

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：22101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23500601

研究課題名(和文)サル肋間神経移行後の中枢神経系における可塑的变化

研究課題名(英文)Plasticity of central nervous system after intercostal-musculocutaneous nerve transfer

研究代表者

佐々木 誠一 (Sasaki, Sei-Ichi)

茨城県立医療大学・保健医療学部・教授

研究者番号：50153987

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：カニクイザルを用いて第3、第4肋間神経を剥離し、上腕二頭筋の支配神経である筋皮神経に神経移行手術を行った。移行手術後10ヶ月後に上腕二頭筋、上腕三頭筋、手術側第5肋間筋、三角筋に筋電図記録のためにステンレスワイヤー電極を留置した。動物が安静状態では肋間神経移行上腕二頭筋からの筋電図には呼吸性の弱い筋電図活動が見いだされることがあるが、肋間神経移行上腕二頭筋を使って、随意運動を行えるようになることを見出した。二酸化炭素を吸気に付加すると呼吸性の筋電図が変化することから、肋間神経運動ニューロンへの呼吸性シナプス入力は完全には消失していないことが分かった。

研究成果の概要(英文)：Intercostal-musculocutaneous nerve transfer has been applied to clinical cases of severe brachial plexus injury. After 1 to 2 years, patients can move their injured elbow voluntarily. However, neural mechanisms of have not been fully examined. We examined function recovery of the biceps brachii muscle after T3 and T4 internal intercostal nerves were transferred to the musculocutaneous nerve in monkey. After 10 months survival period, IC-biceps showed voluntary movements and activities were separated from T5 intercostal muscle activities. However, IC-biceps showed very weak respiratory activities. These results indicate that Th3 and Th4 intercostal motoneurons lose some of respiratory descending inputs and may receive the newly synaptic inputs associated voluntary movements from the cortex or the brainstem.

研究分野：神経生理学

キーワード：肋間神経移行 中枢神経系 可塑性 霊長類 呼吸

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 外傷後の末梢神経損傷に対して、神経縫合術や神経移行術、また神経移植術を行ない、機能回復が見られることが知られている。特にヒトの腕神経叢の損傷については呼吸筋である肋間神経を神経移植する治療が行われている。肋間神経を移行手術された上腕二頭筋は再神経支配直後は深呼吸あるいは咳などに反応し呼吸に関連する筋活動が見られる。しかし術後、リハビリテーションを行い、1年から2年程度経過すると肋間神経を移行された上腕二頭筋は徐々に呼吸性の筋活動ばかりでなく呼吸運動からかい離して随意運動ができるようになる (Homma and Shibuya 1988)。肋間神経移行された上腕二頭筋を使い、肘関節を随意的に屈曲させ、腕で軽い物が持てるようになると生活機能が大きく改善することが報告されている。しかしながら、このような呼吸運動からかい離した随意運動ができるようになる中枢神経系の可塑性のメカニズムについては不明であった。

(2) ヒトの肋間神経移行後の大脳皮質運動野の機能局在の変化については経頭蓋時期刺激や機能的MRI画像を用いて調べられているが運動野の体幹支配領域が肋間神経移行上腕二頭筋の随意運動を新たに獲得するのか、あるいは元々の上肢支配領域が肋間神経運動ニューロンを新たに支配して随意運動を獲得するのかについては異なる研究成果が発表されていて確定的な結果は得られていない (Malessey *et al.* 2003、Mano *et al.* 1995)。さらに肋間神経運動ニューロンは延髄の呼吸中枢から呼吸性シナプス入力を受けるが肋間神経移行上腕二頭筋の随意運動発現時にどのように活動するのかについては分かっていなかった。

