

令和 6 年 5 月 28 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09243

研究課題名（和文）Tetra-PEG-gelを用いた神経癒着予防および神経修復促進のための技術開発

研究課題名（英文）Development of Technology for Preventing Nerve Adhesion and Promoting Nerve Repair Using Tetra-PEG Gel

研究代表者

森崎 裕（Morizaki, Yutaka）

東京大学・医学部附属病院・病院診療医（出向）

研究者番号：30508099

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）：末梢神経を扱う手術は、絞扼性神経障害に対する除圧・開放術と、神経切断に対する縫合術・移植術に大別される。絞扼性神経障害の代表として手根管症候群や肘部管症候群があげられ、現在でも数多くの手術が行われているが、術後の神経と周辺組織の癒着によって頑固な痛みや異常知覚が残存するケースが一定数発生する。本研究では、末梢神経癒着を予防するため、東京大学工学系研究科で開発されたTetra-PEGゲルを、癒着予防薬として使用し、その効果を評価した。その結果、ハイドロゲルで被覆することで、有意に神経癒着が予防されることを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、Tetra-PEG-gel技術を応用して、術後の神経癒着を予防する手法を確立し、さらに神経修復促進のための革新的なデバイスを開発することを目指した。本研究成果は、整形外科領域において、末梢神経障害のみならず、脊椎手術における硬膜癒着に対する手術後の神経癒着を予防する治療法に繋がる可能性がある。さらに、術後患者満足度の上昇や治療期間の短縮、神経障害性疼痛の緩和など社会的意義は大きいと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Surgical procedures dealing with peripheral nerves are broadly classified into decompression and release surgeries for constrictive nerve disorders, and suturing and transplantation for nerve transections. Carpal tunnel syndrome and cubital tunnel syndrome are prominent examples of constrictive nerve disorders, and numerous surgeries are still being performed today. However, a certain number of cases experience persistent severe pain and abnormal sensations due to adhesion of nerves and surrounding tissues post-surgery. In this study, the Tetra-PEG gel developed by the Graduate School of Engineering at the University of Tokyo was used as an anti-adhesion agent to prevent peripheral nerve adhesions, and its effectiveness was evaluated. The results confirmed that covering with the hydrogel significantly prevented nerve adhesions.

研究分野：整形外科

キーワード：神経癒着

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

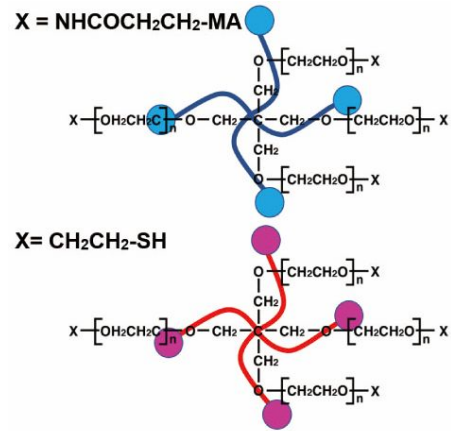
末梢神経を扱う手術は、絞扼性神経障害に対する除圧・開放術と、神経切断に対する縫合術・移植術に大別される。絞扼性神経障害の代表として手根管症候群や肘部管症候群があげられ、現在でも数多くの手術が行われているが、術後の神経と周辺組織の癒着によって頑固な痛みや異常知覚が残存するケースが一定数発生する。癒着防止のために脂肪組織による被覆を行うこともあるが、癒着防止の有効性を示すエビデンスは明確ではなく、癒着予防の手段は現在も確立されていない。脊髄周辺の手術においても、除圧術後の硬膜や神経根周囲の癒着は術後の症状の改善を妨げ、また再手術の際には術野の展開を困難にし、医原性神経障害を誘発しうる。神経縫合術においては、縫合部への癒着組織の進入は癒着のみならず、術後神経障害の大きな原因と考えられている。このように、術後に起こる神経と周辺組織との癒着や癒着組織の形成は術後成績を下げ、患者満足度の低下に直結する、臨床上極めて重要な課題である。申請者らは前回の基盤研究(C)「Oligo-Tetra-PEG gel を用いた腱癒着予防の検討」(2018-2020年度、研究代表者: 森崎裕)において、東京大学工学系研究科バイオエンジニアリング専攻の酒井崇匡教授らによって開発された Tetra-PEG-gel が、腱の癒着に対して極めて高い予防効果を発揮することを明らかにし(投稿準備中、特許出願済み) 現在臨床試験に向けて研究を推進している。申請者らは、この Tetra-PEG-gel 技術が神経組織の癒着防止や保護、さらに修復促進にも応用できるのではないかと考え、本研究を立案した

