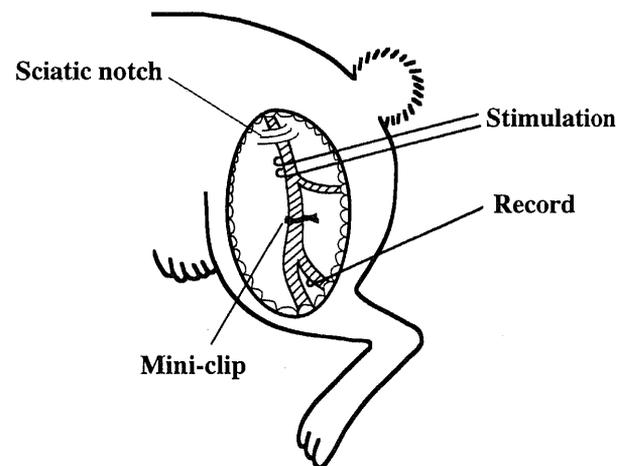


Fig. 2. A diagram showing the method for recording the compound nerve action potential. A stimulating electrode is placed in contact with the sciatic nerve at the sciatic notch and a recording electrode is placed in the peroneal nerve at the level of the fibular head. The center of the sciatic nerve is compressed by a mini-clip.

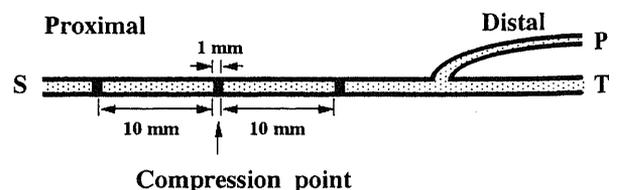


Fig. 3. The cross section of the sciatic nerve is observed by an electron microscopy at the level of the compression point, 10 mm distal, and 10 mm proximal to the compression point.

3. 統計学的検定方法

電気生理学的検討で得られた成績は、すべて $\bar{x} \pm \text{SEM}$ で示した。各群間の有意差の判定には、Wilcoxonの符号付順位検定を用いて検討を行なった。p<0.05を有意差ありと判定した。

III. 組織学的検討

電気生理学的検討を行ったのち、組織学的検討を行った(n=25)。開腹後に腹部大動脈に灌流用カニューレを挿入し、ヘパリンナトリウム(和光化学、大阪)を10単位/ml含有の生理食塩水3ℓで灌流し、2.5%グルタルアルデヒド-2%パラホルムアルデヒド-0.1Mリン酸緩衝液3ℓを灌流して固定を行なった。両側の坐骨神経を展開し摘出した。坐骨切痕部(神経圧迫部位から10mm近位)、神経圧迫部(坐骨神経中央部)、圧迫部より10mm末梢部位の神経を細切片にし、2%グルタルアルデヒド-0.1Mリン酸緩衝液にて8時間浸潤固定した。1%オスミウム酸-0.1Mリン酸緩衝液で後固定を行なった。その後、エチルアルコールで脱水し、エポン812に包埋した。

坐骨神経の圧迫部と圧迫部を挟んで近位と遠位10mmの部位において検討を行った(図3)。神経横断超薄切片を作成して、HS-8、H-500型透過型電子顕微鏡(日立、東京)を用いて観察した。

成 績

I. 電気生理学的検討

1. 対照群

圧迫前の健常坐骨神経におけるC-NAPの潜時は 1.27 ± 0.05 ミリ秒、持続時間は 10.19 ± 0.41 ミリ秒、振幅は 16.55 ± 0.99 mVであった。15g/0.1cm²の圧迫損傷を加えた場合、圧迫により潜時は、 1.35 ± 0.16 ミリ秒と軽度の延長を認め、持続時間

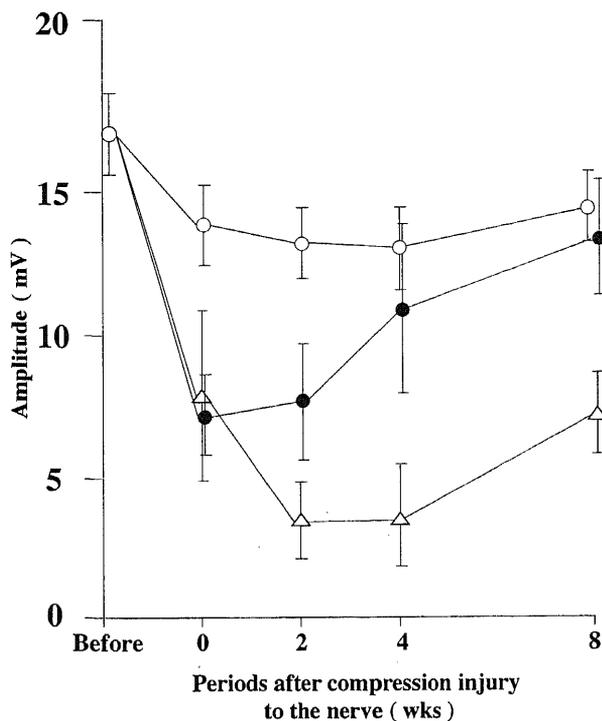


Fig.4. Amplitude of C-NAP in the control group. ○, 15 g/0.1cm² compression; ●, 30 g/0.1cm² compression; △, 60 g/0.1cm² compression. Data are $\bar{x} \pm \text{SEM}$.

