

令和元年6月19日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11185

研究課題名(和文) 顔面神経麻痺後遺症の克服に向けた新規治療法の開発

研究課題名(英文) Development of a new treatment for sequelae of facial nerve palsy

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) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：末梢性顔面神経麻痺は、神経障害が高度となれば予後不良であり、後遺症が必発となる。高度麻痺例に対しては、神経の再生を促す必要があるが普遍化には至っていない。そこで、耳鼻科外来で簡便に治療が可能、合併症が少なく、治療効果が高い治療法の開発を模索し、徐放化栄養因子の鼓室内投与を着想した。局所冷却による再現性のある高度顔面神経麻痺モデルの作製に成功し、bFGFの徐放化投与による顔面神経麻痺再生の観察を行った。組織学的、電気生理学的に神経再生の評価を行ったところ、コントロールに比べ、bFGFの徐放投与では顔面神経麻痺が早く改善し、後遺障害も少なかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

顔面神経麻痺は高度となれば後遺症が必発であるが、新しく低侵襲な顔面神経の再生治療法を動物実験で確立した。経鼓膜的に鼓室内に徐放化栄養因子を投与すれば、高度に障害を受けた顔面神経麻痺モルモットが早く良好に回復した。この方法は臨床応用が可能で、今後は臨床試験の準備を行う予定である。

研究成果の概要(英文)：Peripheral facial palsy is a poor prognosis when neuropathy is severe, and sequelae is inevitable. It is necessary to promote regeneration of the nerve for cases of severe paralysis but it has not been universalized. Therefore, we sought to develop a treatment that could be easily treated with otolaryngology outpatients, with few complications, and with a high therapeutic effect, and conceived of an intratympanic administration of a controlled release nutritional factor. We succeeded in creating a reproducible high facial nerve paralysis model by local cooling, and observed the facial nerve paralysis regeneration by slow release administration of bFGF. Histologically and electrophysiologically, the nerve regeneration was evaluated, and compared with the control, bFGF sustained-release administration rapidly improved the facial nerve palsy and caused less aftereffects.

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

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

顔面神経麻痺後遺症の克服に向けた新規治療法の開発

Bell 麻痺や Hunt 症候群などの末梢性顔面神経麻痺は、神経障害が高度となれば予後不良であり、後遺症が必発となる。顔面神経麻痺の後遺症は、顔貌の非対称性に加え、笑いなどの表情コントロールができないため、患者は多大な QOL の低下と精神的苦痛を被る。後遺症を残す高度麻痺例に対しては、オプション治療を追加し神経の再生を促す必要がある (Hato, Lancet, 2008) が、顔面神経減荷手術は難易度が高く難聴発現のリスクがあるため普遍化には至っていない。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 (図 1)。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 (Nakagawa, BMC Med, 2010)。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。薬剤の顔面神経への移行経路は、骨欠損部または菲薄部からの直接拡散と、局所血流やリンパ流による移行を想定している。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) を予定している。なお、本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。徐放化に用いるゼラチンハイドロゲルは、MedGel® として基礎研究用途に市販化されている。本研究ではこれを発展させ、鼓室内投与が容易なモデルモットで高度麻痺モデルを作製し、栄養因子の投与方法、作用機序、神経再生効果や限界などの詳細な検討を行う。

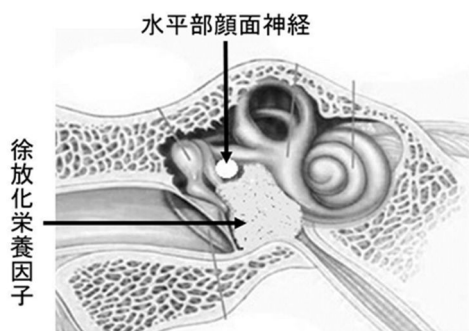


図 1. 顔面神経への経鼓膜薬剤投与のシエーマ

2. 研究の目的

まず、経鼓膜での鼓室内薬剤投与にはマウスモデルは小さすぎるため、高度顔面神経麻痺モデルを安定的に作製する方法を検証する。正常モデルモットの顔面神経冷却をどの程度行えば安定的に高度麻痺が作製できるか確認することが第一の目的である。次に、この顔面神経麻痺モデル動物に対し、投与時期を変えながら至的濃度の徐放化栄養因子 (bFGF) を経鼓膜にて鼓室内投与する。徐放化栄養因子を投与し、鼓室部顔面神経へ移行を濃度別に確認する。顔面表情筋の動きや電気生理学的反応、組織学的評価を行い、鼓室内投与の栄養因子に神経再生促進効果がどの程度あるかを検証する。本研究にて十分な効果が認められれば、bFGF を用いた新しい

