

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

日本気管食道科学会会報 (2003.08) 54巻4号:270～276.

脱神経後の内喉頭筋萎縮に対する機能的電気刺激の効果

片田彰博, 野中聡, 国部勇, 安達正明, 執行寛, 今田正信,
林達哉, 原渕保明

脱神経後の内喉頭筋萎縮に対する機能的電気刺激の効果

The effects of functional electrical stimulation on intrinsic laryngeal muscle atrophy after denervation.

片田彰博、野中 聡、国部 勇、安達正明、執行 寛、今田正信、林 達哉、原淵保明

Akihiro Katada, M.D., Satoshi Nonaka, M.D., Isamu Kunibe, M.D., Masaaki Adachi, M.D., Hiroshi Sigyou, M.D., Masanobu Imada, M.D., Tatsuya Hayashi, M.D. and Yasuaki Harabuchi, M.D.

旭川医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科

Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery,
Asahikawa Medical College.

別刷請求先

〒078-8510

旭川市緑が丘東 2 条 1 丁目 1-1

旭川医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科

片田彰博

電話:0166-68-2554

FAX:0166-68-2559

原稿枚数:

図表枚数:

和文要旨

本研究では、機能的電気刺激が反回神経麻痺による内喉頭筋萎縮を抑制することができるかどうか検討した。

実験には 18 頭の成ラットを用いた。左の反回神経を切除した後に、麻痺している左甲状披裂筋に刺激電極を留置した。振幅 2mA、持続時間 0.2ms、頻度 2Hz の機能的電気刺激を 1 時間、1 日おきに加えた。観察期間終了後、厚さ 8 μ m の喉頭前額断切片を作成した。機能的電気刺激の有無による脱神経後の筋断面積、筋線維断面積、および筋線維密度の違いについて解析した。

機能的電気刺激を加えなかった動物群においては、脱神経後の萎縮性変化が観察され筋および筋線維断面積が減少し、筋線維密度が増加した。機能的電気刺激を加えた動物においても、切断後 2 週目までは同様の萎縮性変化が観察された。しかし、切断後 6-8 週目では筋および筋線維断面積、筋線維密度は健側と同様の状態に回復していた。

本研究の結果から、機能的電気刺激は麻痺している内喉頭筋に生じる萎縮性変化を抑制することが明らかとなった。このことは、機能的電気刺激が反回神経麻痺により生じる喉頭機能の障害を軽減する可能性を示唆している。

英文抄録

The effects of functional electrical stimulation on intrinsic laryngeal muscle atrophy after denervation.

Akihiro Katada, M.D., Satoshi Nonaka, M.D., Isamu Kunibe, M.D., Masaaki Adachi, M.D., Hiroshi Sigyou, M.D., Masanobu Imada, M.D., Tatsuya Hayashi, M.D. and Yasuaki Harabuchi, M.D.

Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery,
Asahikawa Medical College.

In this study, we estimated whether the functional electrical stimulation (FES) was able to prevent atrophy of intrinsic laryngeal muscle caused by the denervation of recurrent laryngeal nerve (RLN).

We used 18 adult rats for this study. After resection of left RLN, a pair of stimulation electrodes were placed in the left paralyzed thyroarytenoid (TA) muscle. FES, which parameters were 2 mA rectangular pulses of 0.2 ms duration of a frequency of 2 Hz lasting for 1 hour, was delivered to the paralyzed TA muscle once a 2 days. After the observation periods, frontal sections 8 μm in thickness of larynx were prepared. We analyzed the differences in area of the TA muscle, area of the TA muscle fiber and density of the TA muscle fiber after denervation with or without FES.

In the animals without FES, decrease of area of the TA muscle and muscle fiber and increase of density of the TA muscle fiber were observed as denervative

muscle atrophy. In the animals with FES, the same changes were observed until the period of 2 weeks after resection of recurrent laryngeal nerve. However, area of the TA muscle, area of the TA muscle fiber and density the TA muscle fiber were recovered and reached to the same levels of intact side after the period of 6–8 weeks in the animals with FES.

From the results of this study, we confirmed that the FES prevented atrophy of the paralyzed intrinsic laryngeal muscle. These results suggested the possibility that FES reduced the impairment of laryngeal function induced by the recurrent laryngeal nerve palsy.

key word:

機能的電気刺激 (functional electrical stimulation)、反回神経麻痺 (recurrent laryngeal nerve palsy)、脱神経 (denervation)、筋萎縮 (muscle atrophy)、ラット (rat)

