

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (医 学) 氏名 安居 剛

学位論文題名

ニューレグリン-1による顔面神経軸索再生促進効果および誘導能に関する研究

(Studies on the acceleration and axonal guidance ability of Neuregulin-1 in facial nerve regeneration)

【背景と目的】

顔面神経麻痺に対する治療は、その発生原因や程度、または治療開始時期に応じて様々あり、ステロイド療法等の非手術的治療や、神経移植・筋移植等の手術的治療がその代表である。外傷による神経断裂の際には、外科的に即時縫合を行うか次損がある場合には神経移植等が選択される。しかし、治療後も表情筋運動は完全には回復せず、麻痺が残存する場合も少なくない。またその不完全な神経修復の結果、しばしば表情筋の不随意運動として起こる病的共同運動という合併症の発生が現在でも治療に難渋する最大の問題点となっている。

一方で、顔面神経に限らず末梢神経修復を促進させるため、b-FGFやNGFといった成長因子を損傷部位に付加させる、基礎実験レベルでの研究報告が散見される。本研究ではその成長因子のひとつであるニューレグリン-1（以下NRG1）に着目し、顔面神経損傷時における神経軸索再生の促進効果および神経軸索伸長の誘導効果について検証する。この結果により、NRG1が顔面神経麻痺および病的共同運動の軽減を目的とした治療薬として発展させうるかを検証することが本研究の目的である。

【対象と方法】

NRG1の顔面神経損傷時における神経軸索再生の促進効果および神経軸索伸長の誘導効果について検証するため、次の3つの実験を行った。実験1：顔面神経本幹損傷急性期において、drug delivery system（以下DDS）を用いたNRG1の投与方法により、神経軸索再生の促進について検証する。実験2：顔面神経本幹損傷後陳旧期においてDDSを用いたNRG1の投与方法により、神経軸索再生の促進について検証する。実験3：顔面神経本幹損傷後の神経修復時に、NRG1を用いて顔面神経各分枝への選択的な軸索伸長の誘導について検証する。

対象は56匹のWistarオスのラット（250-270g）を使用した。ランダムに8匹ずつ分けて7つのグループ（Group I～VII）を作った。Group I～IIIのラットはすべて右顔面神経本幹を切断縫合して顔面神経麻痺モデルを作成した直後に、Group I：何も作用させない、Group II：神経縫合部にNRG1を滴下し、Group III：NRG1を含浸させたゼラチンハイドロジェルを神経縫合部に作用させた。これらGroup I～IIIを用いて実験1を行った。評価法は①術後毎週表情筋の運動を臨床的に評価する顔面神経麻痺スコアと、さらに術後8週で②神経トレーサー（DiI）を用いて脳幹内の顔面神経核で染色された神経細胞の数をカウント、さらに③神経本幹の断端をトルイジンブルー染色し再生軸索の密度を計測する、計3つの方法で総合的に評価しそれぞれを比較する。次にGroup IV、Vのラットはすべて右顔面神経本幹を結紮クリップにより遮断し、2週が経過した後に同部を切断縫合する。その後Group IV：何も作用させない、Group V：NRG1を含浸させたゼラチンハイドロジェルを神経縫合部に作用させた。これらGroup IV、Vと比較のためにGroup I、IIIを用いて実験2を行った。評価法は実験1と同様、3つ

の方法を用いている。さらに Group VI, VII のラットはすべて右顔面神経本幹を切断縫合して顔面神経麻痺モデルを作成した直後に、Group VI : 頬枝に NRG1 を含浸させたゼラチンハイドロジェルを作用させ、Group VII : 下顎縁枝に NRG1 を含浸させたゼラチンハイドロジェルを作用させた。これら Group VI, VII と比較のために Group I を用いて実験 3 を行った。評価法は神経トレーサーの二重標識 (DiI, DiA) , 神経断端のトルイジンブルー染色による軸索密度の測定である。

【結果】

実験 1 では、すべての評価法において Group III が統計学的有意差を持って高かった。Group II も顔面神経麻痺スコアと神経トレーサーによる評価では Group I よりも有意差を持って高かった。

実験 2 では、すべての評価法において Group IV は Group I よりも有意差を持って低く、Group V も Group III よりも低かった。Group IV と V に有意差は認められなかった。

実験 3 では、神経トレーサーによる評価では、頬枝領域は Group VI が Group VII, I よりも多く、下顎縁枝は Group VII が Group VI よりも多かった。トルイジンブルー染色による軸索密度の評価では、頬枝領域は Group VI が Group VII よりも密度は高く、下顎縁枝は Group VII が Group I よりも高かった。ただし神経トレーサーでの評価において、各分枝間で神経束の迷入を示唆する所見も認められた。これはいわゆる病的共同運動の原因を示していると考えられる。

【考察】

評価法に関しては、表情筋運動の観察による臨床的評価、脳幹から表情筋まで繋がっている神経経路を観察する神経トレーサーを用いた評価、直接再生過程にある神経軸索を観察する軸索密度の評価の 3 つで総合的に効果判定を行っているため、妥当性のある方法と考える。

実験 1 により、NRG1 は顔面神経再生を促進させる可能性が示唆され、さらにゼラチンハイドロジェルを用いることにより、さらに効果的に作用させ得ることがわかった。これはハイドロジェルを用いることで NRG1 の作用期間を長期化させることができたためと考える。

実験 2 により、陈旧性の場合には治療が行われても神経の回復は極端に低下し、さらに NRG1 の投与効果も現れにくいことがわかった。これは一定期間修復過程を停止させたことにより、debris のクリアランスが完了できず、ワーラー変性が進行してしまったために新たな軸索伸長が起りにくい環境であったことが考えられる。

実験 3 では、ふたつの評価において NRG1 を作用させた分枝の方が神経再生の促進を一部示唆する所見があったため、NRG1 が軸索伸長を誘導する可能性が示唆されたことになる。ただし、各分枝間で神経束の迷入は回避できず、病的共同運動を軽減させる治療法として確立するにはさらに研究を進めていく必要があると考える。

【結論】

顔面神経損傷急性期ではゼラチンハイドロジェルを用いた NRG1 の投与が神経再生を促進させ得るが、陈旧例の場合には NRG1 の再生促進効果は乏しい。また NRG1 は選択的に神経軸索を誘導させる可能性を有しており、一般的に神経回復が弱い分枝を選択的に再生させるといった、試みが可能となる。しかし、依然として病的共同運動の原因と考えられる神経束の他分枝への迷入を回避することはできなかった。これに対しては更に研究を行うと同時に、今後はより高次機能動物においてさらに実験を行う必要があり、それと同時に、作用効果判定には電子顕微鏡による詳細な評価等を行う必要がある。