### 2. 研究の目的

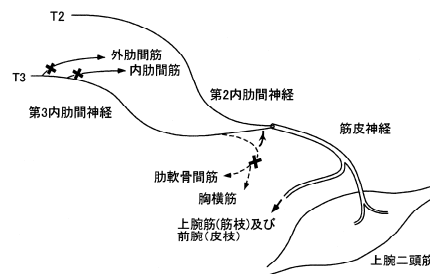
(1) 肋間神経移行上腕二頭筋で随意運動を発現するには移行された肋間神経運動ニューロンが大脳皮質運動野の体幹領域からの支配を脱して上肢領域から支配されて随意運動を獲得する可能性と、運動野の上肢領域が脊髄で上肢運動ニューロンから肋間神経運動ニューロンへシナプス接続を変える可能性、あるいは延髄呼吸ニューロンを介して肋間神経運動ニューロンに随意運動を発現する可能性などが考えられるが確定的な研究成果は得られていない。本研究ではヒトの肋間神経移行のモデルとして霊長類を用いて肋間神経移行後の上腕二頭筋がヒトの肋間神経移行の症例のように術後、呼吸運動から乖離して随意運動ができるようになるかを調べる。

(2) ネコの場合、大脳皮質運動野の体部位局在が不明瞭で、さらに運動野からの下行路は介在ニューロンを介して脊髄運動ニューロンに接続している。随意運動獲得のために運動野と脳幹にどのような可塑的变化が生じているかを調べる研究ではネコでは限界

がある(参考論文 1,2,3)。ヒトとサルでは運動野からの下行路は直接脊髄運動ニューロンにシナプス接続しているため、サルを用いて肋間神経移行後の上腕二頭筋の筋電図解析、および随意運動の発現時の筋電図を解析し、中枢神経系の可塑的变化を調べることを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 実験は独立行政法人医薬基盤研究所霊長類医科学研究センターで行った。ケタミン筋注で麻酔導入し、気管内挿管後、酸素、笑気、セボフレンの混合気で自発呼吸下で麻酔を維持した。呼気ガス二酸化炭素濃度、直腸内体温、心電図をモニターし、無菌下で第3肋間神経、ならびに第4肋間神経を肋間筋および胸膜から剥離した。上腕二頭筋を支配する筋皮神経の断端に剥離した2本の肋間神経を神経移行した。筋皮神経が二頭筋を神経支配するかどうかは神経を電気刺激して確かめた。神経移行に際しては手術顕微鏡下で2本の神経と1本の神経に神経縫合する落合らが開発した手技で行った。



手術後、モンキージャケットを着せ神経縫合した腕を肩が大きく開かないようにゆるく拘束した。動物を飼育ケージに戻し3日間抗生薬と鎮痛剤を投与し、麻酔からの覚醒と手術傷の回復を注意深く観察した。10ヶ月経過してから神経移行側の肋間神経移行上腕二頭筋、上腕三頭筋、第5肋間筋、三角筋、正常側の上腕二頭筋、上腕三頭筋、第4肋間筋、三角筋に筋電図記録用のテフロン被膜ステンレスワイヤー電極を植えた。電極は背側の皮下を通し、頭蓋骨に固定したソケットに接続した。手術後3日経過してから動物を民キータに座らせ、ヒトの手から餌を取る動作をビデオカメラで撮影し、同時に各筋の筋電図を同時記録した。筋活動は日本光電社、MEG-6108, AB-610J 用いて増幅し、デジタルデータレコーダー、ソニー社 PC-208Ax に記録した。上肢の運動の動画は每秒 60 コマで撮影し、動画データと筋電図データは CED 社 Power1401、Spike2 ソフトを用いてデータ取り込みと解析を行った。

(2) 筋電図解析を行った動物についてケタミン筋注で麻酔導入し、気管内挿管後、酸素、笑気、セボフレンの混合気で自発呼吸下で麻酔を維持し、大脳皮質運動野が存在する部位

の頭蓋骨に穴を開け、慢性記録用チャンバー設置した。脳皮質の運動野は手術前にMRIによって場所を確定した。大脳皮質運動野の硬膜を開けタングステン微小電極を刺入し、電気刺激を行い目視で筋収縮を観察し、運動野における体部位局在を調べた。本研究は茨城県立医療大学動物実験委員会の承認を得て行った。