はじめに

喉頭は呼吸、気道反射、嚥下、発声などの多彩な機能に関与する器官である。特に、ヒトは音声をコミュニケーションの主体とするため、喉頭麻痺による発声機能の障害は、患者の QOL を低下させる大きな要因の一つと考えられる。喉頭麻痺による発声機能障害の原因としては、声帯運動障害と筋萎縮による声帯のボリュームの低下が考えられる。よって、喉頭麻痺による発声機能障害の改善には、甲状軟骨形成術に代表される固定した声帯を他動的に移動させる方法や、声帯のボリュームを増加させるコラーゲンや脂肪の注入などが検討されてきた。

近年、脱神経により麻痺した筋に微小電気刺激を加えることで正常に近い筋収縮を誘発し、失われた運動機能の回復を図る機能的電気刺激が注目されており、脳梗塞や脊髄損傷後の運動機能の回復に応用されつつある。また耳鼻咽喉科領域では、麻痺した声門開大筋に機能的電気刺激を加えることで両側反回神経麻痺後の呼吸機能の回復が検討されている[1] [2] [3]。

さらに機能的電気刺激に関しては、麻痺している骨格筋に刺激を長期間加えることが、運動機能の回復をさせるばかりではなく、脱神経後に生じる筋の萎縮性変化を抑制する効果を持つことも確認されている[4] [5] [6]。これらの実験事実は、麻痺している声門閉鎖筋に機能的電気刺激を効果的に加えることができれば、声帯の内転運動を回復させるばかりではなく、筋萎縮に伴う声帯のボリュームの低下を軽減することが可能であることを示唆している。言い換えれば、機能的電気刺激が喉頭麻痺による発声機能障害の改善に有効な治療法となり得ることを意味している。

本研究ではこれらの可能性を実験的に証明するために、反回神経を切除したラット

の甲状披裂筋に機能的電気刺激を長期間加え、脱神経後に生じる声門閉鎖筋の萎縮性変化を抑制することが可能であるか否かについて検討した。

材料・方法

実験には、成ラット(Sprague-Dawley rat、250～300 g)を18頭用いた。ラットは、ハロセン・笑気ガス麻酔下に前頸部を舌骨から胸骨まで切開し喉頭および気管を露出した。気管左側で左反回神経を同定した。左反回神経を喉頭入口部から中枢側に向かって約10mm切除した後、再吻合を防ぐために中枢側断端を折り曲げて絹糸で結紮した。左甲状披裂筋に刺激電極として $\phi 50 \mu\text{m}$ のステンレスワイヤー電極を2本留置した。機能的電気刺激は電極留置後2日目からガス麻酔下に、振幅2mA、持続時間0.2ms、頻度2Hzの電気刺激を1時間、1日おきに加えた。電気刺激中には内視鏡を用いて、麻痺している左声帯に内転運動が誘発されていることを直接的に確認した。動物を非刺激群と刺激群にわけ、非刺激群の動物には実際の電気刺激を除いた、前述のすべての操作を加えた。刺激開始からそれぞれ2、4、6、8週目の時点で、ペントバルビタール深麻酔下に喉頭を摘出した。摘出喉頭は急速に凍結した後、甲状披裂筋の筋線維にほぼ直行する前額断方向で、厚さ $8 \mu\text{m}$ の切片を作成した。ヘマトキシリン・エオジン染色をおこない、光学顕微鏡で観察した。同一個体の右側(健側)甲状披裂筋を基準として、脱神経後の筋断面積、筋線維断面積、および筋線維密度の変化を解析した。これらの解析には、画像解析ソフト(NIH image, USA)を用いた。得られた結果を非刺激群と刺激群の間で比較検討した。

結果

1. 筋断面積の変化

非刺激群においては、左甲状披裂筋に筋断面積の減少が認められた。反回神経切除から2週後で健側の約70%に、4～6週後では50～60%になり、それ以後はあまり変化が認められなかった。一方反回神経切除後に機能的電気刺激を加えた群でも、刺激開始より2週後までは非刺激群と同様に筋断面積の減少が観察された。しかし、それ以後に断面積の減少は進行せず徐々に増加して、刺激開始から6～8週の時点では、健側とほぼ同等の値を示した(図1, 4)。

2. 筋線維断面積の変化

非刺激群では、筋線維が類円形に変化し、筋線維断面積が減少して、筋線維間の結合織の増生が認められた。筋線維断面積は反回神経切除から2週後では健側の約40～60%に減少し、4～6週後では40～50%になりそれ以降はあまり変化しなかった(図2, 4)。一方、反回神経切除後に機能的電気刺激を加えた群でも、刺激開始より、2週後の時点では非刺激群と同様に左甲状披裂筋の断面積の減少が観察された。しかし、その程度は機能的電気刺激を加えなかったものと比べて軽度であり、刺激開始から6週後では健側とほぼ同等の筋線維断面積が維持されていた(図3, 4)。

