

研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2007～2010
 課題番号：19592075
 研究課題名 (和文) 顔面神経麻痺への顔面神経-舌下神経クロスリンク型神経移植術における神経科学的研究
 研究課題名 (英文) Neural network analysis after the “cross-link” surgery between facial nerve and hypoglossal nerve
 研究代表者
 橋川 和信 (HASHIKAWA KAZUNOBU)
 神戸大学・医学部附属病院・助教
 研究者番号：90403237

研究成果の概要 (和文)：

顔面神経麻痺に対する神経学的手術治療として、cross-link 手術 (顔面神経-舌下神経間を移植神経でバイパスする) が開発された。本手術法は臨床面で一定の効果をみるが、その神経学的メカニズムは解明されていない。われわれはラット cross-link 型神経移植モデルを作成し、順行性および逆行性トレーサー法を用いて神経回路解析を行った。順行性トレーサー法にて舌下神経線維が顔面神経束へ誘導されることを示した。逆行性トレーサー法では顔面神経核より発した軸索が舌下神経束へ誘導されていることを示した。以上より cross-link 型神経移植を行うことで顔面神経・舌下神経の神経回路交叉が行われることを示した。

研究成果の概要 (英文)：

Cross-Link nerve grafting technique between facial nerve and hypoglossal nerve with grafted sensory nerve for facial nerve palsy has demonstrated effectiveness in patients. This is very interesting surgical method, though no basic research has been performed to analyze the newly formed neural circuit. We constructed the rat cross-link nerve grafted model and introduced the neural tracer method. In our experiment, anterograde labeling showed that axons of hypoglossal neuron pass through the grafted nerve and extend to facial nerve bundle. On the other hand, in retrograde labeling study, axons from facial nucleolus extend to hypoglossal nerve bundle and from hypoglossal nucleus to facial nerve bundle. These data suggest that crossing of axons are caused by the Cross-Link nerve grafting.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
2009年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・形成外科学

キーワード：再建外科学、顔面神経麻痺

1. 研究開始当初の背景

神経回路解析を目的として、古くから神経トレーサー法が用いられてきた。神経トレーサー法は順行性および逆行性標識に大別される。本手法を顔面神経や舌下神経等、脳神経の筋支配の解析に導入するに際し、逆行性トレーサー法は表情筋など支配筋に直接注入する為に比較的容易に行えるが得られる情報は支配神経核の同定にほぼ限られる。一方、順行性トレーサー法は穿頭術を行い、神経核をマッピングした上で正確に微量注入しなくてはならないなど特殊な実験手技を要するが伸長中の軸索を観察できるなど神経回路をより詳細に解析できる。

2. 研究の目的

顔面神経麻痺に対する外科的神経再建には健側の顔面神経線維からの入力や同側の舌下神経線維からの入力を期待する方法がこれまでに開発されてきた。特に後者では舌下神経束を完全に、または一部切断した上で顔面神経束に端々・端側縫合されており、一定の効果は得られるが舌の運動機能の低下・嚥下困難症を来すなどの報告もある。近年、山本らにより大耳介神経などを用いた cross-link 型神経移植術が開発された。本手術法は舌の運動機能に影響を来すことなく臨床的效果を認める、画期的な手術法である。しかし、その基礎的データがない。われわれはラットを用い cross-link 型モデルを作成し、トレーサー法を用いて再構築された神経回路の解析を行い、本手術方法の神経学的メカニズムを探索することを目的とした。

3. 研究の方法

実験動物にはラット (Wistar 系 retired ♀) を用いた。実験を行うに当たり、神戸大学における動物実験に関する指針を遵守した。

(1) 《cross-link 手術》

ペントバルビツール系麻酔薬を腹腔内投与 (47mg/kg) し麻酔を行ったのち、頸部からのアプローチにて顎二腹筋・胸鎖乳突筋を同定後、舌下神経および顔面神経を同定した。大腿部より伏在神経を採取し、同定された舌下神経と顔面神経とを 10-0 黒ナイロン糸を用いて cross-link させた。

(2) 《舌下神経線維の順行性標識》

手術より 4 週のものち、穿頭術を行い舌下神経核に Fluoro-Ruby を 1 μ l 注入した。実験手技の詳細は筆者前著に記した。約 1 週間の生存期間の後、灌流固定を行い顔面神経束-移植神経-舌下神経束を一塊に摘出した。40 μ m の凍結切片を作成し、蛍光顕微

