

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 10 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25293349

研究課題名(和文) 一側喉頭麻痺の病態に関する基礎的臨床的研究

研究課題名(英文) Basic and clinical research of the pathophysiology of vocal fold paralysis.

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) 14,200,000円

研究成果の概要(和文)：基礎研究では反回神経脱神経モデルおよび神経縫合モデルを作成し、筋衛星細胞の動態を評価した。神経縫合群では神経再支配に伴い筋衛星細胞の脱活性化を認めた。脱神経後の声帯粘膜固有層におけるヒアルロン酸含有量は正常と比較して低下するとの予測に反し有意差はなかった。臨床研究では三次元CTと発声機能の関連の検討において、声帯の過内転が発声機能の改善に影響しないことが明らかになった。神経筋弁移植術後患者の筋電図検査では神経筋弁移植術により甲状披裂筋の神経再支配を促すことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In basic research, the modulation of muscle satellite cells was analyzed using recurrent laryngeal nerve denervation models and reinnervation models. At the reinnervation model, de-activation of satellite cells was observed after reinnervation. Quantity of hyaluronic acid contained within lamina propria of vocal fold did not decrease, contrary to expectation that hyaluronic acid would decrease after denervation. Clinical research about the relationship of 3 dimension CT scan and vocal function revealed that the over adduction of vocal fold did not improve vocal function. Electromyogram of intrinsic laryngeal muscle of the vocal fold palsy patients who received the nerve muscle pedicle implantation surgery suggested that nerve muscle pedicle implantation improve the reinnervation of thyroarytenoid muscle.

研究分野：喉頭科学

キーワード：喉頭麻痺 筋衛星細胞 ヒアルロン酸 三次元CT 発声機能

1. 研究開始当初の背景

医原性喉頭麻痺が喉頭麻痺全体の 40-50%を占めるようになり原疾患治癒後の喉頭麻痺による患者の QOL 低下を改善することが強く求められている。いまだ不明な点が多い喉頭麻痺の基礎的 臨床的な病態をまず明らかにし、その結果をもとに新たな治療法の開発を目指すことが重要である。

2. 研究の目的

基礎研究では、脱神経・再神経支配に伴う 1) 神経筋接合部数とアセチルコリン受容体の形態 変化を明らかにし、2) 筋衛星細胞の数、増殖能および分化能の変化を検討し、さらに 3) 声帯粘膜固有層のヒアルロン酸含量の変化を測定する。臨床研究では、1)喉頭内腔形態と内 喉頭筋の筋電図所見との関連を検討し、2)健側声帯過内転が発声機能を代償するかどうかを検証し、さらに 3)特発性喉頭麻痺の神経傷害部位を嚥下造影所見と筋電図所見に基づいて推測する。

3. 研究の方法

*基礎研究

脱神経モデルおよび神経再建モデルにおける筋衛星細胞の動態に関する研究
ラットを脱神経群、神経縫合群に分けた。第 7 気管輪レベルで左反回神経を切断し、神経縫合群では即時に 11-0 ナイロン糸で縫合した。処置後 3 日、1 週、3 週、5 週で喉頭を摘出し筋衛星細胞のマーカである M-cadherin、および Muscle regulatory factor である MyoD について real time PCR で評価した。また、組織学的に免疫染色および HE 染色で神経筋接合部、甲状披裂筋の再生について評価した。

脱神経後の声帯粘膜固有層におけるヒアルロン酸定量

8 週令ラットを用いて、喉頭麻痺モデルを作製し、声帯粘膜固有層内のヒアルロン酸含有量の変化について評価した。ラットの左反回神経を切断し、4 週、8 週、12 週でラットを安楽死させ、喉頭を摘出した。冠状断薄切片を作成し、HAB を用いて染色し、streptavidin を用いて発色した。Image J を用いて画像処理し、粘膜固有層のなかで HAB 陽性の部分の面積を測定した。

*臨床研究

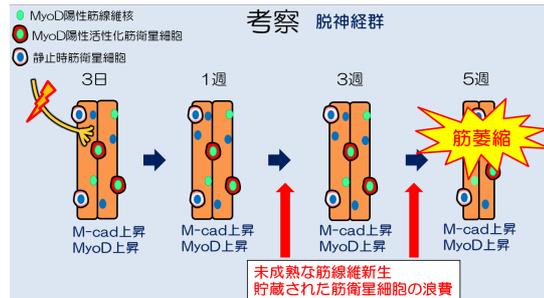
喉頭麻痺症例と披裂軟骨内転術に神経筋弁移植術を行った症例について、術前、術後に三次元 CT を撮影した。また同時期に喉頭ストロボスコーピー、発声機能検査、喉頭筋電図検査も行い評価した。