#### 4. 研究成果

##### (1) 肋間神経移行上腕二頭筋の上肢運動時の筋電図

動物をモンキーチェアに座らせ自由に腕を動かしている時、餌を取ろうとした時の肋間神経移行上腕二頭筋の筋電図を記録した。餌を目の前に置くと動物は腕を伸ばし、餌を取ろうとする。この時の筋電図は第5肋間から記録している筋電図に現象が観察できる。次に三角筋の筋電図が記録できる。安静状態では三角筋や第5肋間筋からは筋電図はほとんど観察できないことから餌取りに付随して三角筋や第5肋間筋で記録できる筋電図は腕を伸ばす時に体幹筋や肩関節領域の運動が前腕、前肢の運動に先行するこれまでのヒトの運動解析の結果と一致する。餌をつまむ動作では三角筋と第5肋間筋の筋電図が消失し、肋間神経移行上腕二頭筋の筋電図が記録できた。動画と筋電図を解析すると動物は肋間神経移行上腕二頭筋を随意的に制御し、正確な餌取り動作を行っていることが分かった。餌取り動作の前後、あるいは動作中では肋間神経移行上腕二頭筋の筋電図上には呼吸性の筋活動は認められなかった。

##### (2) 安静覚醒時の筋電図の解析

安静覚醒時に肋間神経移行上腕二頭筋の筋電図どのような筋電図が観察できるか調べた。動物をモンキーチェアに座らせ周囲の環境に慣れたところに肋間神経移行上腕二頭筋の筋電図を記録した。記録中は呼吸性の腕の動きは観察されない状態でも筋電図上では呼吸性の弱い筋電図が認められた。しかし、観察された弱い呼吸性の筋電図は常時観察できるものではなく、時に認められる程度の現象である。ヒトでの肋間神経移行の症例では随意運動獲得後も深呼吸や二酸化炭素負荷で呼吸性の筋電図が出現することが報告されている。また同様な呼吸性の筋電図は他種の動物でも肋間神経移行後の上腕二頭筋から記録されていて随意運動獲得後も呼吸性のシナプス入力には完全には消失しないと思われる。肋間筋は呼吸に関する活動ばかりではなく体幹の調節による姿勢制御や上肢運動時には上肢帯の運動にも関与すると思われるが呼吸機能に関するシナプス入力は減弱しても完全に消失することなく生命維持に重要な呼吸機能の維持に役立っていると考えられる。

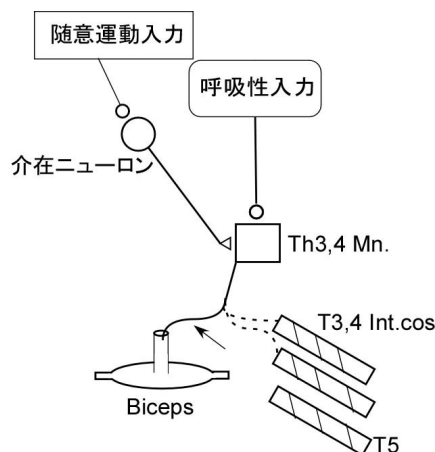
##### (3) 二酸化炭素負荷時の筋電図

安静時記録される呼吸性の弱い筋電図が延髄呼吸中からの下行性シナプス入力を受け

ているかどうか吸気に二酸化炭素を付加して変化するかどうか調べた。麻酔下で5%二酸化炭素を吸気に付加して呼吸との関連を調べると、二酸化炭素を付加する前にはほとんど肋間神経移行上腕二頭筋の筋電図には呼吸性活動が認められなかったが二酸化炭素を付加すると肋間神経移行上腕二頭筋に時間と共に徐々に強くなる呼吸性の筋電図が記録できた。呼吸の吸気呼気の流量が多くなるにつれて筋電図に呼吸性の活動が強くなることから延髄呼吸中枢からの入力は肋間神経移行された後、数か月後でも残存し、吸気の二酸化炭素濃度に反応していることが分かった。

##### (4) 運動野の微小電流刺激

肋間神経を上腕二頭筋に神経移行した後に大脳皮質運動野にどのような変化が起こるかは詳細には解析されていない。これまでヒトの症例で肋間神経移行手術を受けて経頭蓋磁気刺激あるいはfMRIを用いた機能画像診断が行われているが確定的な結果が得られていない。本研究で肋間神経移行した動物の体幹支配領域と上肢領域を微小電流刺激し上肢支配領域と体幹領域がどのように変化するか調べた。ケタミン麻酔下で大脳皮質運動野を微小電流刺激で連発刺激し、筋収縮と筋電図の活動を調べた。対照として同一動物の正常大脳皮質運動野を調べて可塑的变化が生じているか調べた。カニクイザルの運動野をマッピングした結果、体部位局在はこれまで報告されている赤毛ザルと基本的には良く一致していた。しかしながら、胸部およびその周辺の体幹領域の領域は狭く確定は極めて困難で本研究で解析目標であった運動野の可塑的な変化を確定するに至っていない。