3. 筋線維密度の変化

非刺激群では、筋線維間の結合織の増生が認められたが、単位面積あたりの筋線維の本数も筋線維断面積の減少にともなって増加しており、結果的に筋線維の密度は増加する傾向が認められた。この傾向は4～6週でピークとなってその後徐々に低下する傾向が認められた(図2, 4)。機能的電気刺激を加えた場合では、刺激開始よ

り4週以降では健側とほぼ同等の密度が維持されていた(図3, 4)。

考察

両側反回神経麻痺よりも頻度の高い一側性の反回神経麻痺では、呼吸障害のような生命維持に直結する症状は出現しないものの、患者の QOL に関連した発声機能障害が問題となる。一側の反回神経麻痺による発声機能障害は、声帯の運動障害と筋萎縮による声帯のボリュームの低下に起因する。声帯の運動障害は反回神経障害直後より生じ、声帯固定の位置によって発声機能障害の程度は異なるが、その後反回神経障害に併発する内喉頭筋萎縮によって声帯ボリュームの低下が生じるために、発声機能はさらに悪化することが多い。よって従来の一側性反回神経麻痺による発声機能障害の治療としては、声帯の固定している位置を他動的に変える方法と、コラーゲン、自家脂肪、筋膜などを用いて低下した声帯のボリュームを補う方法が主体となってきた。また、切断された反回神経を神経縫合することにより筋萎縮が軽減される傾向は臨床的に観察されるが、その効果は一定ではない。

近年、様々な神経の障害による機能障害に対して、機能的電気刺激を用いた機能回復の試みが注目されている。耳鼻咽喉科領域での機能的電気刺激を用いた機能回復の手法としては、聴覚機能を回復させる人工内耳がすでに一般的な手技として確立している。さらに、機能的電気刺激は感覚機能補助のみならず、運動機能補助に関しても応用され、耳鼻咽喉科領域では、顔面神経麻痺や反回神経麻痺に対する運動機能回復への応用が検討されている。最近では、両側反回神経麻痺によって呼吸障害を起こした患者の声門開大筋に機能的電気刺激を加えることで、声門を人為的

に開大させ、気管孔の閉鎖が可能となった症例の報告などもある[1] [3]。また、機能的電気刺激は、失われた運動機能を回復させるだけでなく、脱神経により生じる筋の萎縮性変化を抑制することが、四肢の骨格筋において確認されている[4] [5] [6]。脱神経後の声門閉鎖筋に電気刺激を加えることによって、声帯の内転運動を誘発し発声機能を改善することも重要ではあるが、我々はむしろ、機能的電気刺激による筋萎縮抑制効果に注目し、実験動物を用いて機能的電気刺激が反回神経麻痺後の甲状披裂筋に生じる萎縮性変化を抑制することができるのか検討した。

反回神経麻痺による内喉頭筋の萎縮性変化については、すでに詳細な検討がなされている[7, 8]。イヌをもちいた検討では、反回神経を完全に切除した場合、神経麻痺による筋の萎縮は初期に急速で、筋重量は3ヶ月後で約50%に減少し、その後は筋の重量の減少がやや緩慢になるものの、筋線維が漸次消失し、結合織に置換されることが確認されている[7]。我々のラットにおける結果も同様であり、非刺激群の動物では反回神経切除から4週目までは急速に筋断面積および筋線維断面積が減少し、その後それらの変化はやや緩慢となっていた。それに対して、刺激群の動物においては、切断後2週間の時点までは筋断面積および筋線維断面積の減少が観察されるものの、それ以降では筋断面積および筋線維断面積が回復する傾向に向かい、刺激開始から6-8週の時点では、健側とほぼ同等の筋断面積および筋線維断面積を示す動物もあり、機能的電気刺激による明らかな萎縮性変化の抑制が観察された。

反回神経を切除した直後から刺激を開始しても、筋断面積および筋線維断面積は一度減少に向かい、その後回復する傾向が認められた。この変化は、神経を一度切断し縫合した場合の結果[7]とよく似た傾向といえる。我々が観察した期間では、非刺

激群の動物には回復傾向が認められなかったことより、この時期で神経再支配がおり萎縮性変化を抑制したものとは考えにくい。また、機能的電気刺激に脱神経後の再支配を促進する作用があるかどうかについても、未だ議論のあるところである[9, 10]。喉頭は上喉頭神経と反回神経(下喉頭神経)が吻合を形成しており、この解剖学的な特殊性が神経の再支配にどのように影響しているのか、あるいは上喉頭神経が保存されていることが機能的電気刺激の筋萎縮抑制効果にどのように影響しているのかなどについても不明な点が多く、今後さらなる検討が必要と考えられた。