鏡で観察を行った。

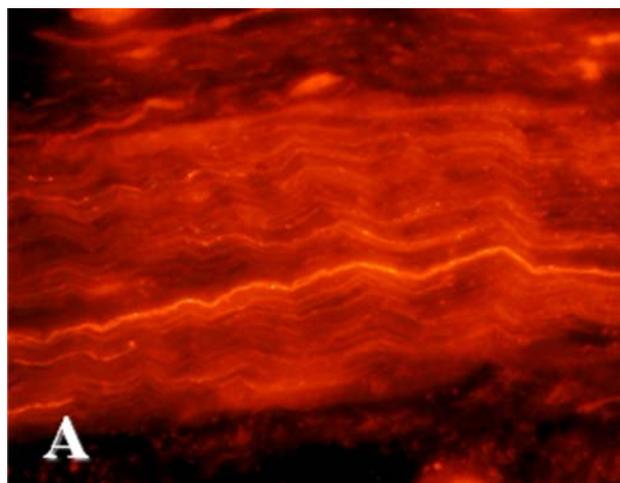
(3) 《顔面神経核・舌下神経核の逆行性標識》

手術より 3 ヶ月の後、頸部アプローチにて再度、舌下神経束および顔面神経束を同定した。手術用顕微鏡下にマイクロシリンジを用いて舌下神経束には Fluoro-Emerald を、顔面神経束には Fluoro-Ruby を 5 μ l ずつ注入した。1 週間後に灌流固定を行い、抜脳した。40 μ m の凍結切片を作成し、蛍光顕微鏡で観察を行った。

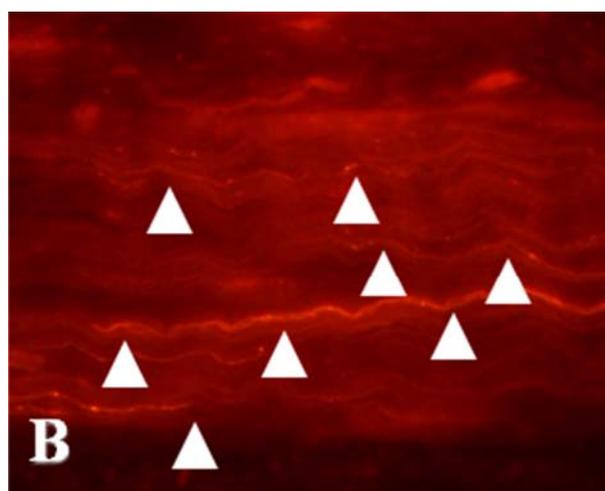
4. 研究成果

(1) 《舌下神経線維の順行性標識》

舌下神経束に赤色の蛍光で標識された線維が走行する様子が観察された。(A)

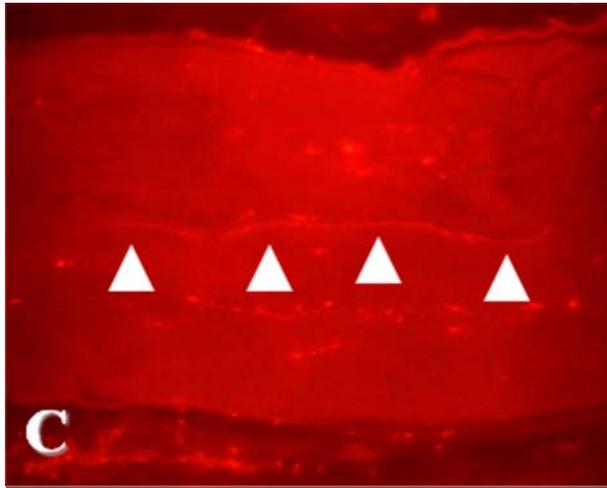


移植された神経の中にも赤色に標識された舌下神経線維が走行していた。(B)

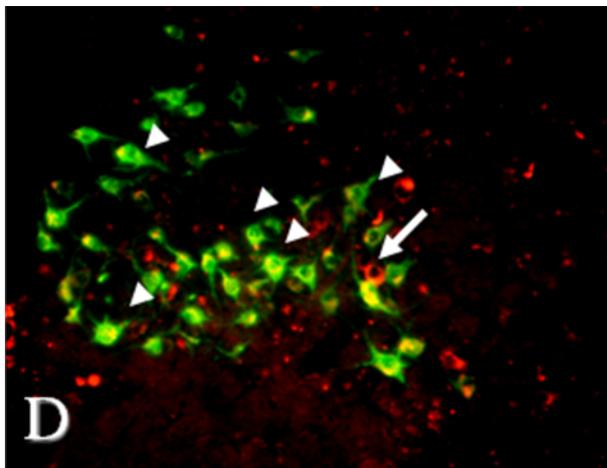


次に顔面神経束においても、数は少ないが蛍光標識された舌下神経の走行が観察された。(C)

