

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 19 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462285

研究課題名(和文)末梢神経欠損間隙の新治療法：末梢神経両断端緩徐伸長法の実用化に向けて

研究課題名(英文)New treatment for peripheral nerve defect: Direct lengthening of both nerve stumps.

研究代表者

原 友紀 (HARA, Yuki)

筑波大学・医学医療系・講師

研究者番号：30431688

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：末梢神経欠損の新しい治療法として我々が開発した末梢神経断端緩徐伸長法の実用化に向けて

臨床研究開始後に生じた新たな課題を解決するために本研究を計画した。(1)自動伸長システムの開発：持続的に神経伸長を行えるシステムを開発した。機器の安全性を評価する実験を行い、家兎を用いた持続伸長の実証実験を行った。(2)神経の癒着防止と神経再生を促す成長因子を含む多血小板血漿の効果을期待して、これを用いた神経伸長実験を行った。神経再生は多血小板血漿群で良好な傾向を示した。(3)臨床研究の継続分娩麻痺乳児の腕神経叢修復用の神経伸長器の開発が必要となり、新たな神経伸長器：巻き取り式神経伸長器を作成した。

研究成果の概要(英文)：We have developed a new treatment for peripheral nerve defects: nerve lengthening method. We have applied this method in a clinical setting in 2009, clinical cases brought some new challenges. This investigation aimed at making improvement nerve lengthening method. (1) Development of automated nerve lengthening system. Continuous nerve lengthening enabled by automated system, is more efficient lengthening than intermittent manual lengthening. (2) Prevention of nerve adhesion during lengthening. We use platelet rich plasma (PRP) contains several different growth factors that can stimulate nerve regeneration and prevent nerve adhesion. In this study, there were no differences about nerve adhesion between PRP administration or not, but nerve regeneration was superior in PRP administration group. (3) Clinical research for patients have peripheral nerve gap continue in this study. We developed a new nerve lengthening device for birth palsy.

研究分野：末梢神経外科

キーワード：末梢神経再生

## 1. 研究開始当初の背景

末梢神経損傷は国内で年間1万人に発生する。現在、一次修復不可能な末梢神経損傷に対する治療は、主に遊離神経移植が行われている。遊離神経移植では採取部の感覚障害残存、有痛性断端神経腫、移植神経の数・長さ・再生能の限界など種々の問題点があり、必ずしも最善の治療ではない。新しい治療の試みとして、近年、Tissue engineeringの概念の導入に伴い、種々の生体材料で欠損部を架橋する人工神経が国内外で多く研究されているが、長い欠損を修復し良好な神経再生を得ることは依然として困難である。遊離神経移植も人工神経も縫合部2か所を再生軸索が越えなければならない点は同じであり進歩がない。再生軸索は縫合部を超えるたびに軸索数が減り、misdirectionが起こるため神経再生が悪くなる。我々は治療の難しい末梢神経欠損において、欠損部を架橋しないすなわち縫合部を一か所にすることが良好な機能再獲得を実現する最も重要な戦略であると考え、その技術を開発し、実用を目指している。

**我々の開発した新しい神経修復法は、欠損部両断端緩徐伸長法である。**神経断端を直接把持し牽引することのできる**神経伸長器**(特願2008-138590,PCT/JP2009/059417)を開発し、損傷神経両断端を1日1mm緩徐なスピードで縫合可能な距離まで近づけ、端々縫合することにより神経欠損間隙を修復する。**ドナー神経の採取は不要**であり、従来法で問題となる神経採取による後遺症を患者に与えない。また、神経修復時の縫合は1か所となるため、修復後のmisdirectionは少なくより**良好な神経再生**が得られる。我々は先行研究でラット・家兎・カニクイザルの神経欠損を本法で治療することに成功し、神経修復後の再生能は遊離神経移植群に優ることを示した(文献3-5)。また新鮮損傷に加え陳旧性損傷に対する本法の適応について研究し、同じく良好な神経再生が得られることを示した。また**神経伸長のメカニズム**についても研究し、神経の伸長は単に粘弾性によるものでなく組織の新生により生じていることを明らかにした。伸長された近位神経束はsprout(発芽)した再生軸索により構成され、遠位神経束ではシュワン細胞が増殖していた(文献7-9)。本法は生体内で自己修復能力により自己の組織を選択的に増殖させる“生体内培養”を実現した革新的な医療技術であり、末梢神経の新しい画期的な治療法に成り得ると確信している。2009年に臨床応用を開始し、現在までに後骨間神経陳旧性損傷(13mm欠損)・橈骨神経陳旧性損傷(110mm欠損)に適用した。**本研究は本法の実用化に向け、臨床応用後に生じた課題を解決するために計画した。**新たな課題は(1)自動伸長システムの開発、(2)癒着防止技術の導入、(3)修復可能距離の限界と至適伸長速度の決定の3点である。(1)自動伸長システムの開発については、現在手動で