近年の分子生物学的手法の進歩により、遺伝子導入や神経栄養因子投与などの方法が反回神経の神経再生に応用される可能性が検討され始めている。しかし神経が再生した時点で効果器である筋が著しく萎縮していれば、神経再生による機能回復の効果には限界があることは容易に推察される。本研究では、機能的電気刺激を用いることで比較的容易に脱神経後の内喉頭筋萎縮を抑制できる可能性が示された。よって、機能的電気刺激を神経再生が完了するまでの中継ぎ的な治療として応用することで、神経再生による機能回復の効果をより大きなものにすることが期待できる。今後のさらなる基礎的な実験データの蓄積によって、神経再生と機能的電気刺激を有効に組み合わせることができれば、脱神経後の麻痺している内喉頭筋が正常に近い形態を保ちつつ、機能を回復させることのできる新しい治療法となる可能性があると考えられた。

まとめ

1. 反回神経を切除したラットの甲状披裂筋に機能的電気刺激を長期間加え、脱神経後に生じる声門閉鎖筋の萎縮性変化を抑制することが可能であるか検討した。

2. 機能的電気刺激によって、脱神経後に生じる筋および筋線維断面積の減少と筋線維密度の増加が抑制された。

3. 機能的電気刺激は、脱神経により生じる声帯質量の低下を軽減させることができ、反回神経麻痺後の発声機能障害に対する治療法の一つとなる可能性があると考えられた。

本論文の要旨は、第54回日本気管食道科学会総会(大阪)にて口演した。

文献

- 1) Zealear, D.L., Rainey, C.L., Herzon, G.D., et al. : Electrical pacing of the paralyzed human larynx. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 105: 689-693, 1996.
- 2) Zealear, D.L., Swelstad, M.R., Sant'Anna, G.D., et al. : Determination of the optimal conditions for laryngeal pacing with the Itrel II implantable stimulator. *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 125: 183-192, 2001.
- 3) Billante, C.R., Zealear, D.L., Courey, M.S., et al. : Effect of chronic electrical stimulation of laryngeal muscle on voice. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 111: 328-332, 2002.
- 4) Kidd, G.L. : Electrical stimulation for disuse muscle atrophy. *Lancet.*, 2: 1025, 1988.
- 5) Qin, L., Appell, H.J., Chan, K.M., et al. : Electrical stimulation prevents immobilization atrophy in skeletal muscle of rabbits. *Archives of Physical Medicine & Rehabilitation.*, 78: 512-517, 1997.
- 6) Baldi, J.C., Jackson, R.D., Moraille, R., et al. : Muscle atrophy is prevented in patients with acute spinal cord injury using functional electrical stimulation. *Spinal Cord.*, 36: 463-469, 1998.
- 7) 永嶋俊郎: 反回神経麻痺に関する実験的研究, 特に内喉頭筋の変化について. *耳鼻.16, 補冊 2:124-149, 1970.*
- 8) Zealear, D.L., Hamdan, A.L., and Rainey, C.L. : Effects of denervation on posterior cricoarytenoid muscle physiology and histochemistry. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 103: 780-788, 1994.
- 9) Zealear, D.L., Billante, C.L., Chongkolwatana, C., et al. : The effects of

chronic electrical stimulation on laryngeal muscle reinnervation. ORL J. Otorhinolaryngol. Relat. Spec. 62: 87–95, 2000.

10) Zealear, D.L., Rodriguez, R.J., Kenny, T., et al. : Electrical stimulation of a denervated muscle promotes selective reinnervation by native over foreign motoneurons. J. Neurophysiol., 87: 2195–2199, 2002.

図説

Fig. 1

Low magnified microscopic findings for the thyroarytenoid (TA) muscle after resection of left recurrent laryngeal nerve (RLN). A: Changes in the TA muscle without functional electrical stimulation (FES). Area of the left thyroarytenoid muscle gradually decreased. B: Changes in the TA muscle with FES. Area of the left TA muscle decreased at 2 weeks after RLN resection. However, area of the left TA muscle recovered at 6 weeks after RLN resection. (H-E stain, solid line indicates 500 μm)

Fig. 2

High magnified microscopic findings for the TA muscle without FES. A and B indicated right (intact) side and left (denervated) side of larynx, respectively. Compared with intact side, area of the denervated TA muscle fiber gradually decreased and density of the denervated TA muscle fiber gradually increased. (H-E stain, solid line indicates 50 μm)

Fig. 3

High magnified microscopic findings for the TA muscle with FES. A and B indicated right (intact) side and left (denervated) side, respectively. Compared with intact side, area of the denervated TA muscle fiber gradually decreased and density of the denervated TA muscle fiber gradually increased at the period of 2 weeks after stimulation. However, area of the TA muscle fiber and density the TA muscle fiber were recovered and reached to the same levels of intact side at the period of 6 weeks after stimulation. (H-E stain, solid line indicates 50 μm)

Fig. 4

Changes in area of the TA muscle (A), area of the TA muscle fiber (B) and density of the TA muscle fiber (C). The data were indicated the percentage of the left (denervated) side for the right (intact) side. Filled circle and open circle indicated data of the muscle with FES and without FES, respectively.

