

令和 6 年 5 月 24 日現在

機関番号：32653

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K10016

研究課題名（和文）顔面神経不全麻痺に対する間葉系幹細胞、成長因子を用いた新しい手術療法の開発

研究課題名（英文）Development of new surgical therapy using mesenchymal stem cells and growth factors for facial nerve palsy

研究代表者

松峯 元（Matsumine, Hajime）

東京女子医科大学・医学部・准教授

研究者番号：80598144

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：健側顔面神経と麻痺側顔面神経分枝に自家神経移植を行うcross face nerve graft（CFNG）は顔面神経麻痺の再建術式としてすでに確立されている。しかしながら同術式は患側神経再支配までに6ヶ月以上を要し、移植神経内での軸索伸長速度が低い症例では表情筋の萎縮により満足な結果が得られない。そこで我々はラットを用いたCFNGモデルを確立し、さらに脂肪幹細胞シートがCFNGの効果を促進することを報告した。そしてより臨床に近い大動物実験へ移行するために羊の顔面神経周囲の解剖、及び自家神経移植のドナー部となる腓腹神経周囲の解剖を徹底的に解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

顔面神経麻痺は突然健康者にも発生し、罹患者のQOLを著しく損なう。健側顔面神経と麻痺側顔面神経分枝に自家神経移植を行うCross face nerve graft（CFNG）は顔面神経麻痺の再建術式としてすでに確立されている。しかしながら同術式は患側神経再支配までに6ヶ月以上を要し、移植神経内での軸索伸長速度が低い症例では表情筋の萎縮により満足な結果が得られない。ラットを用いたCFNGモデルを確立し、さらに脂肪幹細胞シートがCFNGの効果を促進することを報告した。同法は顔面神経麻痺患者の病悩期間を短縮する新しい顔面神経麻痺治療となる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Cross face nerve graft (CFNG), in which autologous nerve grafting is performed between the intact facial nerve and a branch of the paralyzed facial nerve, has already been established as a reconstructive technique for facial nerve paralysis. However, this procedure requires more than 6 months to reinnervate the affected side, and in cases where the rate of axonal elongation within the transplanted nerve is low, satisfactory results cannot be obtained due to atrophy of the facial muscles. Therefore, we established a CFNG model using rats and further reported that adipose stem cell sheets promote the effects of CFNG. In order to move on to large animal experiments, we thoroughly elucidated the anatomy around the facial nerve in sheep, and the anatomy around the sural nerve, which will serve as the donor site for autologous nerve transplantation.

研究分野：顔面神経麻痺

キーワード：顔面神経 間葉系幹細胞

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

陳旧性顔面神経完全麻痺症例に対して健側顔面神経と麻痺側顔面神経分枝の間に自家神経移植を行い、健側顔面神経からの神経伝達により麻痺側表情筋を神経再支配して動きを回復させる Cross face nerve graft (CFNG)は顔面神経麻痺に対する動的再建法として既に確立された術式である(図1)。しかしながら同術式は患側顔面神経再支配までに6ヶ月以上を要するため、軸索伸長速度が遅く脱神経時間が長期間となるような症例では表情筋の萎縮により満足な結果が得られないことがしばしばある。また組織学的評価では健側顔面神経から自家神経移植片を経て麻痺側表情筋へ到達できるドナーの再生軸索はわずかに10~50%、再生軸索数にして100~200程度であり表情筋の正常な筋収縮を得るには不十分である。上記の理由によりCFNGの術後アウトカムは未だ不確実なままであり更なる改善を要する術式である。