1日4回の神経伸長を行っているが、組織延長は間欠的に行うより持続的に行う方がよいことが知られている。モーターを用いた自動伸長器を開発することで、患者および医療者の負担を減らし、より確実な組織新生を得ることができると考える。(2)癒着防止技術については、外傷性の神経欠損は皮膚・筋など広範な軟部組織損傷を伴うことが多く、神経再生の場の癒着形成を免れない。癒着形成と癒着による神経伸長障害を予防するための技術が必要である。(3)(1),(2)の実験成果を利用し、最適な治療法と適応を確立するための実験を行う。臨床応用後、損傷からの期間・解剖学的特徴(欠損長・損傷部位・損傷神経の太さなど)により神経の把持様式や伸長スピードを変える必要がある可能性が示唆された。動物実験に戻り、技術をより確かなものにする必要がある。

## 2. 研究の目的

末梢神経欠損の新しい治療法として我々が開発した末梢神経断端緩徐伸長法の実用化に向けて臨床研究開始後に生じた新たな課題を解決するために本研究を計画した。(1)自動伸長システムの開発、(2)癒着防止技術の導入、(3)修復可能距離の限界と至適伸長速度の決定の3課題を本研究のテーマとし、動物実験を行うこと、また継続して行っている臨床研究を継続することを研究の目的とした。

## 3. 研究の方法

研究 自動伸長システムの開発

【研究体制】設計担当:原友紀(研究代表者)  
小林浩三(研究協力者:筑波大学技術職員)  
制作:(株)エム・イーシステム

【研究方法】下図1の神経伸長器両端のレンチ穴を自動持続回転させるシステムを取り付ける。軽量で電池式の小型モーターを選定し、1日1.5mm、1.0mm、0.5mmの3段階のものを作成する。動作検証のため以下の実験を行う。

- 伸長距離実測:すべてのシステムに対し、6時間毎に目標の距離までの伸長が行われているか検証 総距離100mmまで1機器5回測定
- 負荷試験:抵抗によるモーター誤作動有無を検証  
神経牽引により装置にかかる負荷を牽引用系にかかる張力(N)とし、牽引用系に一定の張力(2N, 5N, 10N)を与え続けた場合に、モーターの動きが妨げられていないか伸長距離実測により検証 張力測定にはアイソメトリックトランスドューサーを使用する
- 耐用性については動物実験で検証する

## 研究 癒着防止技術の導入

【研究体制】発案・計画・動物実験・結果評価・計画見直し・総括：原友紀（研究代表者）  
動物実験補助：久保田茂希

【研究方法】対象：日本白色家兔 3kg 40羽

方法：ペントバルビタール静脈内麻酔下に両大腿部坐骨神経を展開。坐骨神経を大腿中央で10mm切除し、周囲筋を焼灼し閉創。14日後に再度創を展開し、坐骨神経20mm欠損とし、神経上膜に神経伸長効率測定用のマーキング糸を付け神経伸長器を取り付ける。以下の実験群(各群n=10)を作成し、両断端を1mm/日の速度(1日1回手動で伸長)で25日間伸長する。

癒着防止剤として神経再生も促進する多血小板血漿 (PRP) 投与を行う PRP 投与群と投与を行わない非投与群を作成した。

2群において以下の評価を行った。

**神経伸長効率**：両断端のマーキング糸の伸長距離を測定し、伸長率を算出

**組織学的評価**：各動物の左大腿部を評価に用いる 引張試験終了後、坐骨神経と周囲筋を一塊に摘出 10%ホルマリン固定し、パラフィン固定標本作成 HE 染色、MT 染色により各群の癒着量を比較

研究 筑波大学附属病院倫理委員会承認プロトコルに従い、臨床研究を行う

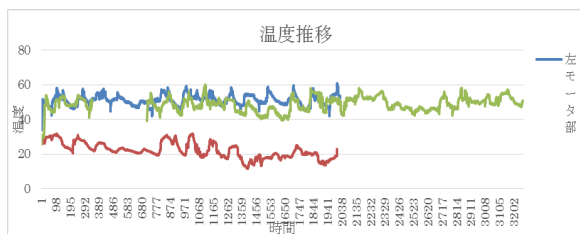
【対象患者】一次修復不可能な四肢末梢神経欠損を有する患者。

## 4. 研究成果

### 研究

自動伸長システムは可変式モーターを採用し、伸長スピードを調整できるタイプのもを1機種作成した。伸長スピードは1日0.5mmから2mmまでとした。

- (a) 実測実験は0.5mm/d, 1.0mm/d, 1.5mm/d, 2.0mm/dについて各3回試験を行った。目的の速度における至適伸長距離が伸長できたことを確認した。
- (b) 負荷試験 計画通り牽引糸に負荷のかかった状態で伸長スピードに遅滞がないかを検証した。
- (c) 温度実験 実験(a)(b)を行った際にモーター部の温度上昇が観察されたので連続動作時のモーター周辺および神経伸長部品付近の温度の変化を観察する実験を行った。



