

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K20319

研究課題名(和文) 移植筋体に対する神経二重支配についての基礎的研究

研究課題名(英文) Experimental study for double innervation of transplanted muscle

研究代表者

清家 志円 (SEIKE, Shien)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：20644933

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の成果は、以前われわれが考案し開発した動物モデルが顔面神経という同種の神経による神経二重支配モデルであったことから発展し、咬筋神経を用いた異種の神経による神経二重支配モデルの作成が可能であることが示された点である。しかし、咬筋神経からの電気刺激を定量的に評価できなかった点は改善する必要があり、今後動画解析ソフトの導入などによってこの問題を解決できる可能性がある。異種の神経二重支配モデルを確立できれば、これまで解明されていない神経二重支配のメカニズムに関する基礎研究が進み、麻痺性疾患に対する筋肉移植による動的再建治療が基礎的知見の裏付けの下で発展する可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The mechanism of double innervation of the muscle has not been elucidated well so far. This study has developed the double innervation rat model that we had contrived before. The original model includes the pedicled transferred latissimus dorsi muscle reinnervated by bilateral facial nerves through the proximal and distal stump of the thoracodorsal nerve. We, herein, have developed a new model with the hemilateral facial nerve and contralateral masseter nerve. However, this model has some difficulties of quantitative examination. The problem was not solved this time. Dynamic image analysis software may help to solve this problem. Understanding the mechanism of double innervation drives development and improvement of dynamic reconstruction for paralytic disease.

研究分野：形成外科

キーワード：顔面神経麻痺 筋肉移植 神経二重支配 動物モデル

1. 研究開始当初の背景

陳旧性顔面神経麻痺に対する手術治療においては、微小血管吻合および神経縫合技術(microsurgery)の発展に伴い麻痺した表情筋の代替として神経血管柄付き遊離筋肉移植が可能になったことにより、飛躍的な進展を遂げた。

従来の神経血管柄付き遊離筋肉移植においては、移植筋肉の1本の支配神経を移植床の顔面神経に縫合していた。しかし近年では、より強い筋収縮を得ることを目的として、移植筋肉に対して2本の運動神経(レシピエント)を縫合することによって神経二重支配を付与する試みがなされ、臨床的な効果を示す報告が散見されている。しかしながら、それらの効果を裏付ける基礎研究はなされていない。

このような背景の下に、われわれは以前の研究で神経二重支配を付与した筋肉移植の動物(ラット)モデルを開発した。このモデルは、左右の顔面神経と移植筋肉(広背筋)を縫合することにより移植筋肉に神経二重支配を付与することができ、遊離広背筋に顔面神経を縫合するという、臨床で行われている遊離筋肉移植を再現することができた。さらに、遊離筋肉移植ではなく有茎筋肉移植によって動物モデルを作成することができることを示し、作成時間の飛躍的な短縮を可能にした。

また、研究者が申請研究初年度に所属していた施設では顔面神経麻痺に対する遊離筋肉移植を積極的に行なっており、筋収縮の増強を期待して、顔面神経に加えて、咬筋神経との縫合を加えて神経二重支配を付与している。

今回の研究では、上述の動物モデルを発展させ、さらに神経二重支配のメカニズムを解明させることを目的とし、顔面神経と咬筋神経による神経二重支配の動物モデルの開発に着手した。さらに、「咬筋神経(三叉神経)に依存することなく増強した筋収縮を維持できるのではないか」という仮説を立て、これを立証できるような研究を計画した。この仮説が正しければ、臨床で行なっている咬筋神経を二期的に切断し、三叉神経によらない笑顔の再建が可能になるかもしれないと考えられた。

2. 研究の目的

本研究の目的は大きく二つに分けることができると考えている。まず、顔面神経および咬筋神経による異種神経二重支配の基礎的研究に適した動物モデルを開発することである。

次に、作成した動物モデルを用いて、異種の神経による神経二重支配が移植筋肉にどのような影響を及ぼすかを解明していくことを目的とする。

3. 研究の方法

Wistar系ラットを用いて、有茎広背筋弁に胸背神経の近位側神経と遠位側神経を付けて挙上する。その際、広背筋弁は腋窩動静脈を血管茎として有茎で前頸部皮下に移植する。移植床において、片側の顔面神経(下顎縁枝)と対側の咬筋神経を剖出し、これらを移植筋肉に付けた近位側神経と遠位側神経断端にそれぞれ縫合し、神経二重支配を付与したモデルを作成する。

初年度の実験では、次のように四つの実験群を作成する。A群：胸背神経の近位側断端と右の顔面神経、胸背神経の遠位側断端と左の咬筋神経を縫合した群、B群：胸背神経の近位側断端と右の咬筋神経、胸背神経の遠位側断端と左の咬筋神経を縫合した群、C群：胸背神経の近位側断端と右の顔面神経を縫合し、胸背神経の遠位側断端を縫合しない群、D群：胸背神経の近位側断端と右の咬筋神経を縫合し、胸背神経の遠位側断端を縫合しない群、をそれぞれ作成した。

軸索再生が移植筋肉まで到達する術後1ヶ月程度を置いて、筋収縮を評価した。

次年度(最終年度)においては、「神経二重支配によって増強された筋肉は、二期的に咬筋神経(三叉神経)を切断されても、増強した筋収縮を維持できるのではないか」という仮説を検証すべく、4群を設定した。

