

平成21年 3月31日現在

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19591976  
 研究課題名（和文） 徐放化神経栄養因子を用いた顔面病的共同運動の治療法開発  
 研究課題名（英文） Treatment of facial nerve synkinesis by basic fibroblast growth factor impregnated in a biodegradable hydrogel

## 研究代表者

羽藤 直人 (HATO NAOHITO)  
 愛媛大学・医学部附属病院・准教授  
 研究者番号：60284410

研究成果の概要：圧迫障害による顔面神経麻痺後期的共同運動を発症するモルモットに対し、bFGF含有ゼラチンハイドロゲルを投与したところ、神経再生促進効果が示された。顔面神経麻痺の再生だけでなく病的共同運動に対しても有用な傾向を示しており、bFGF含有ハイドロゲルを投与することは臨床応用も可能であり、新たな治療法となりうることを示唆された。

## 交付額

(金額単位：円)

|        | 直接経費      | 間接経費      | 合計        |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 2007年度 | 1,800,000 | 540,000   | 2,340,000 |
| 2008年度 | 1,600,000 | 480,000   | 2,080,000 |
| 年度     |           |           |           |
| 年度     |           |           |           |
| 年度     |           |           |           |
| 総計     | 3,400,000 | 1,020,000 | 4,420,000 |

研究分野：医歯薬系

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：顔面神経麻痺、病的共同運動、神経過誤支配、徐放化ゼラチン、bFGF

## 1. 研究開始当初の背景

顔面神経は側頭骨内では長距離にわたり狭い骨管内を走行しているため、炎症や外傷などにより神経に障害を受けると容易に麻痺をきたす。顔面神経麻痺は、本邦では年間10万人当たり約50人が発症し、耳鼻咽喉科の日常臨床において最も頻りに遭遇する末梢神経麻痺の一つである。現在、ベル麻痺やハント症候群などの末梢性顔面神経麻痺に対しステロイド、抗ウイルス剤を中心とした薬物治療や、顔面神経減荷手術など外科的治療が行われている。しかし、これらの治療は骨管内の浮腫軽減や原因除去をねらったもので、神経再生促進効果は不明であり、完全

変性した神経に対する有効な治療法は現存しない。

病的共同運動とは一つの筋群の随意運動に伴って他の筋群が不随意に動く症状であり、顔面神経麻痺の後遺症の中でも高頻度である。ひとたび発症すると治癒は困難であり、患者は生涯その症状に悩まされる。病的共同運動の病態については従来より様々な研究が行われてきたが、その多くは側頭骨外神経の切断・吻合によるものであり、臨床的に頻度の高い側頭骨内麻痺に即したモデルとは言い難い。そこで本研究は、臨床例に近い再現性のある病的共同運動モデルを作成し、そのモデルを用いて病的共同運動の治療法を開

発することを目的とした。

## 2. 研究の目的

生体吸収性ゼラチン・ハイドロゲルを用い、bFGF を顔面神経障害部へ徐放投与することで、病的共同運動および過誤支配の予防が可能かを明らかにする。

## 3. 研究の方法

実験には8~10週齢のハートレイ系雌モルモットを用い、顔面神経麻痺はマイクロ持針器を用い神経を圧迫することで発症させた。障害の部位は側頭骨内とし、圧迫時間は10分とした。神経障害部位である側頭骨内顔面神経は減荷手術にて露出し、bFGFを徐放ゲルと共に乳突部顔面神経近傍へ投与した。10週および15週後に、以下に述べるビデオモニタリングシステムと電気生理学的検討にて病的共同運動を定量評価し、組織学的検討にて神経再生促進効果と神経過誤支配抑制効果を定量的に検討した。コントロールである無治療の共同運動発現モデルと結果を比較し、徐放化神経栄養因子を用いた病的共同運動に対する新たな治療法の確立を目指した。

### ① 顔面神経麻痺の検討

眼、鼻、口角の3部位の動きにより、顔面神経麻痺の程度と回復経過を観察した。神経障害程度を評価する目的で、軸索変性の割合を定量的に評価できるElectroneuronography (ENoG)を施行した。

### ② 病的共同運動の発症率と程度についての検討

通常眼輪筋にのみ認められるBlink Reflexを口輪筋にて測定し、病的共同運動の発症頻度を検討した。また、咀嚼運動時に病的共同運動として出現する眼裂狭小化をビデオカメラにて記録し、画像解析ソフトを用いて咀嚼運動時の眼裂面積/安静時の眼裂面積を計測することで、病的共同運動の定量的評価を行った。