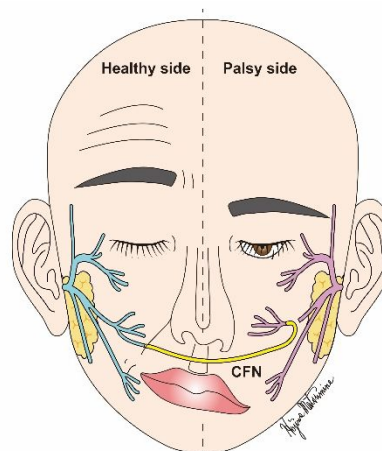


図1 Cross face nerve graft

よりCFNGの術後アウトカムは未だ不確実なままであり更なる改善を要する術式である。

### 2. 研究の目的

Abbasらは前述したCFNGの不安定な治療効果を改善する目的で、ADSCsの神経再生促進効果に着目し、ラット顔面神経麻痺モデルにCFNGを施行する際に神経縫合部にADSCs細胞混濁液を加えると神経縫合部のから移植片に入る神経軸索の数が増加し、さらに神経筋接合部で多孔状のアセチルコリントランスポーター分子が焦点性の発現を示しCFNGの術後経過が改善することを報告した。我々はこの結果を踏まえて、ADSCsとCFNGのコンビネーション移植での神経再生をさらに効果的に促進する方法を模索し、温度応答性培養皿で作製したADSCs細胞シートを自家神経移植片にラップして移植することにより、移植神経片へのADSCsの定着率向上と、より効果的なneurotrophic factorの直接作用により神経再生を促進するのではないかという仮説を立てた。この温度応答性培養皿を用いた細胞シートは細胞結合、分子間の接着および細胞外マトリックスを維持することにより高濃度での細胞移植が可能であり、かつ移植組織への高い生着率を示すことが報告されている。温度応答性培養皿を用いた細胞シートは消化管粘膜シート、胸膜シート、角膜シートなどさまざまな治療にすでに臨床応用されており、さらに温度応答性培養皿を用いたADSCs sheetに関しては心筋梗塞やカテーテル後の血管再狭窄予防効果、DM性潰瘍に対する創傷治癒促進効果などへの応用が既に報告され、その治療効果が実証されている。

### 3. 研究の方法

吸入麻酔下に8週齢Lewis系ラットの大腿内側から皮膚切開を加えて坐骨神経を露出し、3cmの神経をCFNGに使用する自家神経移植片として採取した。左耳後部から下顎下縁にS字型に切開し、さらに前頸部を通り、左右対称に右顔面にもS字型に切開を加えた。左顔面皮下組織を剥離し胸鎖乳突筋前縁から立ち上がる左顔面神経本幹を同定し、胸鎖乳突筋前縁で顔面神経本幹を結紮切離し4mmのgapを作成して左顔面神経完全麻痺モデルを作成した。次に両側顔面神経下顎縁枝を露出、耳下腺

前縁で切離し、自家神経片を用いて右側(健側)下顎縁枝と左側(麻痺側)下顎縁枝をバイパスする CFNG を施行した。これに加えて、CFNG 前に自家神経を ADSCs sheet ( $1.5 \times 10^6$  cells/3.5cm dish) で包んでから移植した群を作成し、術後 13 週での神経再生を組織学的、生理学的に比較検討した。全ての神経上膜縫合は顕微鏡下に 9-0 nylon を用いて行った(図 2)。

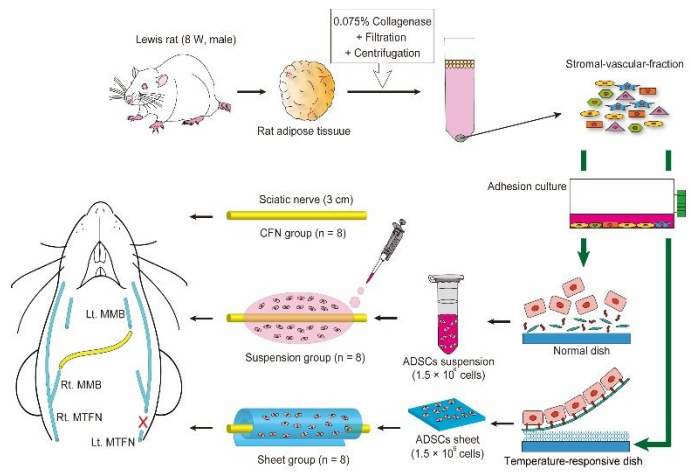


図 2 本研究のシエマ

#### 4. 研究成果

術後 13 週での再生軸索数は細胞シート群では CFNG 単独治療群の約 3 倍であり、またミエリン厚は細胞シート群では他の 2 群に比べて有意に高値であった。生理学的機能的評価においては、術後 1 週毎に記録した顔面神経スコアリングで細胞シート群は他の 2 群に比較し有意に早期からの表情筋の神経再支配を認め、さらに術後 13 週での CMAP 及びヒゲの動きでは他の 2 群に比較し有意に優れた機能回復を認め(図 3)、ADSCs sheet を組み合わせた CFNG は自家神経移植内の軸索伸長を促進し、神経再支配までの期間を短縮することを証明した。

同実験ではラットを用いた CFNG モデルであるため移植神経が 3cm と短く、

短期的な治療効果の上昇を証明するに限られたが、実際の臨床におけるヒトの CFNG では 10 cm 以上の自家組神経移植による長期的な軸索伸長を要するため、ADSCs sheet による軸索伸長促進効果、および神経再支配までの期間短縮効果はより明白になる可能性がある。

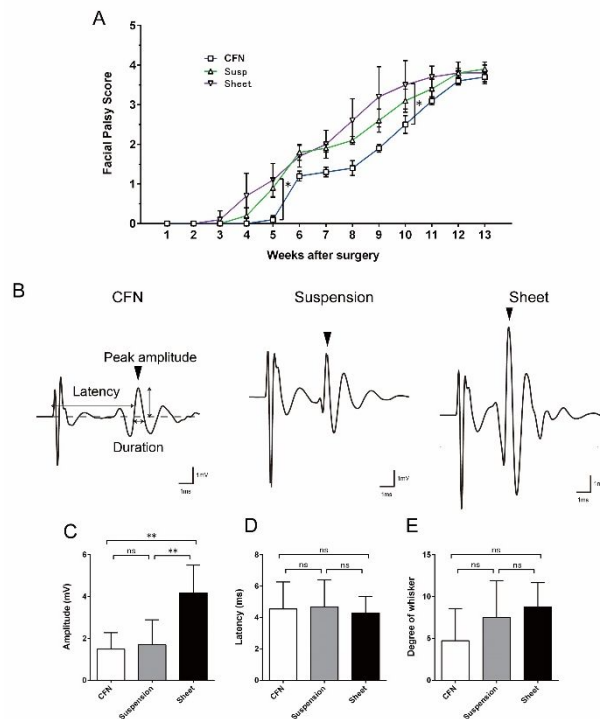


図 3 実験結果

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Nami Hayakawa, Hajime Matsumine, Kaori Fujii, Hironobu Osaki, Yoshifumi Ueta, Wataru Kamei, Yosuke Niimi, Mariko Miyata, Hiroyuki Sakurai	4. 巻 18
2. 論文標題 Facial nerve regeneration with bioabsorbable collagen conduits filled with collagen filaments: an experimental study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Regenerative Therapy	6. 最初と最後の頁 302-308
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.reth.2021.08.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kaori Fujii, Hajime Matsumine, Hironobu Osaki, Yoshifumi Ueta, Wataru Kamei, Yosuke Niimi, Kazuki Hashimoto, Mariko Miyata, Hiroyuki Sakurai	4. 巻 14
2. 論文標題 Accelerated outgrowth in cross-facial nerve grafts wrapped with adipose-derived stem-cell (ADSC) sheets	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine	6. 最初と最後の頁 1087-1099
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/term.3083	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kazuki Hashimoto, Hajime Matsumine, Hironobu Osaki, Yoshifumi Ueta, Wataru Kamei, Mari Shimizu, Kaori Fujii, Yosuke Niimi, Mariko Miyata, Hiroyuki Sakurai	4. 巻 41
2. 論文標題 Prevention of denervated muscle atrophy with accelerated nerve regeneration by babysitter procedure in rat facial nerve paralysis model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microsurgery	6. 最初と最後の頁 61-69
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/micr.30580	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fujimaki Hiroshi, Matsumine Hajime, Osaki Hironobu, Ueta Yoshifumi, Kamei Wataru, Shimizu Mari, Hashimoto Kazuki, Fujii Kaori, Kazama Tomohiko, Matsumoto Taro, Niimi Yosuke, Miyata Mariko, Sakurai Hiroyuki	4. 巻 11
2. 論文標題 Dedifferentiated fat cells in polyglycolic acid-collagen nerve conduits promote rat facial nerve regeneration	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Regenerative Therapy	6. 最初と最後の頁 240 ~ 248
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.reth.2019.08.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Sasaki Ryo, Matsumine Hajime, Watanabe Yorikatsu, Ando Tomohiro, Yamato Masayuki	4. 巻 11
2. 論文標題 A cage cleaning method for researchers without a cage-washing machine or cage-washing staff	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Regenerative Therapy	6. 最初と最後の頁 73~74
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.reth.2019.05.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Niimi Yosuke, Fukuda Satoshi, Gilbert Ryan S., Baljinnyam Tuvshintugs, Niimi Yu, Matsumine Hajime, Liu Keibun, Jacob Sam, Hawkins Hal K., Cox Robert A., Herndon David N., Prough Donald S., Enkhbaatar Perenlei	4. 巻 9
2. 論文標題 Surgical anatomy of the ovine sural nerve for facial nerve regeneration and reconstruction research	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 10564
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-46661-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Hajime Matsumine
2. 発表標題 Facial nerve regeneration using adipose-derived stem-cell
3. 学会等名 Seoul Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤井香純、松峯 元
2. 発表標題 脂肪由来幹細胞シートはCross face nerve graftの神経再生を促進する
3. 学会等名 第29回日本形成外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松峯 元
2. 発表標題 顔面神経再生への挑戦
3. 学会等名 第46回日本マイクロサージャリー学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松峯 元
2. 発表標題 間葉系幹細胞を用いた顔面神経不全麻痺に対する新し手術療法の開発
3. 学会等名 第 85回東京女子医科大学学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松峯 元
2. 発表標題 咬筋神経と顔面神経により同時二重支配された広背筋-前鋸筋連合筋弁による一期的動的再建術
3. 学会等名 第42回日本顔面神経学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松峯 元
2. 発表標題 ブラック・ジャックにおける同種組織移植の実現性
3. 学会等名 第62 回日本形成外科学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 松峯 元	4. 発行年 2021年
2. 出版社 全日本病院出版会	5. 総ページ数 106
3. 書名 PEPARS 神経再生医療の最先端	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------