すなわち、A'群：上述A群手術の3ヶ月後に咬筋神経を切断した群、A''群：A'群のコントロールとして、神経を切断しない群、B'群：上述B群手術の3ヶ月後に咬筋神経を切断した群、B''群：B'群のコントロールとして、神経を切断しない群、である。

4. 研究成果

動物モデル作成においては、咬筋内から咬筋神経を同定することは比較的容易であったが、移植筋肉に付けた胸背神経の遠位側断端と縫合できるまでの距離の問題があった。この問題に対しては、遠位側断端を可能な限り長く剖出し、移植筋肉に付けて挙上することで可能であった。

しかしながら、神経電気刺激装置による確認では、咬筋神経を刺激することで移植筋肉の収縮を肉眼で確認できた個体はなかなか認めなかった。これは、胸背神経の遠位側断端をできる限り長く剖出した結果、神経が極めて細くなったこと、咬筋神経から胸背神経の遠位側断端を通して軸索伸長が移植筋肉へ到達した頃には既に顔面神経から胸背神経の近位側断端を通して、顔面神経からの軸索伸長が到達し、移植筋肉全体に神経再支配が起きていることなどが予想された。胸背神経の遠位側断端が極めて細くなったことから咬筋神経の神経軸索が十分に侵入できなかったかもしれないという問題に対しては、interpositional nerve graftによって解決できるかもしれないと考案したが、神経縫合

が二箇所になることから、十分な量の神経軸索が移植筋肉に再支配できようにはならないのではないか、と再考し解決に至らなかった。

さらに、肉眼で移植筋肉の筋収縮が確認でき、咬筋神経からの神経再支配が成功したと考えられた個体においても、客観的に収縮量を定量化できる程度の筋収縮は認められなかった。つまり、肉眼では強く筋収縮していると思われた筋肉でも、そうでない筋肉とその差異を表現できる観測方法を見出すことはできなかった。咬筋神経からの再支配に成功したと思われた個体とそうでない個体に関しては、月齢、重量、神経の太さ、microsurgery 技術上の難易度などにおいて明らかな差異は認められなかったことから、神経縫合部での癒痕形成など微視的な違いが神経再支配の成否に帰属するのではないかと考えられたが、臨床でも認められているように、これは確率的な問題であり、根本的解決には至らないのではないかと考えられた。

申請研究期間の次年度(最終年度)では、モデル作成3ヶ月後において咬筋神経を切断し、その前後において筋収縮の変化を評価し、「神経二重支配によって増強された筋肉は、二期的に咬筋神経(三叉神経)を切断されても、増強した筋収縮を維持できるのではないか」という仮説を確かめる実験を計画していたが、上述の問題が解決に至っていないことから実現できなかった。

臨床で行われている顔面神経および咬筋神経による神経二重支配を利用した遊離筋肉移植では、咬筋神経からの神経軸索が顔面神経からのそれよりも先に移植筋肉に到達するのに対し、本モデルにおいては、そのモデル作成における解剖学的配置の関係上、逆に顔面神経からの神経軸索が先に移植筋肉に到達してしまう可能性が高く、臨床で行われている治療を忠実に再現することができなかったことも問題であった。この問題に対しては、顔面神経と胸背神経近位側断端を縫合する際に interpositional nerve graft を行なって距離を長くし、咬筋神経からの神経軸索が先に移植筋肉に到達できるように調整する、先に咬筋神経と胸背神経遠位側断端を縫合しておいて、二期的に顔面神経と胸背神経近位側断端を縫合する、などの対策を考案したが、神経縫合部での微視的な癒痕形成が神経軸索の伸長を阻害している可能性や、咬筋神経からの電気刺激による移植筋肉の収縮が、定量的計測が可能な程度に強力でなかった点などが解決しておらず、実行に移すことができなかった。

本研究の成果は、以前にわれわれが考案し開発した動物モデルが、両側の顔面神経という同種の神経による神経二重支配モデルであったことから発展し、顔面神経と咬筋神経を用いることによって異種の神経による神経二重支配モデルの作成が可能であることが示された点である。しかしながら、神経二

重支配を受けた移植筋肉の筋収縮を定量的に解析できなかった点は改善する必要があり、今後、動画解析ソフトの導入などによってこの問題を解決できる可能性があると考えている。

また、咬筋神経ではなく、対側の胸背神経を末梢で切断し、その近位は腕神経叢に連続させたままで挙上し、前頸部に置いた移植筋肉に縫合するという代案も考えられる(対側の胸背神経を使用する場合は、これを移植筋肉の胸背神経の近位側断端に縫合し、遠位側断端を顔面神経に縫合することが可能であり、対側の胸背神経が余り細くなりすぎない程度での長さで縫合することが可能であると想定される)。

異種の神経による神経二重支配モデルを確立できれば、これまで解明されていない神経二重支配のメカニズムに関する基礎研究がさらに進み、麻痺性疾患に対する筋肉移植による動的再建治療が、基礎的知見の裏付けの下に発展する可能性がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 0 件)

[学会発表](計 1 件)

1. 清家志円、栗田昌和、菅浩隆、大島直也、多久嶋亮彦、波利井清紀「移植筋体の神経二重支配の研究を目的とした新しい動物モデルの開発」第38回顔面神経学会、2015年6月11日

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

清家 志円 (Shien Seike)

大阪大学医学系研究科形成外科 助教

研究者番号：20644933

(2)研究分担者

栗田 昌和 (Masakazu Kurita)

Salk institute for biological studies

研究者番号：20424111

菅 浩隆 (Hiroataka Suga)

杏林大学医学部形成外科 助教

研究者番号：60633942

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者 ()