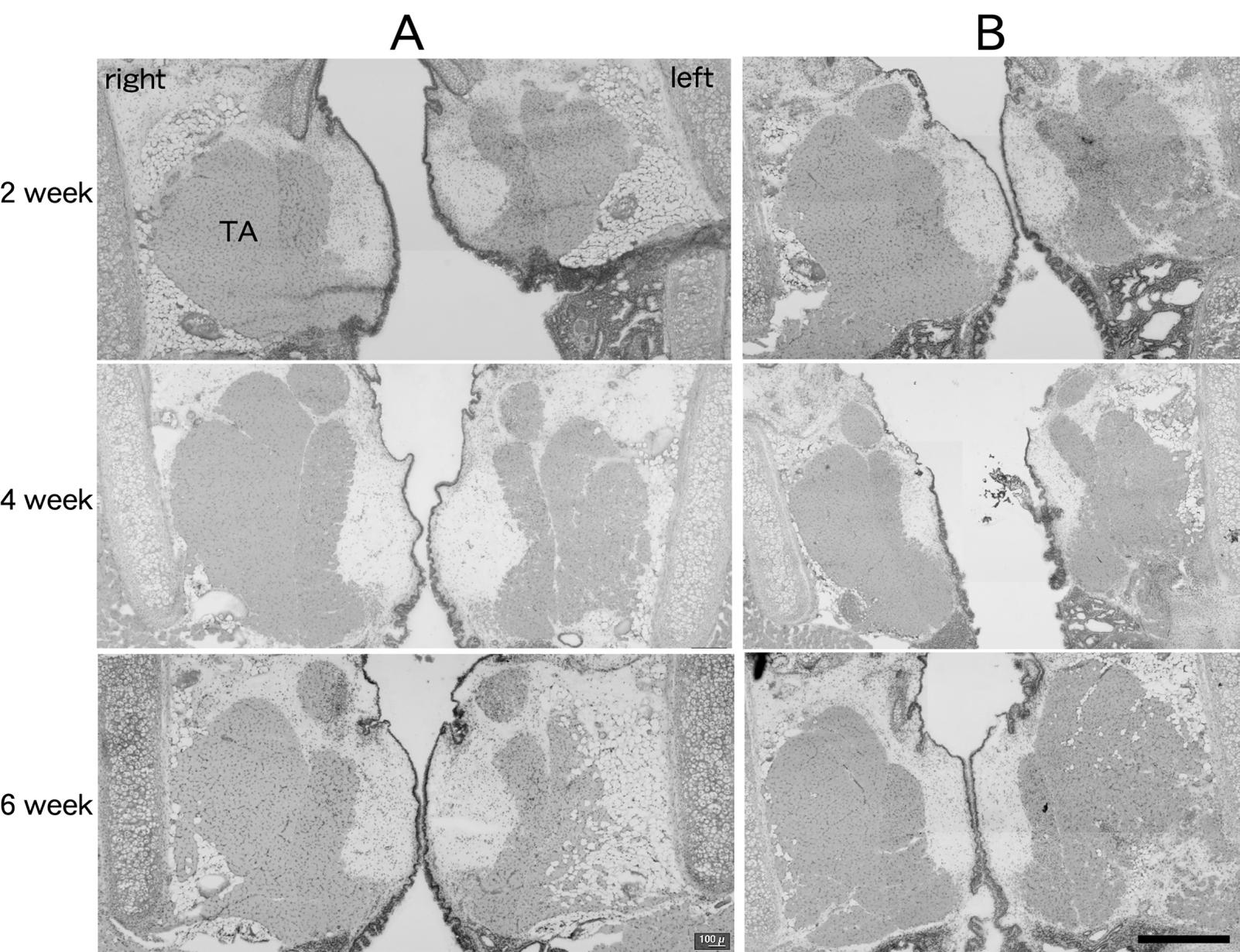


Fig. 1

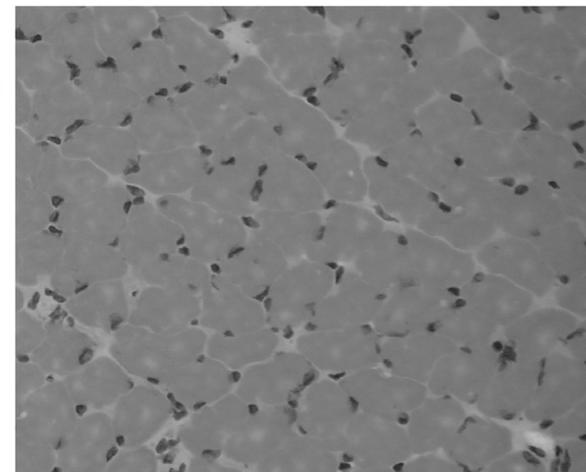
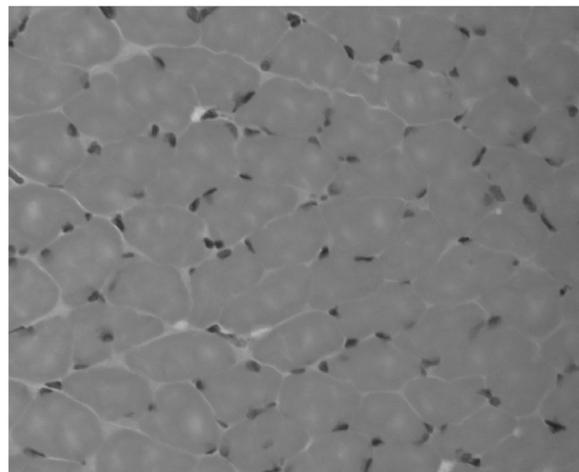
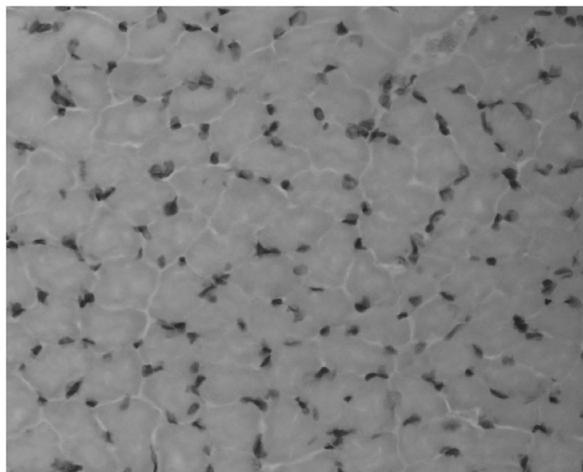