4. 研究成果

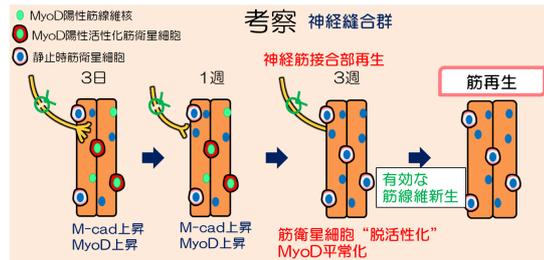
*基礎研究

脱神経群、神経縫合群における筋衛星細胞の動態処置後 3 日、1 週では脱神経群、神経縫合群とも M-cadherin、MyoD と処置側で有意に発現が上昇した。処置後 3 週、5 週で

は脱神経群では M-cadherin、MyoD の発現上昇が持続したのに対し、神経縫合群では処置後 3 週以降でこれらの発現は低下していた。神経筋接合部の再生は、脱神経群では処置後 5 週でも見られず、甲状披裂筋の断面積の回復も見られなかった。神経縫合群では処置後 3 週以降で神経筋接合部の再生を生じ、処置後 5 週では甲状披裂筋の筋断面積の回復が見られた。



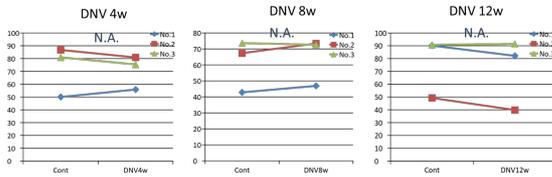
脱神経群では神経筋接合部の再生や筋線維の回復が見られず、M-cadherin、MyoD の発現上昇は持続した。M-cadherin、MyoD の発現上昇は筋線維の新生反応を反映していると考えられる。しかし、筋線維が新生しても神経支配がないと有効な筋線維再生にはいたらず筋萎縮が進行する。こうした筋新生の反応で筋衛星細胞の浪費が生じ、徐々に筋衛星細胞の絶対数が減少し筋再生能力が下がっていくと考えられる。



神経縫合群では処置後 3 週で神経筋接合部の再生が生じるのに伴い、M-cadherin、MyoD の発現も平常化した。有効な筋再生に伴い筋衛星細胞の活性化状態から脱したためこうした結果になった可能性が考えられた。神経再支配後に筋再生が不十分な症例については脱活性化した筋衛星細胞を再活性化するような薬剤を投与することでさらなる筋再生を促すことができると期待できる。

ヒアルロン酸の定量

処置後 4 週、8 週、12 週のいずれでも処置側、非処置側でヒアルロン酸の含有量に有意差は見られず、声帯麻痺によって粘膜固有層におけるヒアルロン酸含有量は変化がないことが分かった。



*臨床研究

三次元 CT と発声機能の関連の検討では、声帯の過内転が発声機能の改善に役立っているかを評価した。過内転がある症例と過内転していない症例で発声機能に差がないことから喉頭麻痺患者によく観察される発声時の健側声帯過内転は発声機能を代償しないと考えられた。

一側喉頭麻痺患者に対して行った神経筋弁移植術の術後 2 年経過後で、手術前後に筋電図検査を行えた 12 名では発声時にみられる甲状披裂筋のリクルートメントが有意に改善した。三次元 CT 検査でみた発声時声帯の厚みも術後に有意に改善した。これらの結果から神経筋弁移植術によって甲状披裂筋の神経再支配が促進されることが分かった。神経筋弁移植術を披裂軟骨内転術と併用することの臨床的意義を示すことができた。

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 14 件)