## 4. 研究成果

処置後2週目におけるENoG値は全ての群で5%以下であり、圧迫により顔面神経は完全変性をきたしていた。

### 1) 顔面神経麻痺の肉眼的評価

圧迫群の麻痺スコアは、6点満点中、 $1.3 \pm 0.9$ 点、bFGF群は $1.1 \pm 0.6$ 点であった。一方、bFGF含有ハイドロゲル群は $3.1 \pm 0.8$ 点であり、有意に麻痺の早期治癒傾向を認めた。

### 2) 電気生理学的検討

神経伝達速度は圧迫群では $11.8 \pm 3.0$ m/sec、bFGF群は $11.0 \pm 2.8$ m/sec、bFGF含有ハイドロゲル群は $17.3 \pm 2.7$ m/secであった。bFGF含有ハイドロゲル群は圧迫群およびbFGF群に比べ、有意に速度が速く神

経の再生が良好であった。

### 3) 組織学的検討

神経断面トルイジンブルー染色像では、bFGF含有ハイドロゲル群は圧迫群およびbFGF群に比べ、神経線維径が太く、髄鞘化された線維が多く観察された。有髄神経線維数をカウントした結果は、圧迫群が $1832 \pm 325$ 、bFGF群が $1710 \pm 352$ に対し、bFGF含有ハイドロゲル群では $2816 \pm 694$ と、bFGF含有ハイドロゲル群は他の2群より有意に多くの有髄神経線維を認めた。

病的共同運動は顔面神経麻痺の後遺症の中でも頻度が高く、とりわけ側頭骨内病変による高度麻痺例に生ずることが多い。西村らは顔面神経麻痺の218例を検討し、病的共同運動の発症頻度は18.3%で、その内訳はHunt症候群が34.6% (26例中9例)と最も高く、Bell麻痺は18.4% (136例中25例)であったことを報告している。病的共同運動の病態については従来より様々な実験が行われてきたが、その多くは側頭骨外神経の切断・吻合を行う研究であり、臨床的に頻度の高い側頭骨内麻痺に即したモデルとは言い難い。その他にもHSV-1による麻痺モデルや冷却による麻痺モデルも報告されているが、麻痺が軽度であるため病的共同運動はほとんど発症せず、今回の研究目的には適していない。そこで本研究では、より臨床に即した再現性のある病的共同運動モデルを作成するために、側頭骨内または側頭骨外で顔面神経に圧迫障害を加えた。その結果、側頭骨内を10分圧迫すると病的共同運動の発症率は100%であり、程度も高度であった。しかし、側頭骨外の圧迫では10分圧迫でも病的共同運動は発症しなかった。神経過誤支配に関しても同様で、側頭骨内圧迫では神経過誤支配を認めたが、側頭骨外圧迫ではみられなかった。このように側頭骨内麻痺で病的共同運動が発症しやすいことが明らかとなったが、その原因としては、2つの要因が考えられる。第一は顔面神経の構造的特徴である。側頭骨外で顔面神経は複数の神経束を持ち、筋を支配する神経枝ごとに機能局在が存在するのに対して、側頭骨内では単一の神経束からなり機能局在は存在しない。したがって神経断裂の場合とは異なり、圧迫による神経損傷後の再生過程においては側頭骨内では誤った神経支配が生じ易いが、側頭骨外では神経周膜が存在するため過誤支配が生じにくい。第二の要因としては、側頭骨内外で顔面神経の易傷性に差があることが考えられる。すなわち、側頭骨内では神経周膜が少なく血流も乏しいことから外傷に対して脆弱であると推測される。

本研究では、側頭骨内顔面神経の障害は側頭骨外の障害より病的共同運動を高率に発

症すること、その原因は神経過誤支配であることを明らかにした。しかし、今回の病的共同運動モデルにシナプス再編成などが生じているかは不明であり、今後明らかにすべき課題である。一方、臨床では顔面神経麻痺を生じない片側性顔面痙攣で病的共同運動を発症する例が認められる。片側性顔面痙攣は前下小脳動脈による root entry zone での顔面神経圧迫が原因であるが、この疾患による病的共同運動の発症機序の詳細は不明である。今後、病的共同運動の発症機序をより詳細に解明するために Root Entry Zoon における病的共同運動モデルを作成し、検討する必要がある。また、近年、神経再生に関わるさまざまな神経栄養因子が解明されているが、この栄養因子が神経過誤支配や病的共同運動にどのように影響するかが課題である。

