

低出力超音波パルス療法による末梢神経再生促進効果—実験動物を用いた基礎的研究—

伊藤明良 (PT, PhD)¹⁾, 王天舒²⁾

¹⁾ 京都大学大学院医学研究科人間健康科学系運動機能解析学

²⁾ 京都大学大学院医学研究科人間健康科学系運動機能開発学

キーワード: 低出力超音波パルス療法, 末梢神経, 物理療法

はじめに

末梢神経再生に対する理学療法研究は古くから行われてきたが, 末梢神経の再生促進を目的として臨床応用されているものは未だない。先行研究では, 超音波¹⁾ や電気刺激²⁾ などの物理療法が末梢神経再生を促すという報告がある一方で, 物理的的刺激は再生を阻害するという報告もあり³⁾, 一定した見解は得られていない。

理学療法で用いられている超音波とは異なり, 非常に微弱な超音波を照射する低出力超音波パルス (LIPUS: low-intensity pulsed ultrasound) は, 骨修復促進治療として開発が進められ, すでに平成 6 年から難治性骨折治療において保険適用されている。LIPUS は, 様々な組織治癒効果がすでに報告されているが, 末梢神経再生効果についても近年報告されるようになり⁴⁾, 末梢神経再生に対する物理療法としての応用が期待されている。しかしながら, 末梢神経再生促進を目的とした LIPUS の検討は始まったばかりであり, 超音波出力強度や周波数などの様々なパラメーターの最適化が臨床応用するための課題となっている。本研究では LIPUS 強度に着目し, 異なる LIPUS 強度を用いてラット坐骨神経損傷モデルに対する再生促進効果を検討することを目的とした。

方 法

1. 対象

坐骨神経損傷モデル作成のために, 12 週齢の雄性 Lewis ラット 50 匹を用いた。予備実験として, 坐骨神経損傷後の自然治癒過程を評価するために, 損傷作成前 (0 週), 損傷作成後 1 週, 2 週, 3 週, 4 週, 6 週後に運動機能評価及び組織学的に坐骨神経再生を評価した (各 3 匹)。この結果から, 損傷作成 3 週後の時点で LIPUS 介入効果判定を実施することとした。LIPUS 介

入実験として, LIPUS を疑似照射するコントロール群 (Ctrl 群: 8 匹), LIPUS 強度 30 mW/cm² 群 (30 mW/cm² 群: 8 匹), LIPUS 強度 140 mW/cm² 群 (140 mW/cm² 群: 8 匹), LIPUS 強度 250 mW/cm² 群 (250 mW/cm² 群: 8 匹) の 4 群に無作為に分けた。なお, LIPUS 強度は空間平均時間平均で表記した。

本研究は所属大学動物実験委員会の審査を受け実施した (承認番号; MedKyo17029)。

2. 坐骨神経損傷モデルの作成

坐骨神経損傷モデルとして, 圧挫損傷を用いた⁵⁾。圧挫損傷は幅 2 mm のペアン鉗子を用い, 最大限の力で 10 秒間圧迫することで作成し, 圧挫損傷部位同定のために 9-0 ナイロン縫合糸にてマーキングを施した。その後, 筋層および皮膚を 4-0 ナイロン縫合糸にて閉創した。

3. LIPUS 照射

LIPUS 照射は圧挫損傷作成の 3 日後から開始した。インフルラン吸入麻酔下で, 圧挫損傷部に対して 5 分/日, 5 回/週の頻度で損傷作成から 3 週目まで照射した。LIPUS は超音波治療器 (伊藤超短波社製, UST-770) を用い, 周波数 1 MHz, 繰り返し周波数 1 kHz, パルス幅 200 μ 秒とし, 強度は各実験群の強度を用いた。

