

機関番号：17401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21791624

研究課題名（和文）高齢動物モデルを用いた、脱神経と異所性神経再支配に関する基礎的研究

研究課題名（英文）Basic research for denervation and aberrant nerve reinnervation in aged animal models

研究代表者

宮丸 悟（MIYAMARU SATORU）

熊本大学・大学院生命科学研究部・助教

研究者番号：10535636

研究成果の概要（和文）：高齢ラットを用い、反回神経の切断によって脱神経された甲状披裂筋に対する神経再支配術の効果を検討した。神経再支配術として、頸神経とそれが支配する胸骨舌骨筋で作製した神経筋弁を甲状披裂筋に移植した。これにより筋の脱神経による萎縮は回復し、移植した頸神経からの神経再支配が確認された。以上より高齢モデルであっても、異所性神経からの神経再支配を受け、脱神経後の筋の萎縮が回復することが分かった。

研究成果の概要（英文）：We evaluated the effects of reinnervation procedures on the denervated thyroarytenoid (TA) muscle in aged rats. For the reinnervation procedure, we implanted the nerve-muscle pedicle (NMP), the ansa cervicalis nerve branch with a piece of sternohyoid muscle, in the denervated TA muscle. The NMP method could recover the denervation atrophy of TA muscle and the denervated TA muscle was reinnervated through the transferred ansa cervicalis nerve. We confirmed that the reinnervation procedures, by use of other nerves could recover the atrophic changes of the denervated muscles even in aged models.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：加齢、脱神経、反回神経麻痺、神経再支配、神経筋弁移植

1. 研究開始当初の背景

一側反回神経麻痺による高度嗄声は日常診療においてしばしば遭遇する症状で、患者のQOL(quality of life)を著しく低下させる。現在、一側反回神経麻痺に対する音声改善手術としては、声帯の位置を変えることで嗄声を改善させる治療が行われている。しかしながら、脱神経による声帯筋の緊張の低下と筋の萎縮のため、これらの治療法だけでは正常の音声にまで改善しない場合が多い。このため我々は、上記の治療法に甲状披裂筋の神経再支配を目指した治療法を追加することが望ましいと考え、近年頸神経を用いた神経筋弁移植術についての検討を行っている。これまで動物実験にて、移植した頸神経を介した異所性の神経再支配が成立し、これによって筋の萎縮性変化が抑制、回復することを確認してきた。

これらのモデル動物はいずれも生後8週と若年の動物を対象としたものであったが、現在の日本では、高齢化社会が進み、我々が関わる臨床の現場でも高齢者を対象として治療を行う機会が増加してきている。このような現状を踏まえると、同様の手技を高齢者に施行した場合に同様の結果が得られるのかどうかをきちんと把握したうえで治療に臨む必要があると思われる。これまで、高齢ラットを用いた実験では、加齢に伴い甲状披裂筋の構造や大きさ、機能が変化するという報告や、四肢の筋では神経再支配手技の効果が若年に比べて乏しいとする報告もみられる。しかしながら、甲状披裂筋の脱神経後の変化や神経再支配処置後の変化について検討した報告はない。

2. 研究の目的

これまでの高齢モデルでの筋の変化についての報告から考えると、現在までに我々が行ってきた若年モデルでの神経筋弁移植術の結果がそのまま高齢者に適応できるとは限らない。そこで、高齢ラットを対象として、脱神経した甲状披裂筋に神経筋弁移植術を行った場合の効果について、若年モデルの場合と同様に組織学的、生理学的方法でその効果を検討した。

3. 研究の方法

高齢モデルとして、生後20ヶ月のWistar系ラットを用いた(n=30)。また、比較対象にこれまで検討してきた生後8週齢のラットを若年モデルとして用いた(n=15)。それぞ

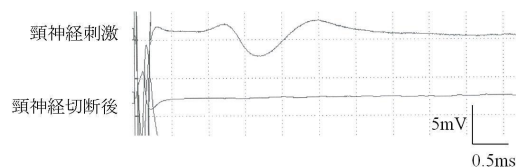
れ、反回神経を切断した脱神経群と、反回神経切断後に神経筋弁移植術を行った移植群の2群を作製した。神経筋弁移植術では、頸神経とそれが支配する胸骨舌骨筋を用いて神経筋弁を作製し、脱神経した甲状披裂筋に移植した。

高齢モデルでは、脱神経群、移植群ともに処置の10週後、20週後に評価を行い、若年モデルは処置の10週後に評価を行った。脱神経群は甲状披裂筋の断面積と神経筋接合部の変化についての組織学的検討を行った。神経筋接合部については、神経終末およびアセチルコリン受容体を免疫染色にて同定し、アセチルコリン受容体数に対する神経終末数の割合を神経支配の指標として評価した。移植群は組織学的検討に加えて、誘発筋電図検査を用いた生理学的検討を行った。移植した頸神経を刺激した際の甲状披裂筋の活動電位を記録し評価した。また、頸神経を切断した後もその中枢側断端を刺激し、活動電位を記録した。

それぞれの結果を高齢モデルの脱神経群と移植群で比較検討した。さらに移植群同士で高齢モデルと若年モデルとを比較した。

4. 研究成果

誘発筋電図検査では、移植群のすべてのモデルで、頸神経を刺激した際に甲状披裂筋の活動電位が認められた。これは、頸神経を切断した後には認められなかった。このことから、甲状披裂筋は移植した頸神経からの異所性神経再支配を受けていることが示唆された。