は 10.26 ± 0.76 ミリ秒と軽度の延長を認め、振幅は 14.86 ± 0.97 mVとやや低下した。しかし、これらは統計学上、有意な変化ではなかった。圧迫後2週、4週、8週においても潜時、持続時間、振幅は圧迫前と比較して有意な変化を示さなかった。30g/0.1cm²の圧迫損傷では、圧迫直後にC-NAPの潜時は 1.26 ± 0.19 ミリ秒、持続時間は 11.13 ± 0.94 ミリ秒、振幅は 7.01 ± 1.21 mVとなった。この変化はそれぞれ統計学上、有意差のある変化であった。2週後の振幅は 7.83 ± 1.93 mVで、4週後には 10.25 ± 2.82 mVとなり明らかな改善傾向を認めた。しかし、圧迫前の波形と比較した場合には、潜時、持続時間、振幅ともに有意な差があった。8週後において潜時は 1.08 ± 0.06 ミリ秒、持続時間は 11.21 ± 0.88 ミリ秒、振幅は 13.56 ± 2.01 mVとなり、圧迫前との有意差はなくなった。60g/0.1cm²の圧迫損傷では、圧迫直後の潜時は 1.61 ± 0.10 ミリ秒、持続時間は 11.03 ± 0.56 ミリ秒、振幅は 8.02 ± 2.47 mVと変化し、その変化の程度は30g/0.1cm²の圧迫損傷を行った場合と同程度であった。2週後の振幅は 2.91 ± 0.70 mVとなり、60g/0.1cm²の圧迫損傷では2週目において、大きく振幅低下を示した。8週において波形は多相性となり、振幅は 5.96 ± 0.98 mVまで回復したが、この時点においても圧迫前と比較して、有意な低下を示していた(図4)(表1)。

2. 2.0 mm伸張群

1日2.0mmの速度で神経を伸張した結果、潜時は 1.33 ± 0.06 ミリ秒、持続時間は 9.88 ± 2.70 ミリ秒、振幅は 4.75 ± 0.43 mVとなった。振幅は対照群の圧迫前と比較して有意に低下していた。15g/0.1cm²の圧迫損傷を加えると、潜時は 1.51 ± 0.09 ミリ秒、持続時間は 11.48 ± 0.80 ミリ秒、振幅は 1.94 ± 0.55 mVとなり、圧迫前と比較して有意に低下した。2週では、潜時は 1.38 ± 0.09 ミリ秒、持続時間は 9.97 ± 0.70 ミリ秒、振幅は 2.79 ± 0.46 mVとなり、圧迫前と有意差は認められないまでに回復を示した。4週、8週後でも同様に有意差はなかったが、波形は多相性であった。30g/0.1cm²の圧迫損傷では圧迫後、潜時は 1.64 ± 0.06 ミリ秒、持続時間は 11.38 ± 0.95 ミリ秒、振幅は 2.07 ± 0.49 mVとなり、有意に低下を示した。振幅の変化は2週では 0.55 ± 0.14 mV、4週では 0.85 ± 0.28 mV、8週では 1.12 ± 0.22 mVとなり改善傾向を示したが、圧迫前と比較した場合には有意差のある変化が継続していた。また、波形は持続時間の短い多相性のものであった。60g/0.1cm²の圧迫損傷では、圧迫後、潜時は 1.72 ± 0.06 ミリ秒、持続時間は 11.00 ± 0.45 ミリ秒、振幅は 0.65 ± 0.15 mVとなり、有意に低下した。2週、4週、8週と経過するにしたがい、潜時・持続時間は遅延し、改善傾向は認められず悪化傾向を示した。振幅においても改善はなく、多相性などの回復を示す波形も認められなかった(図5)。

3. 4.0 mm伸張群

1日4.0mmの速度で神経を伸張した結果、潜時は 1.82 ± 0.08 ミリ秒、持続時間は 10.24 ± 0.97 ミリ秒、振幅は 1.34 ± 0.18 mVとなった。波形は小さく多相性であり、圧迫前から明らかな伝導障害を示していた。15g/0.1cm²の圧迫損傷を加えると、潜時は 2.58 ± 0.13 ミリ秒、持続時間は 13.52 ± 1.64 ミリ秒、振幅は 0.65 ± 0.13 mVとなり、圧迫前と比較して有意に低下した。2週目以降においても回復傾向は認めなかった。8週後では潜時は 3.25 ± 0.44 ミリ秒、持続時間は 14.38 ± 0.62 ミリ秒、振幅は 0.89 ± 0.33 mVとなり、有意差のある回復は認めら

Table 1. Compound nerve action potential (C-NAP)

Group	Compression force (g/0.1cm ²)	Pre-compression	Periods after compression injury to the nerve			
			Immediately after	2 weeks after	4 weeks after	8 weeks after
C	15	1.27±0.05	1.35±0.16	1.67±0.12	1.70±0.19	1.67±0.14
		10.19±0.41	10.26±0.76	9.12±0.85	8.69±0.63	8.50±0.54
	30		1.26±0.19*	1.17±0.13*	1.34±0.08*	1.08±0.06
I	15	1.33±0.06	1.51±0.09*	1.38±0.09	1.39±0.02*	1.31±0.03*
		9.88±2.70	11.48±0.80*	9.97±0.70	9.23±0.84	9.09±0.72
	30		1.64±0.06*	1.81±0.11*	1.87±0.18*	2.13±0.15*
II	15	1.82±0.08	2.58±0.13*	3.66±0.35*	3.81±0.33*	3.25±0.44*
		10.24±0.97	13.52±1.64*	12.12±0.70	12.51±0.73	14.38±0.62
	60		1.61±0.10*	1.47±0.13*	1.71±0.26*	1.86±0.22*
			11.03±0.56*	13.58±0.85*	12.75±1.18*	12.1±0.55*
			11.13±0.94*	12.02±1.26*	13.08±0.97*	11.21±0.88*
			11.38±0.95*	12.50±0.93*	12.00±0.70*	13.47±0.49*
			11.00±0.45*	12.47±0.78*	13.85±0.55*	15.02±0.23*