FES (-)

2 week

4 week

6 week

A
(right)



B
(left)

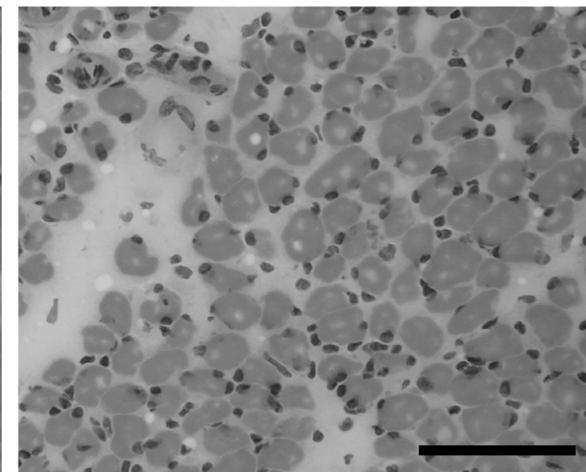
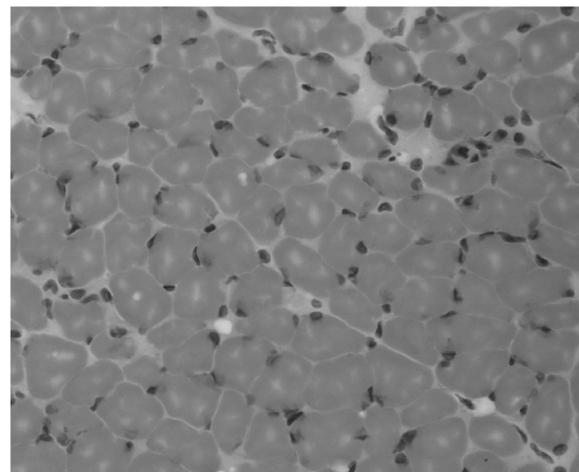
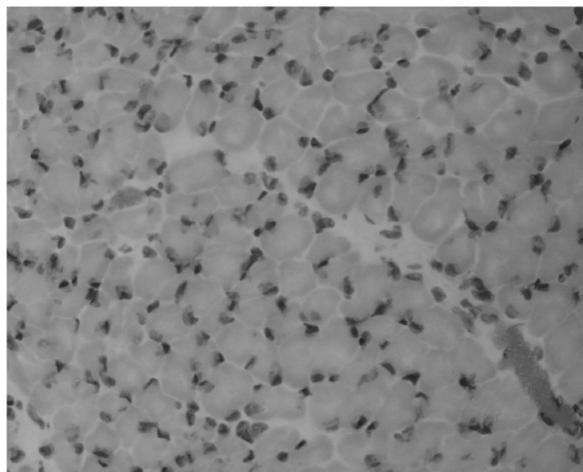