今回の結果より、圧迫障害による顔面神経麻痺後の病的共同運動を発症するモデルに対して、bFGF 含有ゼラチンハイドロゲルを投与したところ、神経再生促進効果が示された。bFGF 含有ハイドロゲル投与による神経再生促進の機序については、bFGF の再生神経に対する発芽、伸長や髄鞘化促進といった直接効果や、bFGF のもつ血管新生促進作用により神経再生に必要な蛋白や細胞の供給が増え、結果神経の成長、成熟が促されたと推察される。bFGF 水溶液の単回投与群では神経の再生促進効果は認められなかったが、bFGF は生体内での代謝が速いため、生理作用が十分に発現されなかった可能性がある。ドラッグデリバリーとして用いたゼラチンハイドロゲルは生体内で徐々に分解されるため、それに伴って bFGF が徐放され、神経に対して再生効果があったものと考えられる。顔面神経高度麻痺例だけでなく病的共同運動に対しても有用な傾向を示しており、bFGF 含有ハイドロゲルを投与することは臨床応用も可能であり、新たな治療法となりうることを示唆された。

#### 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 10 件)

1. 羽藤直人, 菘渕勇人, 寺岡正人, 暁清文. 再生促進を目的とした顔面神経減荷手術 生体吸収性ゼラチンハイドロゲルを用いた bFGF の徐放投与. *Facial N Research* 27, 218-220; 2008. (査読あり)
2. 羽藤直人. 顔面神経麻痺における組織学的変化は?(Q&A/特集). *JOHNS* 24; 1783-1786. 2008. (査読なし)

3. Hato N, Murakami S, Gyo K. Steroid and antiviral treatment for Bell's palsy. *Lancet* 371. 1818-1820; 2008. (査読あり)
4. Fujiwara T, Hato N, Nakagawa T, Tabata Y et al.: Insulin-like growth factor 1 treatment via hydrogels rescues cochlear hair cells from ischemic injury. *Neuroreport*. 29;19(16):1585-8. 2008. (査読あり)
5. Hato N, Sawai N, Teraoka M, Wakisaka H, et al.: Valacyclovir for the treatment of Bell's palsy. *Expert Opin Pharmacother*.; 9(14):2531-6. 2008. (査読あり)
6. Takeda S, Hakuba N, Yoshida T, Fujita K, Hato N, Hata R, Hyodo J, Gyo K: Postischemic mild hypothermia alleviates hearing loss because of transient ischemia. *Neuroreport*. 27;19(13):1325-8 2008 (査読あり)
7. Shigemoto K, Kubo S, Jie C, Hato N, et al.: Myasthenia gravis experimentally induced with muscle-specific kinase. *Ann N Y Acad Sci*, 1132:93-8. 2008 (査読あり)
8. Hato N, Yamada H, Kohno H, Matsumoto S, Honda N, Gyo K, et al. Valacyclovir and prednisolone treatment for Bell's palsy: a multicenter, randomized, placebo-controlled study. *Otol Neurotol*.; 28:408-3. 2007 (査読あり)
9. Hato N, Okada M, Hakuba N, Hyodo M, Gyo K. Repair of a malleus-handle fracture using calcium phosphate bone cement.. *Laryngoscope*.; 117:361-3. 2007 (査読あり)
10. Gyo K, Hato N, Shinomori Y, Hakuba N. Storage of the incus in the mastoid bowl for use as a columella in staged tympanoplasty. *Auris Nasus Larynx*.; 34(1):5-8, 2007 (査読あり)

[学会発表] (計 3 件)

1. 羽藤直人. ウイルス性麻痺の後療法. マイクロサージェリー学会. 2008. 11. 15. 新潟
2. 羽藤直人. 澤井尚樹、寺岡正人、暁清文. 顔面神経麻痺の後遺症評価「柳原法における後遺症評価」2008. 5. 29. 第 31 回日本顔面神経研究会 東京
3. 羽藤直人. 「人工神経を用いた顔面神経再生」 2007. 10. 25. 第 22 回 日本整形外科学会基礎学術集会 浜松

6. 研究組織

(1) 研究代表者

羽藤 直人 (HATO NAOHITO)  
愛媛大学・医学部附属病院・准教授  
研究者番号：60284410

(2) 研究分担者

高橋 宏尚 (TAKAHASHI HIROTAKA)  
愛媛大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号：90403807  
脇坂 浩之 (WAKISAKA HIROYUKI)  
愛媛大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号：30304611  
菰渕 勇人 (KOMBUCHI HAYATO) (H19)  
愛媛大学・医学部附属病院・医員  
研究者番号：70423457

(3) 連携研究者

なし