1. Nishimoto K, Kumai Y, Sanuki T, Minoda R, Yumoto E,
The Impact of Nimodipine Administration Combined with Nerve-Muscle Pedicle Implantation on Long-Term Denervated Rat Thyroarytenoid Muscle. *Laryngoscope*. 123(4):952-959;2013
2. 湯本英二、讃岐徹治、熊井良彦
一側喉頭麻痺に対する音声外科 -披裂軟骨内転術と神経筋弁移植術-、*頭頸部外科* 23(1)27-31;2013
3. Narajos N, Samejima Y, Kumai Y, Yumoto E,
Postdeglutitive residue in idiopathic unilateral vocal fold paralysis: a quantitative videofluoroscopic study. *Laryngoscope*. 123(11):2776-9;2013
4. Sanuki T, Yumoto E, Nishimoto K, Minoda R,
Laryngeal muscle activity in unilateral vocal fold paralysis patients using electromyography and coronal reconstructed images. *Otolaryngology-head and neck surgery*. 150(4):625-630;2014
5. Yumoto E, Sanuki T, Minoda R, Kumai Y, Nishimoto K, Kodama N,
Over-adduction of the Unaffected Vocal Fold during Phonation in the Unilaterally Paralyzed Larynx. *Acta Otolaryngol*.134(7):744-752;2014.
6. Yumoto E, Sanuki T, Minoda R, Kumai Y, Nishimoto K, Kodama N.
Over-adduction of the Unaffected Vocal Fold during Phonation in the Unilaterally Paralyzed Larynx. *Acta Otolaryngol*. 134(7):744-752;2014
7. Hassan MM, Yumoto E, Sanuki T, Kumai Y, Kodama N, Ali Baraka M, Wahba H, Hafez NG, El-Adawy AAN.
Arytenoid Adduction With Nerve-Muscle Pedicle Transfer vs Arytenoid Adduction With and Without Type I Thyroplasty in Paralytic Dysphonia. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*. 140(9):833-839;2014
8. Nishimoto K, Kumai Y, Yumoto E,
Paradoxical movement of rat vocal folds following recurrent laryngeal nerve injury. *Acta Otolaryngol*. 34(11):1164-1171;2014
9. Kodama N, Sanuki T, Kumai Y, Yumoto E
Long-term vocal outcomes of refined nerve-muscle pedicle flap implantation combined with arytenoid adduction. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 272(3):681-688;2015
10. Sanuki T, Yumoto E, Nishimoto K, Kodama N, Kodama H, Minoda R.
Laryngeal Reinnervation Featuring Refined Nerve-Muscle Pedicle Implantation Evaluated via Electromyography and Use of Coronal Images. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 152(4):697-705;2015
11. Kodama H, Kumai Y, Nishimoto K, Sanuki T, Yumoto E.
Modulation of satellite cells activity and MyoD in rat thyroarytenoid muscle after reinnervation. *Laryngoscope*. 125(7):E245-51;2015
12. 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.
13. 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
14. 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.

〔学会発表〕(計 44 件)

1. Nisimoto K, Kumai Y, Yumoto E
Paradoxical Movement of Rat Vocal Fold Following Recurrent Laryngeal Nerve Injury.
The American Broncho-Esophagological Association.
2013.4.10-11. オラント[®] (米国)
2. Kumai Y, Samejima Y, Matsubara K, Kamenosono Y, Yumoto E
Videofluoroscopic Evaluation in Pharyngeal Swallowing Dysfunction after Esophagectomy with three-field lymph node dissection.
The American Broncho-Esophagological Association.
2013.4.10-11. オラント[®] (米国)
3. Sanuki T, Yumoto E, Kumai Y, Aoyama T, Nishimoto K, Kodama N
Electromyography findings in nerve-muscle pedicle implantation with arytenoid adduction for unilateral vocal fold paralysis.
The American Broncho-Esophagological Association. 2013.4.10-11 オラント[®] (米国)
4. Matsubara K, Kumai Y, Samejima Y, Yumoto E
Swallowing Pressure of Normal Subjects Measured by High Resolution Manometry with a Catheter of 2.64mm Diameter
American Laryngological Association
2013.4.10-11. オラント[®] (米国)
5. Yumoto E, Sanuki T, Kumai Y, Nishimoto K
Does Over-Adduction of the Healthy Vocal Fold Really Compensate Vocal Function in Patients with Unilateral Vocal Fold Paralysis?
Triological Society 116TH Annual Meeting. 2013.4.12-13 オラント[®] (米国)
6. 讃岐徹治, 湯本英二、喉頭筋電図を用いた神経過誤支配の検討
第114回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 2013.5.15-18. 札幌
7. 西本康兵, 熊井良彦, 湯本英二
Caチャンネル拮抗剤が甲状披裂筋の神経再支配に及ぼす効果
第114回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 2013.5.15-18. 札幌
8. Yumoto E, Laryngeal Reinnervation in the Treatment of Unilateral Vocal Fold Paralysis.
20th World Congress of the International Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (IFOS). 2013.6.1-5. 韓国
9. Yumoto E, Three-Dimensional Endoscopic Images of Vocal Fold Paralysis by Computed Tomography.
20th World Congress of the International Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (IFOS). 2013.6.1-5. 韓国
10. Kodama H, Kumai Y, Nishimoto K, Yumoto E
Modulation of Satellite Cells in Rat Thyroarytenoid Muscle Following Denervation and Immediate Reconstruction of Recurrent Laryngeal Nerve.
20th World Congress of the International Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (IFOS). 2013.6.1-5. 韓国
11. Yumoto E, Kodama N, Nishimoto K, Sanuki T. Effect of Immediate Reconstruction of the Recurrent Laryngeal Nerve on Three-Dimensional Configuration of the Vocal Folds During Phonation.
29th World Congress of the IALP.
2013.8.25-29 トリ (イタリア)
12. Kodama N, Sanuki T, Yumoto E
Long-term vocal outcomes of Nerve-muscle pedicle flap implantation combined with arytenoid adduction for unilateral vocal fold paralysis.
29th World Congress of the IALP.
2013.8.25-29 トリ (イタリア)
13. 鮫島靖浩, 増田聖子, 湯本英二
嚥下後の咽頭残留に関する定量的検討-特発性喉頭麻痺と反回神経単独麻痺との比較-
第26回日本口腔・咽頭科学会総会・学術講演会. 2013.9.12-13 名古屋
14. Sanuki T, Yumoto E, Kumai Y, Nishimoto K
Laryngeal Muscle Activity in Unilateral Vocal Fold Paralysis Patients Using Electromyography and Coronal Reconstructed Images
American Academy of otalaryngology-Head and Neck Surgery Foundation (AAO-HNSF) Annual Meeting & OTO EXPO
2013.9.29-10.2 バンクーバー (カナダ)
15. Yumoto E, Sanuki T, Kumai Y, Nishimoto K, Kodama N
Implantation of Contralaterally Harvested Nerve-Muscle Pedicle Flap Combined with Arytenoid Adduction for Paralytic Dysphonia. American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery Foundation (AAO-HNSF) Annual Meeting & OTO EXPO
2013.9.29-10.2 バンクーバー (カナダ)
16. 兒玉成博, 讃岐徹治, 湯本英二
披裂軟骨内転術と神経筋弁移植術併用例に対する発声機能と声の自覚評価の検討
第58回日本音声言語医学会総会・学術講演会 2013.10.17-18 高知

