

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：16301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K23004

研究課題名(和文)PRP-hydrogelを用いた虚血性難聴に対する新たな治療法の開発

研究課題名(英文)New Treatment for Ischemic Hearing Loss with PRP-hydrogel

研究代表者

高木 太郎(Takagi, Taro)

愛媛大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20601024

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：次世代のPRPとしてconcentrated growth factors(以下CGF)が注目されている。CGFは、PRPと比較してより簡便に分離抽出可能であり、また血小板凝集惹起物質やトロンビン・塩化カルシウムなど、PRP精製の過程で必要となる物質を用いることなく、完全自己血での精製が可能である。CGFはゲル状の物質として精製され、成長因子を徐放することができるという利点もある。そのため、PRPのようにゼラチンハイドロゲルに含浸させて用いる必要はない。現在、スナネズミを用いたCGFの精製は可能となったため、今後はスナネズミの一過性内耳虚血モデルに投与し、その効果を検証していく予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

突発性難聴の治療法は、現在も確立されておらず、治療後も十分に聴力が回復しない場合が多い。突発性難聴の原因として、内耳の循環不全による虚血性障害が挙げられる。われわれはスナネズミ虚血性内耳障害モデルを用いて、突発性難聴に対する新たな治療法の開発に取り組んできた。これまでの研究で、われわれは虚血性内耳障害に対し、成長因子が障害抑制作用を有することを示してきた。成長因子を豊富に含有するCGFは、突発性難聴の治療法の一つになりうる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Concentrated growth factors (CGF) are attracting attention as the next generation of PRP. CGF is more easily isolated and extracted than PRP, and can be purified completely from autologous blood without the use of platelet aggregation attractants, thrombin, calcium chloride, or other substances required in the PRP purification process. CGF has the advantage of being purified as a gel-like substance, which allows for sustained release of growth factors. Therefore, it does not need to be impregnated in a gelatin hydrogel like PRP. It is now possible to purify CGF using gerbils. We plan to administer CGF to a gerbil model of transient inner ear ischemia and test its efficacy.

研究分野：神経耳科学

キーワード：突発性難聴 虚血性内耳障害 成長因子 CGF PRP

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

突発性難聴は急激に発症する感音難聴である。その原因は未だ不明であるが、内耳の循環障害説が唱えられている。われわれは以前より、一過性内耳虚血の動物モデルを用いて、虚血性の内耳障害の発生機序や、成長因子の虚血性内耳障害に対する保護効果について研究してきた。一方で、再生医療の分野において成長因子を豊富に含有する多血小板血漿 (Platelet Rich Plasma : PRP) を用いた治療が注目されており、すでに臨床の現場でも実用化されている。この PRP の鼓室内局所投与の虚血性内耳障害に対する有効性を、聴力、内有毛細胞の脱落率などの指標を用いて検討し、臨床応用の可能性を探究する。

2. 研究の目的

本研究では、一過性内耳虚血モデル動物を用いて、その虚血性内耳障害に対する PRP の有効性を検討し、突発性難聴の新たな治療法の開発に寄与することを目的とする。突発性難聴に対しては、現在はステロイドの全身投与や局所投与、循環改善薬などの投与が行われているが、効果は十分ではない。我々のグループは、以前より成長因子による内耳保護効果について研究してきた。これまでに、IGF-1 (Neuroreport. 19:1585-88, 2008) や GDNF (Gene Ther. 10:426-33, 2003) などの成長因子、また成長因子を分泌する幹細胞 (Neuroscience 145:923-30, 2007) や骨髄単核球細胞 (Neuroreport. 25:807-13, 2014) の、虚血性内耳障害に対する防御効果を明らかにした。様々な成長因子を豊富に有する PRP は、同様に内耳保護効果をもつことが期待される。PRP は、成長因子の単独投与よりも効果的である可能性があり、さらに幹細胞や骨髄単核球細胞と比べて簡便に採取可能な点からも臨床の現場で実用化しやすく、その有効性が解明されれば新たな治療法として期待できる。

当初は、PRP を含浸させたゼラチンハイドロゲルを用いた研究を計画していた。しかし、近年は次世代 PRP として CGF が注目されている。CGF は、PRP と比較してより簡便に分離抽出可能であり、また血小板凝集惹起物質やトロンビン・塩化カルシウムなど、PRP 精製の過程で必要となる物質を用いることなく、完全自己血での精製が可能である。また、CGF はその形状も特殊であり、遠心分離によって強固なゲル状の物質となって抽出される。そのため、PRP のように人工材料を用いることなく、成長因子の安定した局所濃度を保つことが可能である。

3. 研究の方法

CGF の精製に必要な血液量を検証する (文献的には 9cc の血液量が必要とされているが、スナネズミ 1 匹から採取可能な量ではないため、より少ない血液量で精製できるか検証する必要がある)

一過性内耳虚血モデル動物を用い、CGF 投与群とコントロール群の 2 群を作製する。

CGF 投与群とコントロール群とで、虚血性内耳障害の程度を比較する。虚血後の聴力閾値変化は、聴性脳幹反応 (ABR) を経時的に測定することによって行う。有毛細胞 (特に内有毛細胞) の細胞死の程度は、虚血後にコルチ器を取り出し、Rhodamine-phalloidin および Hoechst33342 で 2 重染色し、脱落した有毛細胞の割合を計算して評価する。

両群の局所における成長因子の定量を、ウエスタンブロット法で行い比較する。
サンプルは、虚血後に摘出した蝸牛を用いて作製する。
将来的な臨床での実用化を見据えて、前臨床試験としての安全性等も確認する。

以上により、虚血性内耳障害に対する CGF 鼓室内局所投与の有効性を検討する。

4 . 研究成果

われわれは当初の計画であった PRP + 徐放剤 (ゼラチンハイドゲル) 投与から CGF 投与へ変更し、研究をすすめている。問題点として、CGF 作製には 9cc の血液採取が必要であり、スナネズミ一頭から得られる血液では十分量の採取ができない。血液の採取は凝固を避けるために迅速に行う必要があり、複数頭から同時に採取するのに難儀していた。現在では、複数頭から同時に採取する方法を確立し、安定した CGF の精製は可能となっている。

また、以前から当科で使用していたスナネズミが、現在入手困難となっている (以前から購入していた業者がスナネズミの取扱を終了したため)。後交通動脈の欠損しているモデルが必要であるが、現在有している頭を確認したところ、7 割近くのスナネズミで後交通動脈の開存が確認された。そのため、以前から使用していた種を保存していた宮崎大学に依頼し、交配を始め、後交通動脈が欠損しているスナネズミのモデルを作成中である。モデル動物を安定して入手可能な状況になったら、上記の実験計画をすすめていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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