

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 11 日現在

機関番号：17401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26670744

研究課題名(和文) 反回神経の再生における標的特異性と過誤神経支配に関する基礎的研究

研究課題名(英文) Target specificity in the regeneration process of the injured recurrent laryngeal nerve.

研究代表者

湯本 英二 (Yumoto, Eiji)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・名誉教授

研究者番号：40116992

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：運動神経線維再生の方向は本来の標的筋に優位に再生するのかを検証するため、ラットにY字チューブを埋め込み反回神経末梢側断端と反回神経中枢側断端、頸神経ワナ中枢側断端をチューブのそれぞれの端に縫合固定し、一定期間後に神経のつながりを評価した。Y字チューブがラットの体格に対して大きく、またシリコンに対する異物反応のために癒痕を生じ、有意な結果は得られなかった。動物種やチューブの素材の検討が必要である。

研究成果の概要(英文)：In order to analyze whether the destination of reinnervation of motor neuron was the natural target or not, implantation of Y-shape silicone tube was performed. Recurrent laryngeal nerve and ansa cervicalis nerve of rats were transected individually, and then each nerve stumps of recurrent laryngeal nerve and the central end of ansa cervicalis nerve stump were sutured to each end of Y-shape tube. After the certain periods, the connection of each nerve was analyzed. The results showed that Y-shape tube was too large for rats. Moreover, hyperplasia of fibrous scar tissue which is the reaction to the silicone implants disturbed the analysis. Choice of animal model and materials of Y-shape tube need be considered again.

研究分野：喉頭科学

キーワード：反回神経再生 標的特異性 過誤神経支配

1. 研究開始当初の背景

喉頭は、嚥下・呼吸・発声という生命維持とヒトが社会生活を営むためのコミュニケーションにとって重要な機能を担っている。その障害は嚥下性肺炎、呼吸障害、高度嘔声と多岐にわたる。申請者は、一側性麻痺喉頭、とくに声帯運動と喉頭内腔形態の異常を詳細に検討し (Yumoto, et al. Laryngoscope 1997;107:1530-7, Yumoto, et al. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 1999;125:883-90, Yumoto, et al. Acta Otolaryngol 2003;123:274-8, Yumoto, et al. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 2004;130:967-4) 20-30%の症例で麻痺側声帯に共同運動(吸気時に比して発声時に外転し厚みが減少する現象)が生じることを見出した。共同運動は神経傷害後に起こる再生過程で拮抗筋に対する過誤神経支配の起こることが原因とされている。しかし、過誤神経支配の成因、および反回神経傷害時の神経線維の再生過程と本来の標的筋に向かって優位に再生するかどうかについてはまったく解明されていない。

2. 研究の目的

運動神経線維再生の方向はランダムに決まるのか、もしくは本来の標的筋に優位に再生するのかを、反回神経と頸神経ワナを競合させる動物モデルで検討することを目的に実験を行った。

3. 研究の方法

(1)ラットを用いたY字チューブ挿入の検討
Y字型シリコンチューブは塚田メディカル・リサーチに作成依頼し使用した。

Wistar系ラット8週令を10匹使用した。ケタラル、キシラジンをを用いて麻酔をかけ、輪状軟骨下端から10mm尾側で反回神経、頸神経ワナを切断し、Y字チューブの一端に反回神経中枢側断端を1mm挿入し、神経とチューブを9-0ナイロン糸で縫合固定した。Y字チューブの二股部分に反回神経中枢側と頸神経ワナ中枢側断端を挿入して同様に縫合固定した。処置後2週、4週、6週、12週、42週で安楽死させ、Y字チューブを除去して神経の連続について評価した。

(2)フェレットを用いた反回神経切断モデルの作製

若年成人オスフェレットをケタラル、キシラジンを筋注し麻酔した。頸部を切開し左反回神経を第7気管輪レベルで切断し、フェレット用のラリング台に寝かせ、硬性鏡を用いて声帯運動を確認した。

4. 研究成果

(1) 結果

ラットにおけるY字チューブ留置研究

それぞれのタイムポイントでラットを安楽死させY字チューブ埋め込み部を観察した。処置後6週までのモデルでは反回神経と頸神

経ワナは線維性にも連続が見られなかった。処置後12週モデルについてY字チューブを除去して観察すると、反回神経中枢側断端と反回神経末梢側断端が線維性の結合織でつながっていた。頸神経ワナと反回神経中枢側では連続を認めなかった。もう1匹では反回神経中枢側と頸神経ワナ中枢側から伸びた線維が1本となって反回神経末梢側と連続していたが、非常に細い線維であった。

処置後42週では2匹ともYチューブ内は癒痕で充満しており、反回神経および頸神経ワナは同定困難であった。Y字チューブを除去して組織学的な評価を試みたが、Y字チューブを除去する際に損傷し、検討が不能であった。

フェレットにおける反回神経麻痺モデル作成の検討

フェレットを同研究に用いることが可能かの確認としてフェレット反回神経麻痺モデルを作製した。

フェレットの反回神経は容易に同定することが可能であった。反回神経を切断後に声帯運動を確認すると左声帯麻痺を生じており、切断した神経が反回神経で間違いのないことが確認できた。

(2) 考察

ラットを用いたY字チューブ挿入の検討
処置後12週では反回神経の中枢側、末梢側、頸神経ワナとの間に線維性の連続が見られた。反回神経の端端が結合したサンプルと、反回神経と頸神経ワナが一塊となって反回神経の中枢側と結合したサンプルがあり、反回神経と頸神経ワナのどちらが優位に神経伸長するのかについてはより数を増やして検討する必要があると考えられた。