Group C, control group; group I, 2.0 mm/day elongation group; group II, 4.0 mm/day elongation group. The upper row represents latency (msec), and the lower row represents duration (msec). Values are $\bar{x} \pm \text{SEM}$. * $p < 0.05$ compared with each pre-compression group (Wilcoxon signed rank sum test).

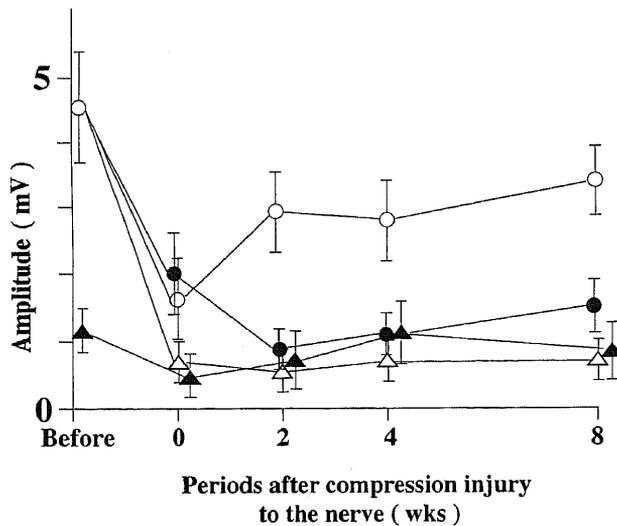


Fig. 5. Amplitude of C-NAP in the elongation group. ○, 15 g/0.1cm² compression in the 2.0 mm group; ●, 30 g/0.1cm² compression in the 2.0 mm group; △, 60 g/0.1cm² compression in the 2.0 mm group; ▲, 15 g/0.1cm² compression in the 4.0 mm group. Data are $\bar{x} \pm \text{SEM}$.

れなかった (図 5)。

4. 坐骨神経展開操作での神経損傷の有無に対する評価

健常家兎の坐骨神経の C-NAP を測定した。初回坐骨神経展開操作時に C-NAP を測定した。その後、2 週、4 週、8 週後においても測定を繰り返したが、潜時、持続時間、振幅において有意差のある変化は認められなかった。

II. 組織学的検討

対照群において 15, 30 g/0.1cm² の圧迫損傷では、圧迫直後、そしてそれ以降においても組織学的変化は認められなかった。60 g/0.1cm² の圧迫損傷後、圧迫部には正常な軸索はまばらとなっていた。しかし、圧迫部の近位部と遠位部には変化は認められなかった。2 週後には、圧迫部と遠位部には変性に陥った軸索や髓鞘の一部が多く認められ、正常な軸索はまばらとなった。近位部には変化を認めなかった。8 週後には圧迫部と遠位部において髓鞘形成を伴う軸索が認められるようになった。4 週後に比較して再生神経は軸索の太さ・数を増していた (図 6)。近位部では、圧迫による影響を受けることなく正常な神経の形態であった。2.0 mm 伸張群では、伸張後において脱髄性変化や軸索変性は認めなかったが、軸索の一部が萎縮して細小化していた。15 g/0.1cm² 圧迫損傷を加えた直後の神経圧迫部では、神経内膜内の浮腫のために軸索間の距離の開大を認めた。大径神経線維の一部には変性像を認めた。8 週後には、変性に陥らなかった軸索の間に、薄い髓鞘形成を伴った小径軸索が再生している像が認められた (図 7)。30, 60 g/0.1cm² の圧迫損傷により圧迫部では、大径線維の軸索や髓鞘の変性像を認めた。しかし、小径線維は正常な形態を保っていた。近位部、遠位部では変化はなかった。30 g/0.1cm² の圧迫損傷 2 週後には、圧迫部と遠位部において神経線維の配列は不規則となり、変性に陥った軸索や髓鞘の一部が認められた。近位部においては形態学的変化は認めなかった。8 週後において圧迫部と遠位部において、軸索はまばらであるが、薄い髓鞘形成を伴った小径線維を中心に再生が認められた。15 g/0.1cm² 圧迫損傷を加えた場合に比較して、再生線維は粗で未熟であった (図 8)。60 g/0.1cm² の 2 週後には、神経圧迫部・遠位部において正常な神