肋間神経移行手術はすでにヒトの腕神経叢損傷症例に適応され治療成績も報告されている。本研究ではこれまでに行ってきた基礎研究の成果をもとにヒトに近い霊長類で研究を行った。ヒトの臨床においては随意運動の獲得経過の解析が重要である。経頭蓋磁気刺激、あるいはfMRIをもちいての機能的MRIでの研究では皮質内での介在ニューロン

の変化、運動野の位置の移動など異なる研究成果が報告されている。本研究では霊長類を用いて可塑的な変化を確定する計画であったが体幹筋支配が狭く信頼に足る結果は得られなかった。しかしながら、これまで肋間神経移行手術を受けたヒトの臨床研究での成果を裏付ける成果が得られた意義は大きい。特に大脳皮質からの随意運動に関与する錐体路細胞は霊長類ではシナプス1個で脊髄運動ニューロンに接続し、介在ニューロンを介して脊髄運動ニューロンに接続するネコと大きな違いがある。霊長類では第3、第4頸髄に存在する介在ニューロンが随意運動の信号伝達に重要な役割をしていることが報告されている。このことから大脳皮質の可塑的な変化ばかりでなく第3、第4頸髄に存在する介在ニューロンの機能の変化の可能性についても今後詳細な研究が必要と思われる。

#### <参考文献>

1. Uga M, Niwa N, Ochiai N, Sasaki S-I Activity patterns of the diaphragm during voluntary movements in awake cats. J Physiol Sci 2010;60No.3:173-180
2. Uga M, Niwa N, Ochiai N, Sasaki S-I The diaphragmatic activity during trunk movements. Advances in Experimental Medicine and Biology, 2010;669:253-256
3. Sakuta N, Sasaki S.-I, Ochiai N. Analysis of activity of motor units in the biceps brachii muscle after intercostal-musculocutaneous nerve transfer. Neuroscience Research 2005;51:359-369

#### 5 . 主な発表論文等

##### 〔雑誌論文〕(計2件)

芦川 聡宏、村松 憲、斎藤 利恵、石黒友康、佐々木 誠一、丹羽 正利、末梢神経損傷によって生じる運動ニューロンの形態変化、運動障害、査読有、23巻1号、2013、85-90

Masatoshi Niwa, Ken Muramatsu, Sei-Ichi Sasaki, Discharge patterns of abdominal and pudendal nerves during induced defecation in anesthetized cats, J Physiol Sci, 2015, DOI 10.1007/s12576-015-0362-y

##### 〔学会発表〕(計5件)

佐々木誠一、肋間神経移行後上腕二頭筋の筋活動、第90回日本生理学会大会 2013年3月27日、タワーホール船堀、東京

佐々木誠一、呼吸の運動制御、第9回霊長医科学フォーラム 2013年11月14日、文部科学省研究交流センター、つくば市

佐々木誠一、生体信号記録のための極細線の試作開発研究、第2回看護理工学会学術集会 2014年10月5日、大阪大学学生会館、大阪

佐々木誠一、医学研究・生物科学研究における極細記録線の試作開発、テクノロジ・ショーケース 2015年1月21日、つくば国際会議場、茨城つくば市

佐々木誠一、運動から脳へのアプローチ、医療・福祉に関わる産学官および医工連携の事例紹介、2015年3月14日、じゅうろくプラザ、岐阜市

#### 6 . 研究組織

##### (1)研究代表者

佐々木 誠一 (SASAKI, Sei-Ichi)  
茨城県立医療大学・医科学センター・教授  
研究者番号：50153987

##### (2)研究分担者

飯塚 眞喜人 (IIZUKA Makito)  
昭和大学・医学部・助教  
研究者番号：40274980