4. 坐骨神経再生の評価

実験期間終了後, 深麻酔下で坐骨神経を摘出して固定処置後, 単位面積あたりの軸索数を計測するために圧挫損傷部位から 5 mm 遠位部位にて神経を水平断し, エポキシ樹脂包埋後に準薄切してトルイジンブルー染色を施した。また, 坐骨神経支配を受ける骨格筋の萎縮程度を検討するため, 左右の前脛骨筋およびヒラメ筋の湿重量を計測し, 介入側 (左側) の湿重量を非介入側 (右側) の湿重量で除した値を算出した (Lt/Rt)。運動機能評価として, Sciatic Functional Index (SFI) を用いた⁶⁾。これは値がマイナス値から 0 に近づくほど機能回復が得られていることを表している。統計学的解析は一元配置分散分析を用い, 有意水準は 5% とした。

結 果

軸索数は, Ctrl 群と比較して LIPUS を照射した群で少ない傾向が認められたが, 有意な差は認められなかった (図 1, $P = 0.16$)。前脛骨筋およびヒラメ筋の萎縮程度においても, 有意な差は認められなかった (図 2, 前脛骨筋: $P = 0.58$; ヒラメ筋: $P = 0.27$)。SFI も同様に, 有意な差は認められなかった (図 3, $P = 0.48$)。