(2) 《顔面神経核・舌下神経核の逆行性標識》



舌下神経核および顔面神経核において、それぞれ緑色・赤色に蛍光標識された神経細胞体が多数確認された。その中に舌下神経核では赤く標識された神経細胞体が観察



され、一部は赤・緑両方に標識されていた（重ねあわせにより黄色い蛍光を呈している）。

顔面神経核においては緑色に標識された神経細胞体が観察された。つまり、顔面神経線維が舌下神経束に、舌下神経線維が顔面神経束に伸展していることが示唆された。

顔面神経麻痺に対する治療において舌下神経線維を顔面神経に導入する方法は古くより提唱されており、数々の研究がなされてきた。舌下神経束を切断し、顔面神経束に端々・端側縫合することで一定の改善効果を認めたという報告が散見される。これら報告から考察されることは、いずれもダメージを受け減少または喪失された顔面神経運動線維を純粋な運動神経である舌下神経からの入力により補うというものである。cross-link型神経移植術においても顔面交叉型神経移植においてもその効果より同様の考察がなされる。ただしこれら神経移植術での前提は舌下神経線維の入力であり、顔面神経線維の喪失は考

慮されていない。

今回われわれが示したデータは、舌下神経線維が確かに顔面神経束に伸展していることを示した。ところが逆に顔面神経線維も同様に舌下神経束に伸展している。つまり顔面神経線維の喪失が行われていることも示している。現時点では定量的な解析が行われていない為、移植神経を顔面神経束・舌下神経束に同様に端側縫合した場合、いずれの神経の移植神経への伸展がより多く認められるのかを示すことが出来ないが、今後の課題であると考えている。

5. 代表的な研究成果

（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4件）

- ① Hashikawa K, Sakakibara S, Ishida Y. Facial-Hypoglossal Nerve Cross-Link Surgery for Involuntary Eye Closure with Tongue Movement as a Sequela of Hunts Syndrome: A case Report. *Facial Nerve Research*. 2010;29:93-6（査読有）
- ② Sakakibara S, Hashikawa K, Ishida Y. Neural circuit analysis with neural tracer on rat model of cross-link nerve grafting between facial and hypoglossal nerve. *Facial Nerve Research*. 2009;28:48-50（査読有）
- ③ 橋川和信, 田原真也. 顔面-舌下神経クロスリンク型神経移植術～顔面神経麻痺に対するSurgical rehabilitationの新展開. *医学のあゆみ*. 2009;228:928-929（査読有）
- ④ 榊原俊介, 橋川和信, 石田泰久, 永田育子, 大守誠, 寺師浩人, 田原真也. 順行性トレーサー法による舌下神経染色法. *日本マイクロ会誌*. 2008;21:28-32（査読有）

〔学会発表〕（計4件）

- ① 榊原俊介, 神経トレーサー法による新しい再生神経ネットワークの解析, 第18回日本形成外科学会基礎学術集会, 2009年10月1-2日, 東京
- ② 橋川和信, 舌と眼瞼の異常共同運動が顔面神経-舌下神経クロスリンク手術により軽快した顔面神経不全麻痺症例の経験, 第32回日本顔面神経研究会, 2009年6月4-5日, 淡路
- ③ 橋川和信, 顔面神経麻痺に対するsurgical and post-surgical rehabilitation～顔面-舌下神経クロスリンク手術～, 第52回日本形成外科学会総会・学術集会, 2009年4月22-24日, 横浜
- ④ 榊原俊介, 顔面-舌下神経 cross-link

型神経移植での順行性トレーサー法による解析，第 51 回日本形成外科学会総会・学術集会，2008 年 4 月 9-11 日，名古屋

〔図書〕（計 2 件）

- ① 橋川和信，田原真也．前腕皮弁．形成外科診療プラクティス 皮弁外科・マイクロサージャリーの実際 挙上～血管吻合の基本から美容的観点を含めて．東京：文光堂；2010. pp. 69-73
- ② 橋川和信，寺師浩人，田原真也．遊離皮弁と局所皮弁による顔面再建－Step-Surgery Conceptに基づく顔面全層欠損の再建－．田原真也，編．形成外科ADVANCEシリーズII-6 各種局所皮弁による顔面の再建：最近の進歩，第2版．東京：克誠堂出版；2009. pp. 108-17

6. 研究組織

(1) 研究代表者

橋川 和信 (HASHIKAWA KAZUNOBU)
神戸大学・医学部付属病院・助教
研究者番号：90403237

(2) 研究分担者

田原 真也 (SHINYA TAHARA)
神戸大学・医学部付属病院・教授
研究者番号：60207206

寺島 俊雄 (TERASHIMA TOSHIO)
神戸大学・医学研究科・教授
研究者番号：20101892