顔面神経再生治療の有効性を、将来的に臨床試験にて検証する。

3. 研究の方法

実験にはハートレイ系モルモット（メス、8-10週齢）を用いた。モルモットを麻酔後、耳後部の骨髄を開放し、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。

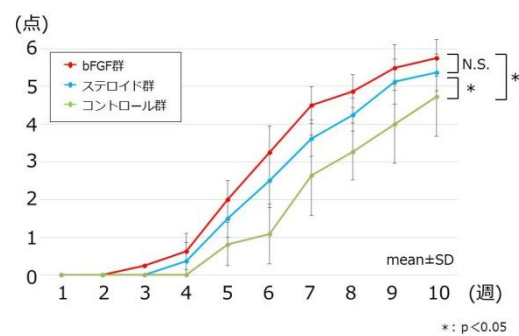
1. 肉眼的評価：瞬目反射、鼻翼、髭の運動をそれぞれ2点（計6点）で評価した。
2. 神経伝達速度：側頭骨外顔面神経を刺激し、口輪筋で誘発筋電図を測定した。
3. 組織学的評価：経心還流固定後、トルイジンブルー染色を行い、光学顕微鏡にて有髄神経線維数を計測した。

1は毎週評価を行い、2、3は薬剤投与後10週にて評価した。

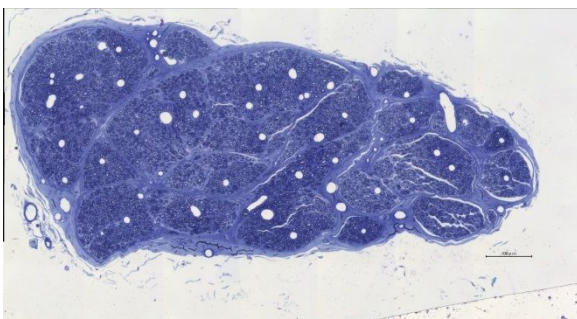
4. 研究成果

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群はコントロール群より良好な神経障害の改善を認めた。

① 肉眼的評価の結果



モルモットの顔面神経冷却による高度麻痺モデルの作製



bFGF群における再生した顔面神経軸索像

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、bFGF 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。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)

1. 上甲 智規(愛媛大学 医学系研究科耳鼻咽喉科頭頸部外科), 山田 啓之, 羽藤 直人
冷却障害による顔面神経麻痺モデルの検討(査読なし)
Otology Japan (0917-2025)27 巻 4 号 Page647(2017.10)

〔学会発表〕(計 3 件)

1. 上甲智規 他 冷却顔面神経麻痺モデルにおける徐放化栄養因子の鼓室内投与の検討
第 42 回 顔面神経学会 2019
2. 木村拓也 他 冷却顔面神経麻痺モデルにおける鼓室内ステロイド投与の検討 第 42 回
顔面神経学会 2019
3. 羽藤 直人 再生医療の未来 顔面神経再生治療の現状と展望 耳科学会 2018

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

なし

取得状況(計 0 件)

なし

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：鵜久森 徹

ローマ字氏名：(Ugumori toru)

所属研究機関名：愛媛大学

部局名：大学院医学系研究科

職名：准教授

研究者番号（8桁）：80512128

研究分担者氏名：山田 啓之

ローマ字氏名：(Yamada hiroyuki)

所属研究機関名：愛媛大学

部局名：医学部附属病院

職名：講師

研究者番号（8桁）：00403808

研究分担者氏名：岡田 昌浩

ローマ字氏名：(Okada masahiro)

所属研究機関名：愛媛大学

部局名：医学部附属病院

職名：講師

研究者番号（8桁）：20512130

(2)研究協力者

研究協力者氏名：上甲 智規

ローマ字氏名：(Joko Tomonori)

研究協力者氏名：木村 拓也

ローマ字氏名：(Kimura Takuya)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。