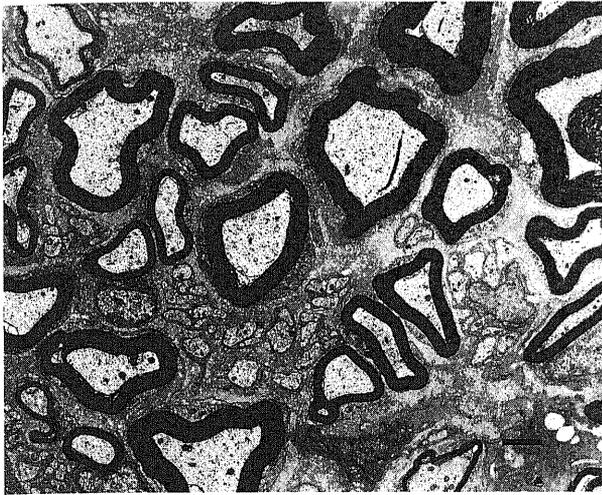


Fig.6. Electron micrograph of the control group at the level of the 10 mm distal shows mixture of the normal axons and regenerated small diameter axons 8 weeks after 60 g/0.1cm² compression. (Barr indicates 10 μm)



Fig.8. Electron micrograph of the 2.0 mm group at the level of 10 mm distal shows regenerated small diameter axons 8 weeks after 30 g/0.1cm² compression. Ensheathment of myelin is not yet completed. The regenerated axons are smaller and less than the axons in the 15 g/0.1cm² compression group. (Barr indicates 10 μm)



Fig.7. Electron micrograph of the 2.0 mm group at the level of 10 mm distal shows regenerated small diameter axons 8 weeks after 15 g/0.1cm² compression. There are smaller axons and thinner myelinated sheath than regenerated axons in the control group. (Barr indicates 10 μm)

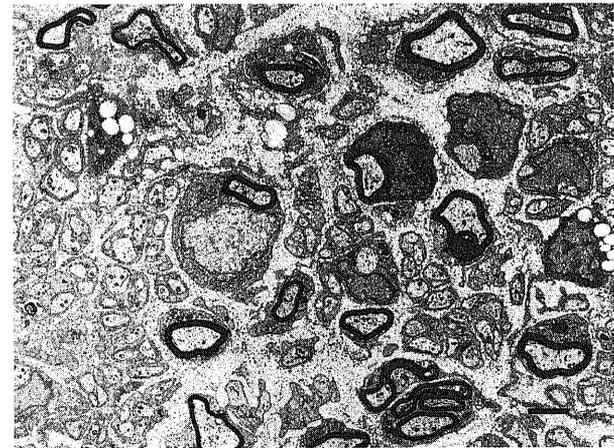


Fig.9. Electron micrograph of the 4.0 mm group at the level of the compression point shows small numbers of immature regenerated axons 8 weeks after 15 g/0.1cm² compression. Endoneurial space is occupied by collagen fibrils caused by endoneurial edema. There are no regenerated axons at the level of the 10 mm distal to the compression point. (Barr indicates 10 μm)

経線維は認められず、変性に陥った軸索と髓鞘のみを認めた。8週後においては、薄い髓鞘を伴った小径の軸索がまばらに認められた。圧迫部、遠位部において同様な所見を認めた。4.0 mm伸張群では、伸張直後においては正常な形態をした神経線維の中に、軸索および髓鞘が変形したものが混在して認められた。15 g/0.1cm²の圧迫損傷2週において正常な形態をした軸索・髓鞘は消失していた。4週後において、圧迫部の近位部・遠位部のどちらにおいても神経内の線維化が認められ、再生している神経線維は認められなかった。8週後では近位部と圧迫部において、薄い髓鞘を伴った再生小径線維がまばらに認められた。軸索間の距離は開大し、神経内膜内の浮腫は継続していた(図9)。遠位部においては再生線維は認めず、2.0 mm伸張群に圧迫を加えた場合に対して回復程度は非常に遅延した状態であった。

考 察

近年、下肢の短縮変形や腫瘍切除後の四肢の短縮を矯正するために、創外固定器を用いた脚延長術が盛んに利用されるようになった⁸⁾⁹⁾。創外固定器は最近では、手指の拘縮においても利用され、軟部組織の延長にも広く用いられている¹⁰⁾。しかし、これらの利用に伴い、合併する神経麻痺の報告も散見される¹¹⁾¹²⁾。そのため、脚延長時における末梢神経の電気生理学的検索が行なわれているが¹³⁾、臨床的に安全な延長方法はまだ確立されていない¹⁴⁾。そこで、神経の慢性伸張実験により、神経障害を生じない伸張速度や伸張量などについて研究されるようになって

てきた¹⁵⁾¹⁶⁾。しかし、伸張された神経の易損傷性について注目した研究はない。一方で、外傷などにより末梢神経が部分的に欠損した場合において、神経を伸張して欠損部を補填する試みも研究されている²⁾¹⁷⁾。これまで末梢神経の部分欠損の補填には、神経移植が行われてきた¹⁾¹⁸⁾¹⁹⁾。

神経移植では、健常部に知覚障害を残すこと、2つの縫合部を越えて神経が再生する必要があること、さらに、移植を受ける神経と移植する神経とは径が違うことなどの不利な点が挙げられる⁴⁾²⁰⁾。神経が伸張できればこれらの欠点は解決される。そこで、神経の伸張実験が行なわれるようになった²¹⁾。しかし、この場合でも伸張された神経は易損傷性であり、その神経再生能力についての研究はない。中山⁶⁾は家兎大腿骨に脚延長器を装着し、脚延長時の神経障害予防と神経伸張術の可能性について報告した。それによると1日2.0 mm以上の速度で30 mmの神経伸張を行なうと、伸張直後には伝導障害が生じるものの、8週後には回復が認められた。4.0 mmの速度で伸張した場合には、Waller変性に陥っていないにもかかわらず、電気生理学的に伝導性が消失した状態になった。そして、この状態は8週間経過しても回復しない変化であった。このWaller変性に陥っていないにもかかわらず、完全な伝導障害が継続する状態は、これまでの神経障害には当てはまらない特異的なものであり、神経活動停滞化(axonoleptostasis)と呼ばれている²²⁾。しかしながら、これが変性の前段階であるのか、また変性した場合には再生する能力があるかについては不明である。そこで、本研究では2.0 mm伸張群、4.0 mm伸張群に対して圧迫損傷を加えるモデルを作製し、その電気生理学的・形態学的変化を観察することで、神経活動停滞化に陥った神経の易損傷性および再生能力を検討した。