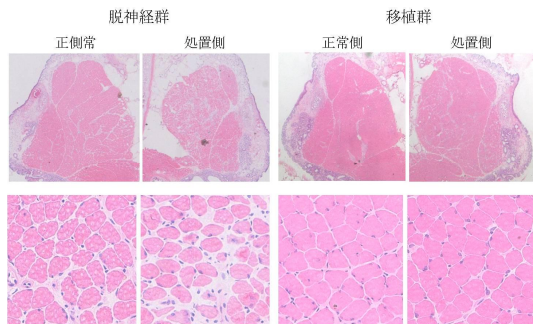


誘発筋電図検査

頸神経を刺激すると、甲状披裂筋の活動電位が記録された。これは、頸神経を切断した後には認められなくなった。

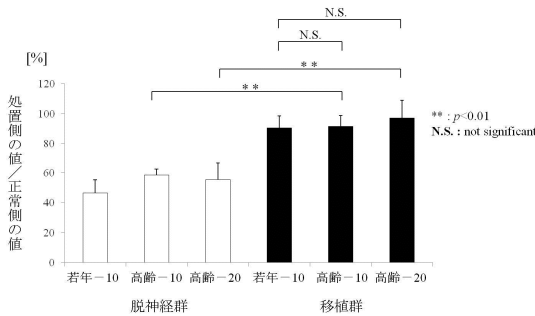
組織学的検討では、甲状披裂筋の断面積が脱神経群よりも有意に大きく、神経再支配によって脱神経に伴う筋の萎縮性変化が回復したことが確認された。神経筋接合部の検討では、脱神経群に比べて、神経終末とアセチルコリン受容体で形成される新たな神経筋

接合部が有意に多く形成されており、組織学的にも神経再支配が起こっていることが確認された。以上の結果は若年モデルと同様であり、また、若年モデルの移植群と比較しても遜色のない結果であった。



甲状披裂筋の断面積（上段：筋全体、下段：拡大像）

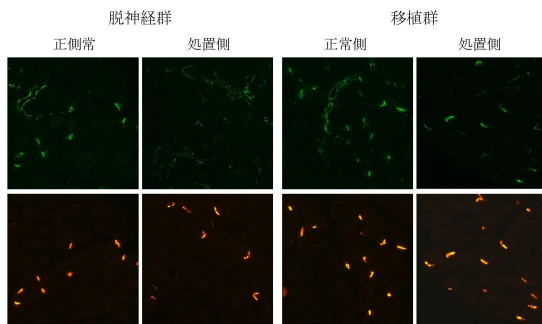
脱神経群で見られた筋の萎縮は、移植群では認められなかった。



甲状披裂筋の断面積の定量的検討

正常側に対する処置側の割合は、移植群では脱神経群に比べて有意に高かった。若年モデルと高齢モデルの間に有意な差は認められなかった。

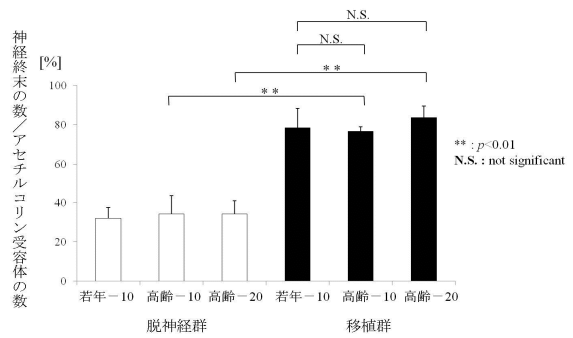
若年-10：若年で処置の10週後に評価したモデル、高齢-10：高齢で処置の10週後に評価したモデル、高齢-20：高齢で処置の20週後に評価したモデル



甲状披裂筋の神経筋接合部（上段：神経終末、下段：アセチルコリン受容体）

脱神経群では消失している神経終末が、移植

群では認められ、新たな神経筋接合部を形成していた。



神経筋接合部の定量的検討

移植群は脱神経群よりも有意に高く、若年モデルと高齢モデルとの間に有意な差はなかった。

若年-10：若年で処置の10週後に評価したモデル、高齢-10：高齢で処置の10週後に評価したモデル、高齢-20：高齢で処置の20週後に評価したモデル

本研究の結果は、臨床において、高齢者であっても神経筋弁移植術で若年者と同様に甲状披裂筋の脱神経後の萎縮が回復し、音声の改善が期待できることを支持する結果であった。

高齢化が進む近年、反回神経麻痺による嘔声に対しても高齢者を対象に治療を行う機会が増加してきている。しかしながら、これまで高齢モデルの甲状披裂筋について、脱神経後および神経再支配処置後にどのような変化を起こすのかについて検討した報告はない。このため、高齢モデルでも若年モデルと同様に、神経再支配処置を施すことで、脱神経に伴う筋の萎縮性変化を回復させることができることを確認できた本研究の臨床における意義は大変大きいと考えられる。

今回の検討では、反回神経を切断後、すぐに神経筋弁移植術を行うモデルを対象とした。しかしながら、臨床においては、反回神経麻痺を発症してから長期間経過した後に治療を行う場合が多い。我々の過去の検討では、脱神経期間が長くなるにつれて、神経筋弁移植術の神経再支配効果は徐々に低下することがわかっている。このため、今後は高齢モデルにおいても、脱神経後に長期間経過したモデルを作製し、同様に神経筋弁移植術を行った場合の効果についても検討する必要があると考えられる。

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)

[学会発表] (計 1 件)

1. 宮丸悟、熊井良彦、讃岐徹治、湯本英二.
脱神経後の甲状腺破裂筋への神経筋弁移植術
の加齢による影響、第 111 回日本耳鼻咽喉
科学会総会・学術講演会 2010 年 5 月 20 日、
仙台国際センター

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮丸 悟 (MIYAMARU SATORU)

熊本大学・大学院生命科学研究部・助教

研究者番号：10535636