17. 熊井良彦、兒玉成博、讃岐徹治、湯本英二
一側反回神経合併切除症例に対する一期的神経再建術の経時的術後ストロボ所見の変化
第 65 日本気管食道科学会総会・学術講演会 2013.10.31-11.1 東京
18. 兒玉晴香、熊井良彦・西本康兵・湯本英二
反回神経切断再建後の甲状披裂筋内の筋衛星細胞の動態
第 65 日本気管食道科学会総会・学術講演会 2013.10.31-11.1 東京
19. 西本康兵、熊井良彦、湯本英二
ラットをもちいた反回神経傷害後の共同運動モデルの作製
第 65 日本気管食道科学会総会・学術講演会 2013.10.31-11.1 東京
20. Yumoto E, Sanuki T, Nishimoto K, Kodama N
Implantation of contralaterally harvested nervemuscle pedicle flap combined with arytenoid adduction for paralytic dysphonia.
The 12th Taiwan-Japan Conference on Otolaryngology Head and Neck Surgery 2013.12.5-12.7 台湾
21. 熊井良彦、鮫島靖浩、兒玉成博、湯本英二
混合性喉頭麻痺における咽頭残留の定量的検討
第 26 回日本喉頭科学会総会・学術講演会 2014.3.6-7 沖縄
22. 兒玉成博、讃岐徹治、湯本英二
披裂軟骨内転術単独と神経筋移植術併用における声の自覚評価と発声機能の比較検討
第 26 回日本喉頭科学会総会・学術講演会 2014.3.6-7 沖縄
23. Kodama H, Kumai Y, Nishimoto K, Yumoto E. Modulation of MyoD-positive satellite cells and myocytes following recurrent laryngeal nerve regeneration.
18th World Congress for Bronchoesophagology(WCBE 2014) 2014.4.13-16 京都
24. Masuda M, Yumoto E, Airway management of midline fixation of the bilateral vocal folds. 18th World Congress for Bronchoesophagology(WCBE 2014) 2014.4.13-16 京都
25. Kumai Y, Samejima Y, Yumoto E. Postdeglutitive residue in associated unilateral laryngeal paralysis vs recurrent laryngeal paralysis. 18th World Congress for Bronchoesophagology(WCBE 2014) 2014.4.13-16 京都
26. Kumai Y, Samejima Y, Kamenosono Y, Kodama N, Yumoto E. Postdeglutitive Residue in Associated Laryngeal Paralysis vs. Unilateral Vocal Fold Paralysis Alone. The American Broncho-Esophagological Association. 2014.5.14-15 ラスベガス(米国)
27. Kumai Y, Kodama H, Nishimoto K, Yumoto E
Modulation of MyoD-Positive Muscle Satellite Cells and Myocytes in Rat Thyroarytenoid Muscle Following Recurrent Laryngeal Nerve Regeneration. Strategic Directions in Laryngeal Tissue Regeneration 2014.7.10 (マニラ) 米国
28. Yumoto E, Nerve-Muscle Pedicle Flap Implantation Combined with Arytenoid Adduction Aiming to Recover Normal Voice. 13th Biennial Phonosurgery Symposium. 2014.7.11-12 (マニラ) 米国
29. Sanuki T, Yumoto E, Nishimoto K, Kodama H, Minoda R. Laryngeal Reinnervation with Refined Nerve-Muscle Pedicle Implantation Using Electromyography and Coronal Reconstructed Images. American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery Foundation (AAO-HNSF) Annual Meeting & OTO EXPO. 2014.9.21-24 オランダ(米国)
30. Kodama N, Sanuki T, Kumai Y, Toya Y, Yumoto E. Vocal outcomes following nerve muscle pedicle flap implantation vs medialization procedures in combination with arytenoid adduction for unilateral vocal fold paralysis. The 9th East Asian Conference on Phonosurgery. 2014.11.29-30 台湾
31. Sanuki T, Yumoto E, Toya Y, Kodama N, Kodama H, Minoda R. Laryngeal re-innervation featuring refined nerve-muscle pedicle flap implantation evaluated via electromyography and use of coronal images. The 9th East Asian Conference on Phonosurgery. 2014.11.29-30 台湾
32. Yumoto E, Nerve Muscle Pedicle Flap with Arytenoid Adduction for Unilateral Vocal Fold Paralysis. 13th Asia-Oceania ORL-HNS Congress. 2015.3.19-22 台湾
33. 兒玉晴香、熊井良彦、西本康兵、湯本英二
反回神経切断再建後の甲状披裂筋内の MyoD 陽性筋衛星細胞および MyoD 陽性筋細胞核の動態
第 115 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 2014.5.14-17 福岡
34. 讃岐徹治、湯本英二、西本康兵
単極有鉤電極による喉頭筋電図と MPR 冠状断 CT を用いた麻痺喉頭の形態変化の検討