ここで圧迫損傷を選んだ理由は、臨床的に脚延長時における腓骨小頭での神経圧迫麻痺などの報告があり¹²⁾²³⁾、また、圧迫損傷は定量化できる利点があるからである。そのため、伸張した神経に血管クリップを用い、定量化した圧迫損傷を加えた。急性圧迫実験によれば、神経内の微小循環は減少し軸索輸送は障害を受けることがわかっている²⁴⁾²⁵⁾。それによると20 mmHgの圧迫で神経内の血流は減少し始め、30 mmHgでは軸索輸送は障害される。50 mmHgの圧迫で、神経の髄鞘には変形が認められるようになり、80 mmHgでは神経内の血流は途絶え、髄鞘は軸索から分離する²⁶⁾。臨床的にも正中神経への圧迫は、40~50 mmHgを超えると急激に症状が悪化するといわれている²⁷⁾²⁸⁾。血管クリップによる15 g/0.1cm²の圧迫力は、圧トランスデューサーを用いて計測すると30 mmHgに相当する。つまり、15 g/0.1cm²の圧迫損傷は神経の細胞骨格には影響を与えない程度のものであり、30 g/0.1cm²の圧迫損傷は神経の変性が生じ始める程度のもと考えられる。そして、60 g/0.1cm²の圧迫損傷は圧迫により神経の血流が途絶える状態であり、変性を生じ伝導性も消失するものと考えられる。以上のことから15、30、60 g/0.1cm²の圧迫損傷を血管クリップを用いて末梢神経に加えることとした。

対照群における実験から、正常神経に対する15 g/0.1cm²の圧迫損傷は神経の機能・形態に影響を与えなかった。そして、30 g/0.1cm²の圧迫損傷は一過性神経不動化の状態となったが、8週後では機能・形態とも正常に復した。60 g/0.1cm²の圧迫損傷では一部に軸索断裂を生じる状態であった。神経は順調に再生したものの、8週では完全に回復するまでには至らなかつ

た。したがって、15、30、60 g/0.1cm²の圧迫損傷は、神経に対する段階的な損傷形態を観察するのに適した圧迫力といえた。次に2.0 mm伸張群は、神経伸張後多少伝導性障害はあるものの、8週で回復する状態である。それが正常神経には問題を生じない15 g/0.1cm²の圧迫損傷で、一過性神経不動化の状態となった。しかし、その状態は2週後には正常に復した。そして、正常神経では一過性神経不動化となる程度の30 g/0.1cm²の圧迫損傷では、一部が軸索断裂に陥った。つまり、延長された神経は易損傷性があるため、正常神経に比較して機能的・形態的に変化の程度が強かった。この状態は8週後においても、完全な回復には至らなかった。しかし、神経の再生能力は保たれており、さらに経過を観察することで正常な状態まで回復するものと考えられた。正常神経でも軸索断裂を生じるような60 g/0.1cm²の圧迫損傷の場合、その回復はさらに遅延した。これは正常な神経の軸索断裂の回復過程からすると“回復の遅れる軸索断裂”という表現があてはまると考えられた。4.0 mm伸張群では、神経伸張直後にはすでに機能的・形態的障害を示していた。特に電気生理学的には、圧迫前から伝導障害があり、圧迫前後で変化をとらえることはできなかった。組織所見において、圧迫前はWaller変性に陥っていなかったが、15 g/0.1cm²の圧迫損傷で軸索断裂の状態となった。8週経過後に、近位部・圧迫部に再生した小径線維がまばらに存在したが、遠位部では回復の兆候は認められなかった。それに加えて近位部にまで神経内の線維化が認められた。広範囲に逆行性変性が進んでいくこの状態は、遠位性軸索変性と同様であった²⁹⁾³⁰⁾。この状態は、さらに回復の遅延した“遠位性軸索変性を伴った回復の遅れる軸索断裂”という表現があてはまると考えられた。