2. 研究の目的

本研究では、Tetra-PEG-gel 技術を応用して、術後の神経癒着を予防する手法を確立し、さらに神経修復促進のための革新的なデバイスを開発することを目指す。

研究分担者の東京大学工学系研究科バイオエンジニアリング専攻酒井崇匡らは、事前に Maleimide (MA) 末端を持つ四分枝 PEG と thiol (SH) 末端を持つ四分枝 PEG を作成しておき、これらを混合することで短時間に架橋反応を起こしゲル化させる、Tetra-PEG-gel 技術を独自に開発した(図2)(Science, 343, 873-875, 2014)。一般に合成ハイドロゲルはその分子構造から本来不均一になってしまうが、事前にテトラポッドの基本構造を付与しておくことで極めて均一な網目構造の実現に成功したのがこの Tetra-PEG-gel である。Tetra-PEG-gel の主な特徴として 無細胞毒性、選択的透過性、調整可能なゲル化時間、生分解性、非膨潤性、があげられる。生体内で使用する場合、細胞毒性は大きな問題となるが、PEG は現在すでに医薬品に使用されており細胞毒性はない(無細胞毒性)。また、分岐の長さを変えることによって網目のサイズをデザインすることが可能であり、狙った分子量の液性因子や化合物を透過させることができる(選択的透過性)。ゲル化時間に要する時間も 0 秒から 10 分程度まで調整可能であり(調整可能なゲル化時間) 加水分解による分解性も付与することが可能である(生分解性)。また一般的に合成ハイドロゲルはその浸透圧の高さから生体内では膨潤をきたし、その膨潤変化率は小さくても数割程度、大きければ数倍に及ぶ。しかし Tetra-PEG-gel は組織浸透圧よりも低い浸透圧濃度でゲル化し、均一な網目構造となるため、生体内で膨潤することはない(非膨潤性)。絞扼性障害の生じる部位では神経は骨や靭帯などに囲まれているため、一般

の合成ハイドロゲルを用いると膨潤して神経組織を圧迫し、重大な障害を与えかねない。ゆえに神経の癒着防止は、非膨潤性を有する Tetra-PEG-gel 以外ではなし得ないといえる。また 選択的透過性については、四分岐のアーム長を調節することによってタンパクから細胞まで自由に担持させることも可能であり、成長因子の徐放システムとして用いることもできるため、Tetra-PEG-gel は神経の癒着防止と再生促進の両者を実現しうる、一石二鳥の可能性を秘めており、神経外科領域に革新をもたらすことが期待される。



3. 研究の方法

(1) 神経組織に対する Tetra-PEG-gel の至適条件の決定と安全性の確認

Tetra-PEG gel は、基本構造である PEG の四分岐の設計を変えたり、PEG に分解性ポリマーを付与することによって、(i)ゲル化時間、(ii)硬度、(iii)分解速度などを調節することができる。腱の癒着防止に適用した条件をベースに、ラット坐骨神経を用いて、in vivo で神経組織に対する最適化を行うと同時に安全性を確認した。腱周囲組織については、(i)ゲル化時間として、2種類のプレゲル溶液を混ぜてから約 30 秒でゲル化する条件、(iii)分解速度として、生体内で約 1 か月で分解される条件を確立しているが、神経周囲組織でも同様になるよう微調整した。神経は腱よりも繊細な組織であり、神経組織に対する安全性で最も重要な要素は、(ii)硬度と考えられる。腱の癒着防止では過酷な力学環境に堪えうる特性が要求されたが、神経においては腱ほどの動きはないため、より軟らかい条件で検討を行い、神経組織に変性を起こさないか組織学的に確認を行った。

(2) ラット坐骨神経癒着モデルの確立と Tetra-PEG-gel の癒着予防効果の検討

ラット坐骨神経の癒着モデルはこれまでも報告されており(J Neurosurg 129:815-824,2018)、これらを参考に癒着モデルを作成した。具体的には、坐骨神経を展開したのち、神経周囲の筋組織を電気メスで損傷させ癒着を誘発する。神経をゲルで被覆する実験群と生理食塩水のみを使用する対照群に分けて比較検討を行った。術後 1, 2, 4, 8 週を目安に安楽死させ、先行研究に従って癒着の程度を肉眼的な所見を基にスコアリングするほか、細胞浸潤の程度や神経組織の状態を組織学的に評価した。