- 第 115 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 2014.5.14-17 福岡
35. 児玉晴香、熊井良彦、西本康兵、湯本英二
反回神経切断・縫合処置後の MyoD 陽性細胞の動態
第 29 回九州連合地方部会学術講演会 2014.7.12-13 鹿児島
36. 児玉成博、讃岐徹治、湯本英二
披裂軟骨内転術の併用術式別（神経筋弁移植術と甲状軟骨形成術 型または声帯内注入術）の発声機能の比較
第 59 回日本音声言語医学会総会・学術講演会 2014.10.9-10 福岡
37. 増田聖子、鮫島靖浩、湯本英二
手術と嚥下訓練により普通食摂取が可能となった外傷性多発脳神経麻痺による嚥下障害例
第 25 回日本頭頸部外科学会総会ならびに学術講演会 2015.1.29-30 大阪
38. 児玉成博、讃岐徹治、湯本英二
神経筋弁移植術と甲状軟骨形成術 I 型の喉頭ストロボスコープを用いた声帯振動の比較
第 27 回日本喉頭科学会総会・学術講演会 2015.4.9-10 東京
39. Kumai Y, Kodama N, Murakami D, Yumoto E. Comparison Of Vocal Outcome Following Two Different Procedures For Immediate Recurrent Laryngeal Nerve Reconstruction. American laryngological Association. 2015.4.22-26 ボストン（米国）
40. 児玉成博、讃岐徹治、湯本英二
一側声帯麻痺の音声改善術後例に対する Vocal Function Exercise の効果
第 16 回日本言語聴覚学会 2015.6.26-27 仙台
41. 湯本英二、東家完、讃岐徹治
食道癌術後の一側声帯麻痺に対する音声外科
第 26 回日本頭頸部外科学会総会・学術講演会 2016.1.28-29 名古屋
42. 湯本英二、東家完、讃岐徹治、児玉成博
対側から採取した神経筋弁を用いた音声改善手術
第 28 回日本喉頭科学会総会・学術講演会 2016.3.3-4 大阪
43. 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
44. 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

〔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 頭頸部外科・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

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

西本康兵 (NISHIMOTO, Kohei)

熊本大学医学部附属病院

耳鼻咽喉科 頭頸部外科・医員

研究者番号：60535590

(4) 研究協力者

なし