今回の実験から伸張された神経の易損傷性と再生能力の低下が証明された。障害の程度は、軽度の圧迫でも神経の伸張速度が速いほど重症となっていた。また、伸張速度が速いほど再生能力は低下していた。その原因としては、神経自体の血流低下、血液神経関門の破綻および軸索流の停滞などが考えられる。まず、血流低下については急性伸張実験で多くの報告がある。それによれば6%までの伸張であれば血流低下は回復した³¹⁾。しかし、10%³²⁾³³⁾~15%³⁴⁾の伸張で伝導障害をきたす血流低下を生じた。これは物理的に血管が引き延ばされ内腔が狭小化したためである。しかし、神経を慢性に伸張すれば、40%の伸張においても血流は保たれていた³⁵⁾。つまり、緩徐に神経伸張を行うことで、血管も機能を保ったままで伸張されるのである。したがって、われわれのモデルでも機能障害を生じない0.8 mmの速度の伸張であれば血流は温存されていたと考えられる⁹⁾が、今回の実験のように2.0 mmもしくは4.0 mmという速い速度では、血流は低下したものと考えられた。ただし、このことを証明するには、水素クリアランス法を含めた神経の血流評価が今後の課題である³⁶⁾。次に、血液神経関門については、伝導障害がまだ現れない時期において、すでに障害が現れるといった報告がある³⁷⁾。実際、2.0 mmの伸張速度であっても血管の透過性が亢進し、蛋白の漏出が確認されている²¹⁾。このため神経内浮腫が惹起され、神経内線維化が生じ神経再生を阻害したものと考えられた。最後に、軸索流の停滞については、既にこのモデルについて証明されている⁹⁾。それによれば、逆行性軸索流は2.0 mmの速度では遅滞し、4.0 mmの速度では停滞していた。したがって、軸索の細胞骨格であるニューロフィラメン

トの供給が滞るために、軸索の修復が遅延するものと考えられる。ラット坐骨神経の急性圧迫モデルではWaller変性には陥っていないが、軸索流は障害される病態が報告されている³⁸⁾。これは、2.0 mm伸張群に対して15 g/0.1cm²の圧迫損傷を加えた一過性神経不動化の状態に類似した病態である。どちらも軸索流の停滞が神経の回復を遅らせる原因となっていると考えられた。

伸張された神経は易損傷性であり、再生能力が低下している。このような病態は、脚延長が臨床的に応用されるようになってきてから、注目されるようになった³⁹⁾⁴⁰⁾。つまり、自然界では存在しなかった神経の病態であった。しかし、神経が易損傷性である状態は重複神経障害の場合に知られている⁴¹⁾⁴²⁾。これは既存の圧迫障害を有する神経は、圧迫部以遠の新たな圧迫に対して易損傷性であるという病態である。神経に慢性圧迫損傷を加えた場合、軸索流が障害を受け、神経の細小化が生じる。圧迫力がごく軽度な場合には、圧迫部より末梢に生じる変化は神経狭小化(axonostenosis)と呼ばれ、伝導性は保たれる。しかし、さらに圧迫力を増した場合には、伝導性の低下も生じ、軸索悪液質(axonocachexia)の状態となる⁴³⁾。今回の実験モデルでの4.0 mm伸張群は、変性に陥っていないにもかかわらず、伝導性に障害を生じていたことから、この軸索悪液質の状態と類似した状態となっていた。この4.0 mm伸張群では重複神経障害の場合と同様に軽度の圧迫損傷により、すみやかに変性が近位部に広がり、遠位性軸索変性と同様な状態を生じた。このように広範に変性が生じることは、再生に対して不利に作用する。したがって、臨床的にはこのように速い速度の神経伸張や脚延長は慎むべきと考える。

神経欠損部において、神経を伸張し神経移植の代用とする場合には、神経の中樞側か、または遠位側を延長することになる。中樞側の伸張では、1日2.0 mm以下の速度でないと、神経狭小化をきたし軽微な圧迫により障害をうけやすく神経再生に不利になると考えられる。切断された末梢側を伸張する場合には、すでに神経が変性に陥っていることから、さらに速い速度で伸張を行うことは可能である。しかし、過度な速度で神経を伸張することは、血行障害を惹起し、再生にも不利に働く可能性もある。神経伸張術については、今後も多くの検討課題があると思われる。また、臨床的には脚延長は、骨形成に適した速度で延長が行われているため、可逆的な神経障害が多かった。しかし、骨形成能促進の試みが実現された場合には、骨延長の速度はさらに増大することが予想される。その時には、骨延長の速度は神経障害を生じない程度に制限されるべきである。つまり、末梢神経が圧迫損傷を受けても、その損傷が一過性神経不動化の段階を超えない延長速度と圧迫力を理解することが重要である。つまり、もし1日2.0 mmで神経長の30%まで脚延長するとしたならば、15 g/0.1cm²といった軽微な圧迫をも許さない管理が必要ということである。

結 論

家兔の大腿骨を延長することにより、坐骨神経を慢性的に伸張した。対照群、2.0 mm伸張群、4.0 mm伸張群に対し、15、30、60 g/0.1cm²の圧迫損傷を加えた。圧迫前、圧迫直後、2週後、4週後および8週後に電気生理学的、組織学的検討を行った。

1. 対照群では15 g/0.1cm²の圧迫損傷では神経の機能・形態

に影響を与えず、30 g/0.1cm²では一過性神経不動化の状態となり、60 g/0.1cm²では軸索断裂の状態となる。

2. 2.0 mm伸張群では15 g/0.1cm²の圧迫損傷では、一過性神経不動化の状態となり、30 g/0.1cm²では、一部に軸索断裂を生じ、60 g/0.1cm²では、“回復の遅れる軸索断裂の状態”となった。