結果、神経伸長部は高温にはならないものの

モーター周辺部は高温であり、動物および臨床で使用する神経伸長器としては不適切と判断し、自動伸長システムの素材変更により温度上昇を防ぐ方針とした。素材をアルミからプラスチックに変更し、再度温度実験を行い、伸長器具のいずれの部分も30℃を超えないものを採用とした。

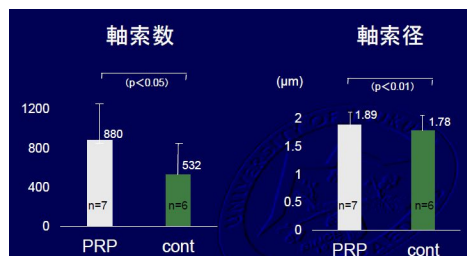
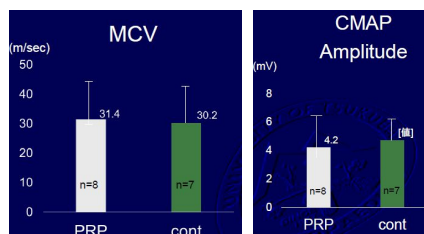
### (d) 動物での実装実験

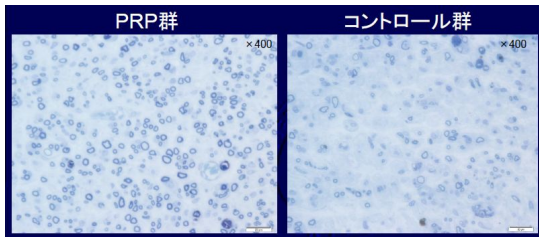
日本白色家兔を用い、坐骨神経20mm欠損を自動神経伸長システムで1日1mmの伸長スピードで伸長する実験を行った。n=3。最初の1羽は伸長システムの重量負荷によると思われる大腿骨骨折が生じ、安楽死とした。2羽で神経伸長を完了し、縫合可能距離まで伸長できることを確認した。モーター誤作動その他トラブルはなかった。ヒトに応用する場合は、自動伸長システムの重量の影響は比較的少ないことと、機器取扱いについては動物よりも取り扱いやすいと考え、臨床使用での実行可能性は検証されたと考えた。

### 研究

癒着防止技術として申請当時は、Tc7, ヒアルロン酸を候補としていたが、さらに神経再生能を有し、癒着の防止も期待される技術として多血小板血漿 (PRP) の利用を着想した。PRP は自己の末梢血を利用する成長因子ソースであり、神経再生促進効果の知られているbFGF や PDGF が含まれている。臨床応用する価値は高いと考え、PRP 投与による癒着防止効果と神経再生促進効果をみる実験を計画した。

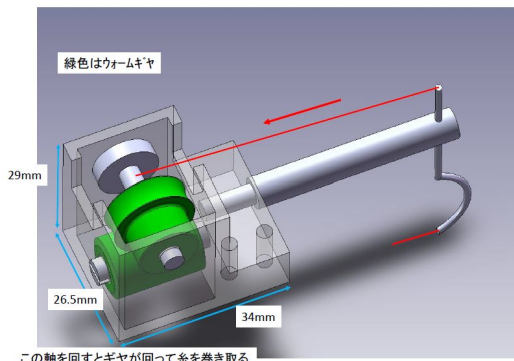
神経伸長効率について差はなかった。動物実験であり伸長距離が短く、PRP 群でもある程度の癒着があったことが原因と考えられた。癒着の程度を組織学的に評価するため横断切片の MT 染色を行った。染色域面積は PRP 群の方が有意に小さかった。神経再生についての結果をグラフで示す。再生軸索数において PRP 群が優れていた。結果をまとめると、伸長効率において癒着程度の差は反映されなかったが組織学的には PRP 投与で癒着が少なくなる可能性が示唆された。PRP 投与により神経再生は促されることがわかった。





#### 研究

臨床研究は患者募集を継続したが新たな患者登録はなく、手術患者の経過観察を行った。あらたな患者対象に対する臨床研究の準備として乳児分娩麻痺用の神経伸長器を作成した。牽引糸を巻き取り式に変更し、露出が少なくても伸長操作が行えるよう工夫した。作動確認を行い、今後臨床使用ができるよう手続きを進める予定である。



この軸を回すとギヤが回って糸を巻き取る

#### 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 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

久保田茂希、原友紀、吉岡友和、青戸克哉、村井伸司、西浦康正、山崎正志、家兔陳旧性末梢神経損傷に対する多血小板血漿 (PRP) による末梢神経再生促進効果に関する研究. 第 29 回日本整形外科学会基礎学術集会, 2014.10 月 16 日, 鹿児島市

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

[http://tsukuba-seikei.jp/staff/staff\\_5.php](http://tsukuba-seikei.jp/staff/staff_5.php)  
<https://upload.umin.ac.jp/cgi-open-bin/ctr/ctr.cgi?function=brows&action=brows&type=summary&recptno=R000003477&language=J>

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

原 友紀 (HARA Yuki)

研究者番号: 30431688

筑波大学医学医療系 講師

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし