

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09715

研究課題名(和文) 徐放化栄養因子の経鼓膜的鼓室内投与による高度顔面神経麻痺新規治療法の開発

研究課題名(英文) Development of a novel treatment for severe facial nerve palsy by intratympanic administration of sustained-release neurotrophic factor

研究代表者

羽藤 直人 (Hato, Naohito)

愛媛大学・医学系研究科・教授

研究者番号：60284410

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)：本研究の目的は、高度顔面神経麻痺に対する外来で施行可能な、新しい耳鼻咽喉科的治療法の開発にある。徐放化栄養因子の経鼓膜鼓室内投与は、顔面神経麻痺発症後の早期からステロイド全身投与との併用が低侵襲に可能で、有効性が証明されれば革新的な新規治療法となる。本研究では、新たに開発した顔面神経冷却による高度麻痺モデルモットを用いて、徐放化栄養因子の鼓室内投与の有効性を、複数の栄養因子(FGF、IGF)、徐放化ゼラチンで検証した。その結果、FGF、IGFともに明らかな再生促進効果を認め、治療法として有効であることが明らかとなった。また、栄養因子の神経への移行機序や効果発現機序を解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

後遺症が終生持続する難治性顔面神経麻痺は、確立した治療法がなく、従来の発想とは異なった新しい治療法の開発が望まれている。我々は神経保護・再生効果を有する徐放化栄養因子を、発症早期に経鼓膜ルートで鼓室内に投与すれば、難治性麻痺も治癒するのではないかと着想し、低侵襲な鼓室内注入療法の有効性を基礎的、臨床的に検証した。その結果、本治療法は難治性顔面神経麻痺に再生促進効果を有することが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to develop a new otolaryngological treatment for severe facial paralysis that can be performed on an outpatient basis. Transtympanic intratympanic administration of slow-release nerve growth factors can be combined with systemic steroid administration in a minimally invasive manner from an early stage after the onset of facial nerve paralysis. In this study, using a newly developed severely paralyzed guinea pig with facial nerve cooling, the efficacy of intratympanic administration of sustained-release nutritional factors was verified using multiple nutritional factors (FGF, IGF) and sustained-release gelatin. As a result, both FGF and IGF were found to have a clear regeneration-promoting effect, demonstrating that they are effective as therapeutic methods. In addition, we elucidated the transfer mechanism of trophic factors to nerves and the effect expression mechanism.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：顔面神経 再生医療 栄養因子 DDS

1. 研究開始当初の背景

徐放化栄養因子の経鼓膜的鼓室内投与による高度顔面神経麻痺新規治療法の開発

後遺症が終生持続する難治性顔面神経麻痺は、確立した治療法がなく、従来の発想とは異なった新しい治療法の開発が望まれる。申請者らは神経保護・再生効果を有する徐放化栄養因子を、発症早期に経鼓膜ルートで鼓室内に投与すれば、難治性麻痺も治癒するのではないかと着想した。過去に、顔面神経減荷術の際に徐放化 bFGF (線維芽細胞成長因子) を投与する治療法を報告したが、より低侵襲な療法を開発したい。そこで、1) 耳鼻科外来で簡便に治療が可能、2) 合併症が少なく、3) 治療効果が高い治療法の開発を模索し、経鼓膜的な徐放化栄養因子の鼓室内投与を着想した。鼓膜切開により鼓室内に徐放化栄養因子を投与する手法は、突発性難聴に対する内耳治療で既に安全性や効果が確認されている。また申請者らは既に、ラットの鼓室内に投与された薬剤(ステロイド)が、鼓室部顔面神経に高濃度に移行することを証明している。投与する栄養因子は顔面神経減荷手術時の徐放投与で効果が証明済みの塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)とインスリン様成長因子1(IGF1)を予定している。なお、これらの栄養因子は既に臨床使用が可能な製剤が市販化されている。これらの栄養因子の効果を徐放化ゼラチンと共に検証する。また、栄養因子の神経への移行機序や効果発現機序の解明を行う。

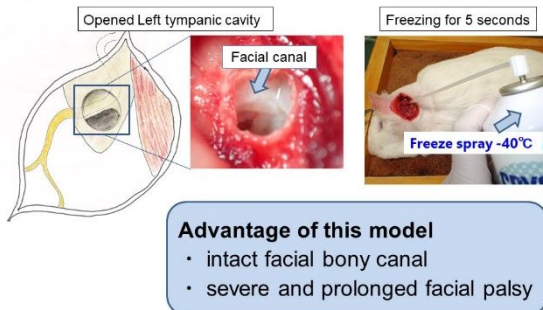
2. 研究の目的

高度な顔面神経麻痺の治療成績を向上するには、新しい治療法の開発が望まれる。申請者らは徐放化栄養因子を、麻痺発症早期に経鼓膜ルートで鼓室内に投与すれば、高度麻痺も治癒するのではないかと着想した。これまで我々は、徐放化 bFGF を顔面神経減荷術の際に投与すると、高度麻痺が高率に治癒することを基礎的、臨床的に証明してきた。また、動物実験で経鼓膜的に鼓室内投与した薬剤が骨壁を越えて顔面神経に高濃度に移行することを明らかにしてきた。本申請研究では、新たに開発した顔面神経冷却による高度麻痺モデルモットを用いて、徐放化栄養因子の鼓室内投与が有効なタイミングや栄養因子の濃度を、複数の栄養因子、徐放化ゼラチンで検証する。また、栄養因子の神経への移行機序や効果発現機序の解明を行う。本研究終了後は知財化、前臨床試験を行い、高度顔面神経麻痺に対する新しい耳鼻咽喉科的局所治療に繋げたい。

3. 研究の方法

実験にはハートレイ系モデルモット(メス、8-10週齢)を用いた。モデルモットを麻酔後、耳後部の骨胞を開放し、スプレーフリーザーを用いて5秒間、顔面神経管冷却刺激を加え、高度な顔面神経麻痺を発症するモデル動物を作製した。この動物に対し、鼓膜切開により鼓室内に徐放化栄養因子を投与した。栄養因子の投与量は、鼓室内に入るゼラチンとイオン結合可能な最大量である100 μ gとした。栄養因子はゼラチンハイドロゲルに含浸させた後、2週間で徐放させた。栄養因子はbFGFとIGF1を用いた。投与時期は、麻痺発症直後とした。コントロール群では蒸留水をゼラチンハイドロゲルに含浸させ投与した。冷却後は下記の3項目についてそれぞれ評価を行った。

Animal model of severe facial palsy



Joko, T. Kimura, T. et al. Auris Nasus Larynx, 2020

顔面神経麻痺モデル作製の状況

bFGF と IGF1 の再生能比較: 上記の冷却麻痺モデルの顔面神経障害程度や麻痺の自然経過は、電気生理学的、組織学的、行動学的に既に明らかとなっており、徐放化栄養因子投与モデルと比較することで、有効性が検証可能である。bFGF と IGF1 の2種の栄養因子は臨床製剤として購入可能である。栄養因子はゼラチンハイドロゲルに含浸させた後、鼓膜切開により経外耳道的に鼓室内に留置し2週間で徐放させる。投与時期は、冷却処置直後と1週間後の2群で検討した。

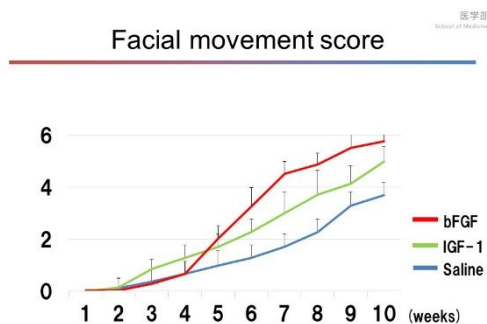
栄養因子の至的投与量の検討: 上記研究にて、より良好な再生能と徐放性能を認めた栄養因子とゼラチンとの組み合わせで、至的投与量を検討する。モルモット冷却麻痺モデルを用いて、神経再生の程度で評価を行う。鼓室内に投与できるゼラチン量は一定なので、含浸させる栄養因子の濃度を変化させて比較検討を行った。

栄養因子の顔面神経への移行機序の解明: 鼓室内に投与された薬剤が顔面神経へ移行する機序の詳細は明らかでない。冷却麻痺モデルを用いて、栄養因子を免疫染色し、経時的に組織学的検討を行った。冷却麻痺モデルは顔面神経骨間管を開放することなく麻痺を生じさせることができるため、移行機序の解明に適している。

栄養因子の再生効果発現機序の解明: bFGF と IGF1 はどちらも神経再生能を有することが既に証明されているが、in vitro での研究が主体で、in vivo ではまだ不明な点が多い。今回の研究では、神経軸索やシュワン細胞におけるレセプターの局在や、軸索発芽や再髄鞘化、血管造成のメカニズム、神経細胞死抑制の詳細を主に分子細胞生物学的に検討した。

4. 研究成果

肉眼的評価、神経伝達速度、組織学的評価の全ての項目において、有意に bFGF 群と IGF1 群はコントロール群より良好な神経障害の改善効果を認めた。

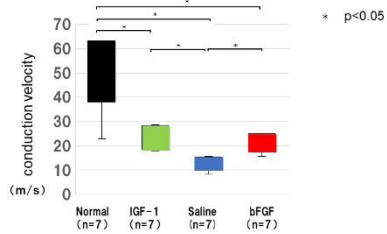


13

bFGF 群と IGF1 群の麻痺改善は良好

Electrophysiological testing

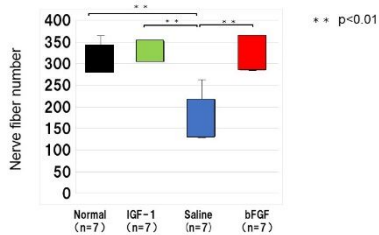
医学部
School of Medicine



神経伝導速度は bFGF 群と IGF1 群で早い

Number of nerve fiber

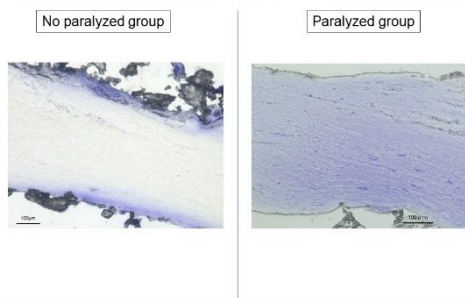
医学部
School of Medicine



神経線維数は bFGF 群と IGF1 群で多い

高度神経障害に陥った神経の再生には、軸索の発芽や伸長促進、再髄鞘化や血流改善が重要であるが、栄養因子はこれらの効果により高度顔面神経麻痺の再生促進に有効であることが明らかとなった。

Histological study (Gentian Violet)



障害顔面神経では薬剤移行が良好

骨間内の顔面神経に bFGF が到達できた要因としては、ゼラチンハイドロゲルにより徐放化できたことと、投与された栄養因子が骨間隙や局所血流により、骨に囲まれた顔面神経にも到達できることが推測された。これらの結果に基づき、今後臨床研究を行っていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kimura Takuya, Yamada Hiroyuki, Teraoka Masato, Joko Tomonori, Iwata Shinji, Tabata Yasuhiro, Wakisaka Hiroyuki, Hato Naohito	4. 巻 42
2. 論文標題 Intratympanic Insulin-like Growth Factor-1 Administration Via the Otic Bulla in a Severe Facial Paralysis Model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Otology & Neurotology	6. 最初と最後の頁 e1376 ~ e1381
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/MAO.0000000000003263	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 3件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Naohito Hato
2. 発表標題 Middle Ear and Facial Nerve
3. 学会等名 7th East Asian Symposium on Otology（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Naohito Hato
2. 発表標題 Intratympanic administration of growth factor with a gelatin hydrogel on severe facial paralysis
3. 学会等名 14th International Facial Nerve Symposium（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 羽藤直人
2. 発表標題 顔面神経麻痺診療の変遷と発展
3. 学会等名 第30回日本耳科学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔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
研究分担者	山田 啓之 (Yamada Hiroyuki) (00403808)	愛媛大学・医学系研究科・准教授 (16301)	
研究分担者	岡田 昌浩 (Okada Masanori) (20512130)	愛媛大学・医学部附属病院・講師 (16301)	
研究分担者	寺岡 正人 (Teraoka Masato) (40444749)	愛媛大学・医学部附属病院・講師 (16301)	

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
---------	---------