Fig. 2

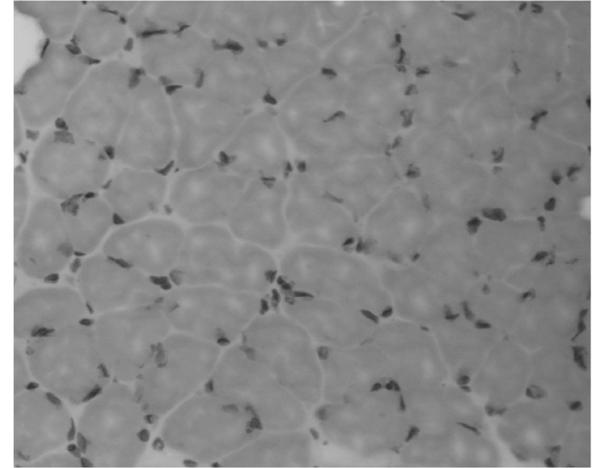
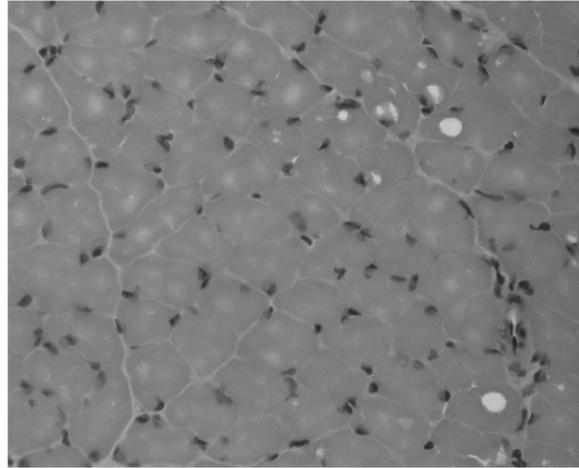
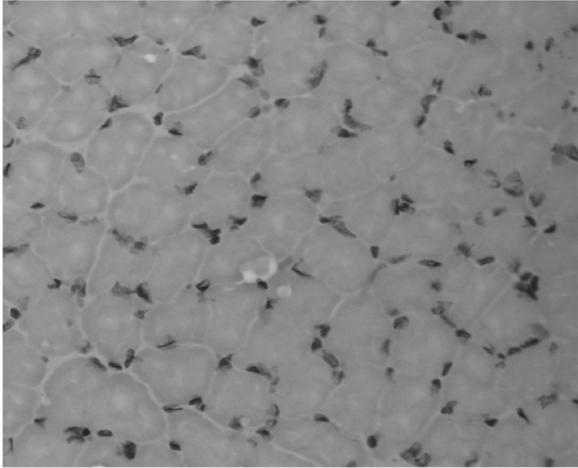
FES (+)

2 week

4 week

6 week

A
(right)



B
(left)

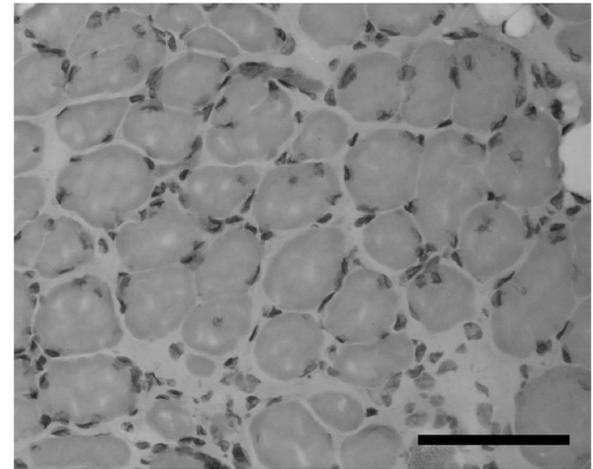
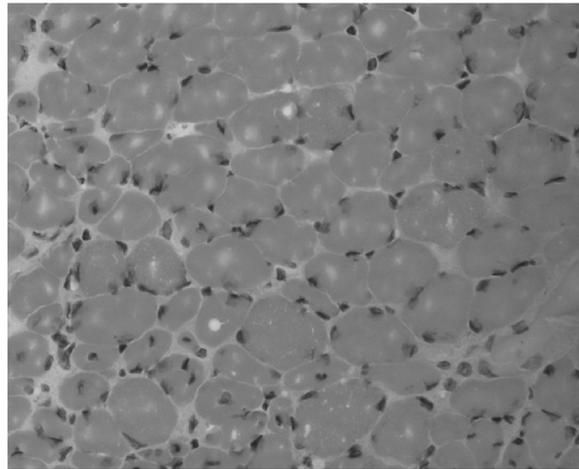
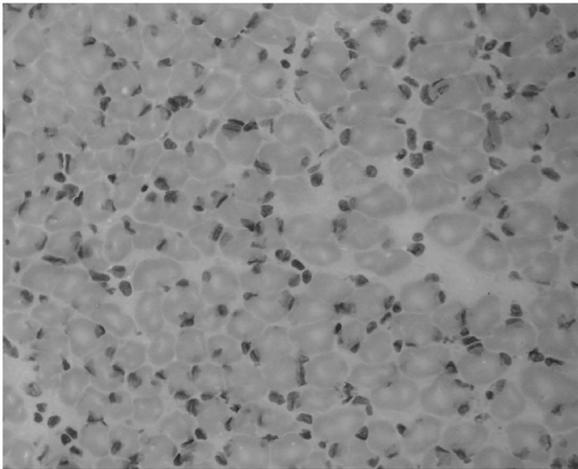