3. 4.0 mm伸張群では、15 g/0.1cm²の圧迫損傷では“遠位性軸索変性を伴った回復の遅れる軸索断裂”となった。

謝 辞

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜りました恩師富田勝郎教授に深甚なる謝意を表します。また直接御指導を賜りました金沢大学医学部整形外科学講座池田和夫講師、そして組織学的実験および検討において御指導を賜りました同医学部解剖学第二講座田中重徳教授に深謝致します。最後に本研究を遂行するにあたり、御協力を戴きました検査部湯上博技官、解剖学第二講座白石昌武技官に感謝の意を表します。なお、本論文の要旨は第13回日本整形外科学基礎学術集会(名古屋, 1998)、The 53rd Annual meeting of American Society for Surgery of the Hand (Minneapolis, 1998)、The 3rd Combined meeting of Orthopaedic Research Society of U.S.A., Canada, Europe and Japan (Hamamatsu, 1998)において発表した。

文 献

- 1) Taylor GI. The free vascularized nerve graft. *Plast Reconstr Surg* 57: 413-426, 1976
- 2) Wood RJ, Adson MH, Vanbeek AL, Peltier GL, Zubkoff MM, Bublick MP. Controlled expansion of peripheral nerves: comparison of nerve grafting and nerve expansion / repair for canine sciatic nerve defects. *J Trauma* 31: 686-690, 1991
- 3) Hall GD, Van Way CW, Fei' Tau Kung, Compton-Allen M. Peripheral nerve elongation with tissue expansion techniques. *J Trauma* 34: 401-405, 1993
- 4) Orbay J, Lin H, Kummer FJ. Repair of peripheral nerve defects by controlled distraction: a preliminary study. *Bull Hosp Jt Dis* 52: 7-10, 1993
- 5) 森下 裕: 末梢神経慢性伸張における神経障害に関する基礎的研究. 十全医会誌103: 857-869, 1994
- 6) 中山博文: 末梢神経慢性伸張障害後の回復に関する実験的研究. 十全医会誌104: 483-491, 1995
- 7) Tomita K, Kawahara N. The threadwire saw: a new device for cutting bone. *J Bone Joint Surg Am* 78: 1915-1917, 1996
- 8) 池田和夫: 仮骨延長法で前腕変形の矯正を行った2例. 日手会誌9: 32-35, 1992
- 9) De Bastiani G, Aldegheri R, Renzi-Brivio L, Trivella G. Limb lengthening by callus distraction. *J Pediatr Orthop* 7: 129-134, 1987
- 10) 横山光輝: PIP関節高度拘縮例に対するCompass PIP joint Hingeの使用成績と問題点. 日手会誌15: 179-183, 1998
- 11) Galardi G, Comi G, Lozza L, Marchettini P, Novarina M, Facchini R, Paronizi A. Peripheral nerve damage during limb lengthening. *J Bone Joint Surg Br* 72: 121-124, 1990
- 12) Young NL, Davis RJ, Bell DF, Redmond DM. Electromyographic and nerve conduction changes after tibial lengthening by the Ilizarov method. *J Pediatric Orthop* 13: 473-477, 1993
- 13) Polo A, Aldegheri R, Zambito A, Trivella G, Manganotti P,

- Grandis DD, Rizzuto N. Lower-limb lengthening in short stature. *J Bone Joint Surg Br* 79: 1014-1018, 1997
- 14) Faber FWM, Keessen W, van Roermund PM. Complications of leg lengthening. *Acta Orthop Scand* 62: 327-332, 1991
- 15) Milner RH, Wilkins PR. The recovery of peripheral nerves following tissue expansion. *J Hand Surg* 17: 78-85, 1992
- 16) Skoullis TG, Vekris MD, Terzis JK. Effect of distraction osteogenesis on the peripheral nerve : experimental study in the rat. *J Reconstr Microsurg* 14: 565-574, 1998
- 17) Endo T, Nakayama Y. Histologic examination of peripheral nerves elongated by tissue expanders. *Br J Plast Surg* 46: 421-425, 1993
- 18) Mackinnon SE. Clinical application of peripheral nerve transplantation. *Plast Reconstr Surg* 90: 695-699, 1992
- 19) Best TJ, Mackinnon SE, Bain JR, Makino A, Evans PJ. Verification of a free vascularized nerve graft model in the rat with application to the peripheral nerve allografts. *Plast Reconstr Surg* 92: 516-525, 1993
- 20) Doi K, Tamaru K, Sakai K. A comparison of vascularised and conventional sural nerve grafts. *J Hand Surg* 17: 670-676, 1992
- 21) 森下 裕：脚延長時の末梢血管および隣接関節への影響。日本創外固定研究会誌6: 81-85, 1995
- 22) 岡田和子：末梢神経慢性伸長に伴う神経活動停滞化の病態について。十全医会誌109: 165-176, 2000
- 23) Dahl MT, Gulli B, Berg T. Complications of limb lengthening : a learning curve. *Clin Orthop* 301 : 10-18, 1994
- 24) Rempel D, Lundborg G. Pathophysiology of nerve compression syndromes : response of peripheral nerves to loading. *J Bone Joint Surg Am* 81: 1600-1610, 1999
- 25) Rydevik B, Mclean WG, Sjostrand J, Lundborg G. Blockage of axonal transport induced by acute, graded compression of the rabbit vagus nerve. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 43: 690-698, 1980
- 26) Denny-Brown D, Brenner C. Lesion in peripheral nerve resulting from compression by spring clip. *Arch Neurol Psychiatry* 52: 1-19, 1944
- 27) Lundborg G. Median nerve compression in the carpal tunnel. Functional response to experimentally induced controlled pressure. *J Hand Surg* 7: 252-259, 1982
- 28) Lundborg G, Dahlin LB. The pathophysiology of nerve compression. *Hand Clin* 8: 215-227, 1992
- 29) Cavanagh JA. The dying back process. *Arch Pathol Lab Med* 103: 659, 1979
- 30) Baba M, Fowler CJ, Jacobs JM, Gilliat RW. Changes in peripheral nerve fibres distal to a constriction. *J Neurol Sci* 54: 197-208, 1982
- 31) Wall EJ, Massie JB, Kwan MK, Rydevik BL, Myers RR, Garfin SR. Experimental stretch neuropathy. *J Bone Joint Surg Br* 74: 126-129, 1992
- 32) 長谷川利雄：末梢神経伸長損傷に関する実験的研究。日整会誌 66: 1184-1193, 1992
- 33) Tanoue M, Yamaga M, Ide J, Takagi K. Acute stretching of peripheral nerves inhibits retrograde axonal transport. *J Hand Surg Br* 21: 358-363, 1996
- 34) Ogata K, Naito M. Blood flow of peripheral nerve effects of dissection, stretching and compression. *J Hand Surg* 11: 10-14, 1986
- 35) van der Wey LP, Gabreels-Festen AAWM, Merks MHJH, Polder TW, Stegeman DF, Spauwen PHM, Gabreels FJM. Peripheral nerve elongation by laser doppler flowmetry controlled expansion : morphological aspects. *Acta Neuropathol* 89: 166-171, 1995
- 36) 宇賀時行雄：末梢神経牽引による神経内血行動態に関する実験的研究—電気分解式水素クリアランス法による血流量の測定—。十全医会誌96: 599-612, 1987
- 37) Mackinnon SE, Dellon AL, Hudson AR, Hunter DA. Chronic nerve compression - an experimental model in the rat. *Ann Plast Surg* 13: 112-120, 1984
- 38) Kitao A, Hitrata H, Morita A. Transient damage to the axonal transport system without Wallerian degeneration by acute nerve compression. *Exp Neurol* 147: 248-255, 1997
- 39) de Medinaceli L, Leblanc AL, Merle M. Functional consequences of isolated nerve stretch : experimental long-term static loading. *J Reconstr Microsurg* 13: 185-192, 1997
- 40) Makarov MR, Birch JG, Delgado MR, Welch RD, Samchukov ML. Effects of external fixation and limb lengthening on peripheral nerve function. *Clin Orthop* 329: 310-316, 1996
- 41) Upton RM, McComas AJ. The double crush in nerve entrapment syndromes. *Lancet* 2: 359-362, 1973
- 42) 根本孝一：末梢神経障害に関する実験的研究—重複圧迫による神経易損性の発現機序について—。日整会誌 57: 1773-1786, 1983
- 43) Bauwens P. Electrodiagnostic definition of the site and nature of peripheral nerve lesions. *Ann Phys Med* 5: 149-154, 1960

Vulnerability of Gradually Elongated Peripheral Nerves Mitsuteru Yokoyama, Department of Orthopaedic surgery, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920-8640-J. *Juzen Med Soc.*, **109**, 291-299 (2000)

Key words peripheral nerve, elongation, compression injury

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the vulnerability of a gradually elongated peripheral nerve. Elongation of the sciatic nerve was carried out by applying an external lengthener to the femur of a Japanese white rabbit and elongating it at a rate of 2.0 mm/day or 4.0 mm/day to a final elongation of 30 mm. After completion of the elongation, a pressure of 15, 30, or 60 g/0.1 cm² was applied to the middle of the sciatic nerve for 30 minutes. Evaluations were carried out before, immediately, and 2, 4 or 8 weeks after the nerve compression. Changes in compound nerve action potential (CNAP) were observed. Cross sections of the sciatic nerve at the compression point, and 10 mm proximal and distal to it, were taken for electron microscopic observation. In the control group, a 15 g/0.1 cm² compression was so slight that it caused no nerve injury. A 30 g/0.1 cm² compression caused a decrease of the amplitude of CNAP (A-CNAP) to 7.01 ± 1.21 mV immediately after compression, but rose to a normal value of 13.56 ± 2.01 mV eight weeks after, representing a state of neurapraxia. A 60 g/0.1 cm² compression caused a state of axonotmesis, which showed a good recovery within eight weeks. In the 2.0 mm elongation group, although the A-CNAP was lowered to 4.75 ± 0.43 mV, latency was within the normal range immediately after elongation. A 15 g/0.1 cm² compression caused a decrease of the A-CNAP to 1.94 ± 0.55 mV, but was restored to 3.39 ± 0.32 mV eight weeks after; thus, the injury was in a state of neurapraxia. A 30 g/0.1 cm² compression caused a state of axonotmesis. A 60 g/0.1 cm² compression caused a decrease in the A-CNAP to 0.65 ± 0.15 mV immediately after compression, and it remained at 0.61 ± 0.19 mV, showing no sign of recovery eight weeks after. Scattered regeneration of small-diameter axons was seen and myelination was immature. These findings represented a "slowly recovering axonotmesis". In the 4.0 mm elongation group, the A-CNAP immediately after elongation was as low as 1.34 ± 0.18 mV. Even eight weeks after a 15 g/0.1 cm² compression, A-CNAP had still not recovered. An endoneurial fibrosis with loose immature axons was seen at eight weeks after compression, representing a "slowly recovering axonotmesis with dying back degeneration". The results of this study indicate that nerve elongation procedures require that adequate precautions should be taken against even slight compressions.