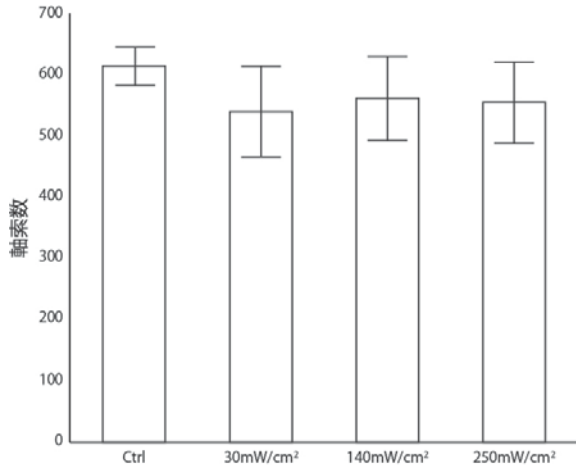


図 1 軸索数

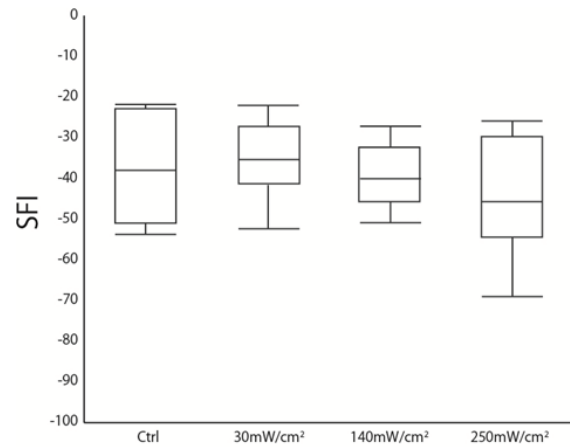


図 3 Sciatic Functional Index

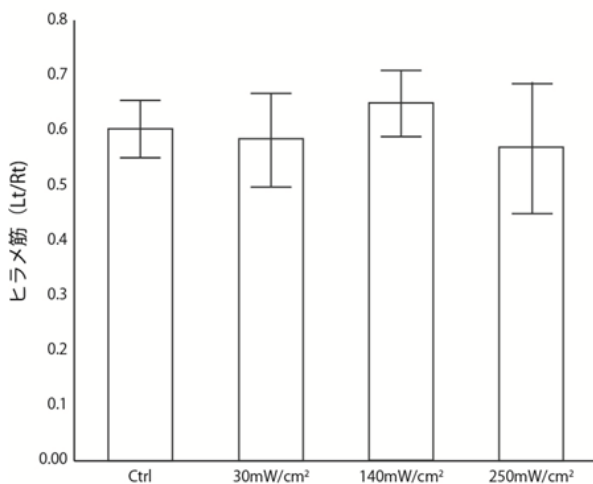
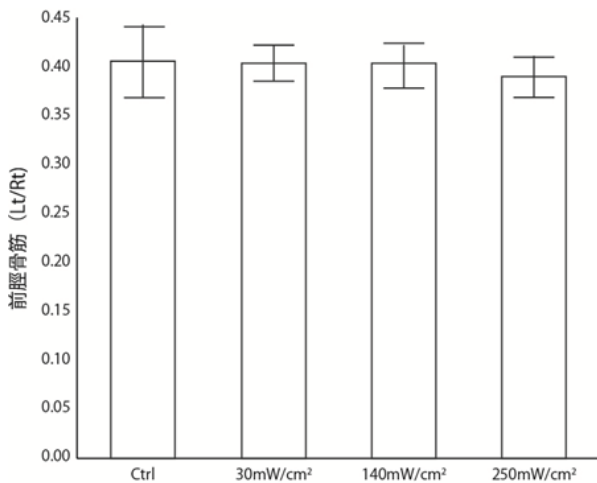


図 2 前脛骨筋およびヒラメ筋の筋湿重量

値は圧挫損傷側の左側を非損傷側の右側で除したものを示す。

考 察

本研究では、異なる LIPUS 強度がラット坐骨神経再生に与える影響を検討した。その結果、本実験条件において 30~250 mW/cm² 強度の LIPUS 照射は、疑似照射した Ctrl 群と比較して神経再生効果は認められなかった。これまで、様々な超音波の刺激条件を用いて末梢神経軸索損傷に対する神経再生効果が検討されてきた。Jiang ら⁴⁾をはじめとして、その多くが再生促進効果を報告している。本研究で用いた実験条件は、主として Jiang ら⁴⁾の条件を参考としたが、再生促進効果は認められず異なる結果となった。その原因として、Jiang ら⁴⁾は自家神経移植術後の超音波刺激効果を検討しており、本研究で用いた挫滅損傷モデルとは異なる。また、本研究では 12 週齢の成熟ラットを用いたが、Jiang らの研究では 5-6 週齢の幼齢ラットを用いている。老齢ラットでは機能的回復が得られにくいと報告されており⁶⁾、実験介入週齢が影響を及ぼした可能性が考えられる。他には、本予備実験で行った際のデータよりも、LIPUS 介入実験の方でデータのバラツキが大きく、圧挫損傷作成時などの手技が一定でなかった可能性がある。

本実験条件では、LIPUS 刺激による神経再生促進効果は認められなかったが、今後は実験精度を高めるとともに、刺激時間・頻度・周波数など異なるパラメーターも視野に入れて検討する予定である。

文 献

- 1) 豊田 慎一, 唐沢 延幸, 他: 坐骨神経損傷の超音波療法による神経再生. 理学療法科学. 2012;27(3):279-284.

- 2) Chen YS, Hu CL, et al.: Effects of percutaneous electrical stimulation on peripheral nerve regeneration using silicone rubber chambers. *J Biomed Mater Res.* 2001;57(4):541–9.
- 3) Hanson SM, McGinnis ME. Regeneration of rat sciatic nerves in silicone tubes: characterization of the response to low intensity d.c. stimulation. *Neuroscience.* 1994;58(2):411–21.
- 4) Jiang W, Wang Y, et al.: Low-intensity pulsed ultrasound treatment improved the rate of autograft peripheral nerve regeneration in rat. *Sci Rep.* 2016;6:22773.
- 5) Hare GM, Evans PJ, et al.: Walking track analysis: a long-term assessment of peripheral nerve recovery. *Plast Reconstr Surg.* 1992;89(2):251–8.
- 6) Clavijo-Alvarez JA, Nguyen VT, et al.: Santiago LY, Doctor JS, Lee WP, Marra KG. Comparison of biodegradable conduits within aged rat sciatic nerve defects. *Plast Reconstr Surg.* 2007;119(6):1839–51.