4. 研究成果

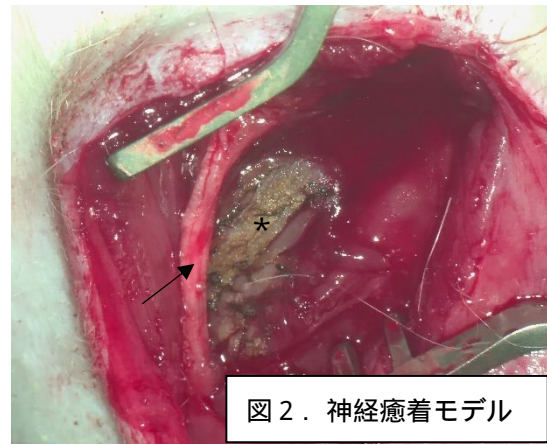
(1) 神経組織に対する Tetra-PEG-gel の至適条件の決定と安全性の確認

本研究では、臨床応用を念頭にゲルの至適条件を行った。特に、ゲル化時間、ゲル硬度について検証を行った。ゲル化時間は主に Buffer の pH に依存するため、クエン酸 Buffer を用いて pH を約 5.0 付近に抑えることで約 1 分程度のゲル化時間を設定した。また、硬度については PEG を 2.5% としてゲルを作成した。当初、神経は腱ほど動きがなく硬度はあまり必要ないと考えていたが、筋肉による圧迫を受けやすいため、硬めのゲルを作成した。

(2) ラット坐骨神経癒着モデルの確立と Tetra-PEG-gel の癒着予防効果の検討

まず、ラットの坐骨神経を用いて、神経癒着モデルを作成した。ラットを伏臥位として、大腿骨

の後面を展開し、中殿筋と大殿筋の筋間を鈍的に侵入し、坐骨神経を同定した。図2は坐骨神経(黒矢印)で、癒着モデルを作成するために電気メスで周囲を焼灼した(*)。この結果、術後3週目に、観察したところ、坐骨神経は周辺組織と強く癒着していることが分かった。続いて、この癒着モデルを使用し、電気メスで焼灼後に生理食塩水を使用したコントロール群とゲルで神経を被覆したゲル群に分け、癒着の予防を観察した。その結果、ゲル群では、周辺組織との癒着が有意に抑制されていることが分かった。ま



た、組織学的な検査でも、ハイドロゲルが神経をカバーすることにより、周辺組織と分離されている状態で保持できることが明らかとなった。以上のことから、Tetra-PEGは神経癒着にも予防する医療材料になると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 0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 Tanaka Shinya, Uehara Kosuke, Sugimura Ryota, Miura Toshiki, Ohe Takashi, Tanaka Sakae, Morizaki Yutaka | 4. 巻 22 |
| 2. 論文標題 Evaluation of the first annular pulley stretch effect under isometric contraction of the flexor tendon in healthy volunteers and trigger finger patients using ultrasonography | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 BMC Musculoskeletal Disorders | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12891-021-04299-1 | 査読の有無 無 |
| 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 Amano Yosuke, Kage Hidenori, Tanaka Goh, Gonoji Wataru, Nakai Yudai, Kurokawa Ryo, Inui Shohei, Okamoto Koh, Harada Sohei, Iwabu Masato, Morizaki Yutaka, Abe Osamu, Moriya Kyoji, Nagase Takahide | 4. 巻 59 |
| 2. 論文標題 Diagnostic prediction of COVID-19 based on clinical and radiological findings in a relatively low COVID-19 prevalence area | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Respiratory Investigation | 6. 最初と最後の頁 446 ~ 453 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.resinv.2021.03.002 | 査読の有無 無 |
| 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1件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 岩永康秀、森崎裕、斎藤琢、酒井崇匡 |
| 2. 発表標題 Tetra-Peg gelを用いた損傷腱のintrinsic healingの検討 |
| 3. 学会等名 日本整形外科学会基礎学術集会 |
| 4. 発表年 2021年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

東京大学医学部附属病院 整形外科・脊椎外科
<http://www.u-tokyo-ortho.jp/>
 東京大学医学部附属病院 整形外科・脊椎外科
<http://www.u-tokyo-ortho.jp/>

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 | 齋藤 琢 (Saito Taku) (30456107) | 東京大学・医学部附属病院・准教授 (12601) | |
| 研究分担者 | 酒井 崇匡 (Sakai Takamasa) (70456151) | 東京大学・大学院工学系研究科(工学部)・教授 (12601) | |

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 |
|---------|---------|
| | |