しかし、ラットは体格が小さく、内径1mmのY字型シリコンチューブを安定した条件下で頸部に埋め込むのが非常に困難であること、また小動物であるために神経も細く、Y字チューブの除去の際に損傷するリスクが高いことの2点からラットを本研究に用いて結果を得るのは難しいと考えられた。

処置後42週では癒痕形成が見られたが、これはシリコンチューブに対する異物反応が原因である。現在臨床応用されている神経再生誘導チューブ(ナブリッジ®)はポリグリコール酸、コラーゲンなど生体内で分解誘導されやすい素材であり、神経伸長の足場となる製剤である。こうした生体内での親和性が高い素材を用いたチューブを使用することでより確実な研究を行うことが可能かもしれない。

以上の結果より、ラットよりも体格の良い生物を用いた研究を行うことを目的とし、我々のグループで他の研究に用いているフェレットを本研究に用いることの可能性について探ることとした。

フェレット反回神経切断モデルの作製
我々は声帯癒痕の研究にフェレットを用いてきたが、反回神経麻痺モデルの作製は未経

験であったため、まずは反回神経麻痺モデルを作製した。フェレットの反回神経も他の動物種と同様に気管傍を頭側に向かって走行しており、同定は容易であった。

今後、フェレットを用いてY字チューブ留置の検討を行う予定としているが、ラット用に作成したY字チューブはサイズが小さく、フェレットに用いるには再度作成のし直しが必要と考えられ、フェレット用のYチューブ作成にはまだ至っていない。また、前述のようにフェレットを用いた場合もシリコン製のチューブでは癒痕によって評価が困難となる可能性が高い。より生体への親和性の高い素材をもちいた足場となるY字チューブの作成が必要であると考えている。これまでの結果を踏まえて本研究を進めていきたい。

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 7 件)

1. Kodama N, Kumai Y, Sanuki T, Yumoto E Arytenoid Adduction Combined with Nerve-muscle Pedicle Flap Implantation or Type I Thyroplasty. *Laryngoscope*. 127(1):159-166;2017. DOI:10.1002/lary.26032
2. Kumai Y, Yoshida N, Kamenosono Y, Matsubara K, Samejima Y, Baba H, Yumoto E Effects of Chin-Down Maneuver on the Parameters of Swallowing Function After Esophagectomy With 3-Field Lymphadenectomy Examined by Videofluoroscopy. *Arch Phys Med Rehabil*. in press 2017. DOI.org/10.1016/j.apmr.2016.11.005
3. Sanuki T, Yumoto E, Long-term evaluation of Type 2 Thyroplasty with Titanium Bridges for Adductor Spasmodic Dysphonia. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. in press 2017. DOI: 10.1016/j.anl.2013.11.001.
4. 湯本英二、私の喉頭科学研究、日本耳鼻咽喉科学会会報 3月号、230-240:2017
5. Sanuki T, Yumoto E, Toya Y, Kumai Y, Voice tuning with new instruments for type II thyroplasty in the treatment of adductor spasmodic dysphonia. *Auris Nasus Larynx*. 43(5):537-540;2016 DOI:10.1016/j.otohns.2009.12.018.
6. Kumai Y, Samejima Y, Yumoto E, Postdeglutitive residue in vagus nerve

paralysis and its association with feeding style. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 273(12):4369-4375;2016 DOI: 10.1007/s00405-016-4182-3.

7. 讃岐徹治、湯本英二、神経筋弁移植術、日本内分泌、甲状腺外科学、33(4):249-253;2016

[学会発表](計 7 件)

1. 湯本英二、神経筋弁を用いた一側喉頭麻痺の手術 - 最近の進歩を中心に - 、第32回西日本音声外科研究会、大阪、2017.1.7
2. 湯本英二、一側喉頭麻痺の手術：手技、注意点、今後の発展、愛媛県耳鼻咽喉科内視鏡手術研究会特別講習、松山 2016.10.1
3. 湯本英二、神経筋等の疾患を有した症例の発話分析 - 耳鼻咽喉科医の立場から、第40回日本神経心理学会学術集会、熊本 KKR、2016.9.15-16
4. 湯本英二、小児の音声言語障害、第60回九州ブロック学校保健・学校医大会、熊本 2016.8.6-7
5. 湯本英二、神経再支配を目指した一側喉頭麻痺の治療、第84回山形県耳鼻咽喉科疾患研究会、山形 2016.7
6. Yumoto E, Beyond the horizon in the treatment of severe paralytic dysphonia. 100th Scientific Congress of the Taiwan Otolaryngological Society. Kaohsiung, Taiwan. 2016.5.21-22
7. 湯本英二、一側喉頭麻痺の治療、浜松市リハビリテーション病院講演会、浜松、2016.5

[図書](計 1 件)

1. Yumoto E Pathophysiology and surgical treatment of unilateral vocal fold paralysis. Springer, Tokyo, 1-161, 2015

[産業財産権]

出願状況(計 件)

名称：
発明者：

権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

湯本英二 (YUMOTO, Eiji)
熊本大学大学院生命科学研究部 (医)
耳鼻咽喉科学・名誉教授
研究者番号：40116992

(2) 研究分担者

なし ()

(3) 連携研究者

讃岐徹治 (SANUKI, Tetsuji)
熊本大学医学部附属病院
耳鼻咽喉科 頭頸部外科・講師
研究者番号：10335896

増田聖子 (MASUDA, Masako)
熊本大学医学部附属病院
耳鼻咽喉科 頭頸部外科・非常勤診療医師
研究者番号：70346998

熊井良彦 (KUMAI, Yoshihiko)
熊本大学大学院生命科学研究部 (医)
耳鼻咽喉科 頭頸部外科・助教
研究者番号：00555774

(4) 研究協力者

なし