Fig. 3

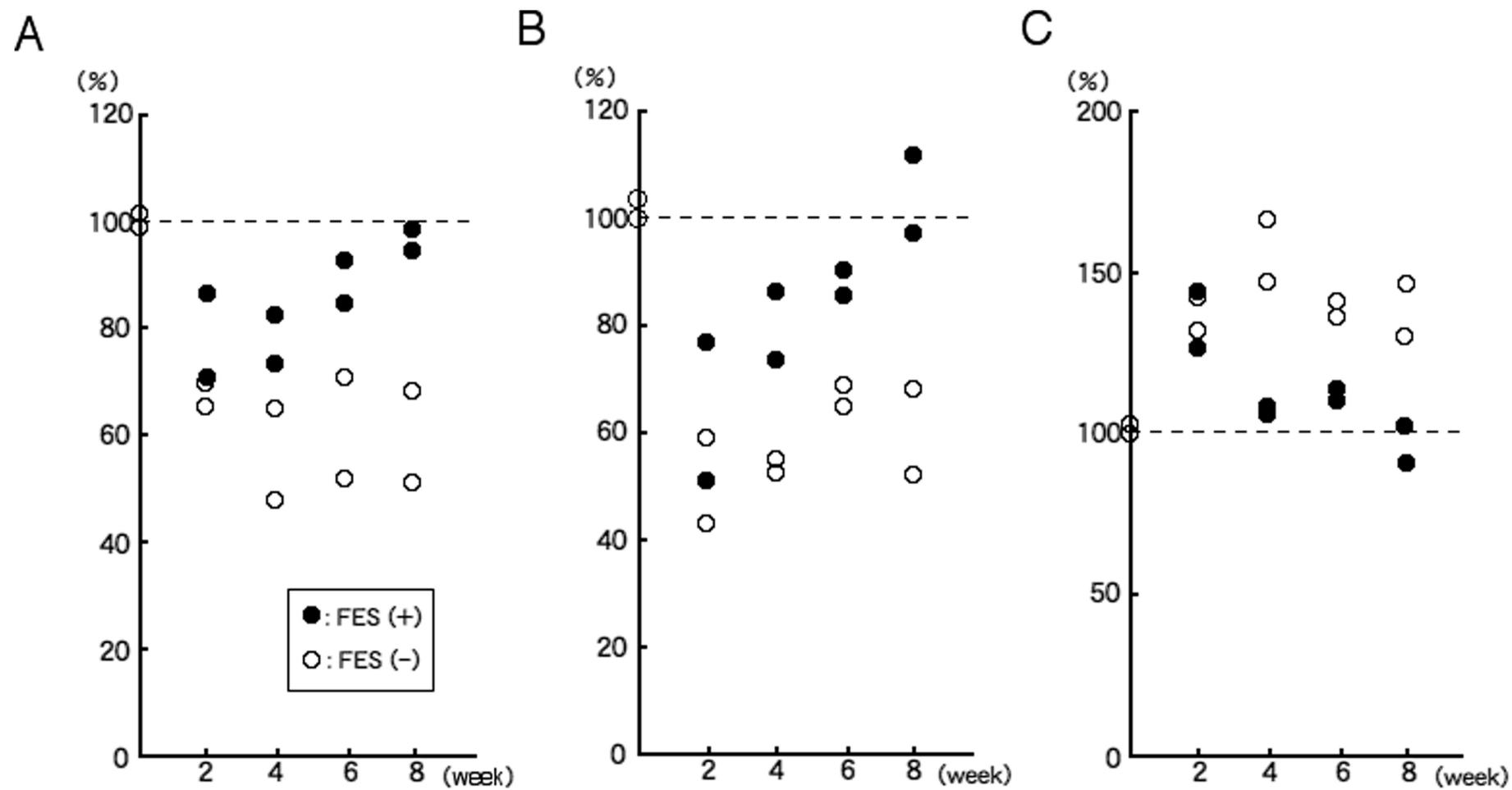


Fig. 4