

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K11391

研究課題名(和文)ハイブリッド型人工神経を用いた端側型神経移植における神経再生様式の解析

研究課題名(英文)Analysis of nerve regeneration in a hybrid artificial nerve containing basic-FGF

研究代表者

垣淵 正男 (Kakibuchi, Masao)

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号：50252664

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)：既に製品化されているポリグリコール酸(PGA)とⅠ型コラーゲンを組み合わせた人工神経(PGA-collagen tube)に、既に製剤化されている線維芽細胞増殖因子(bFGF)やマウスの脂肪組織由来由来幹細胞(ADSC)を付加する一定のノウハウを得た。人工神経は、臨床例における顔面神経再建に際して、ドナー神経として採取した下腿の腓腹神経の約5cmの欠損に対して使用し、露出や感染などの合併症を認めなかった。臨床における顔面神経再建術および顔面神経麻痺に対する静的再建術を行った症例を検討し、包括的な治療戦略を策定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

顔面神経麻痺の治療において神経再建術は重要な位置を占め、自家神経移植が標準術式である。自家組織採取にともなう合併症や患者への負担を回避するべく人工神経の開発が以前より続けられており既に臨床応用もされているが、その成績は自家神経に及ばない。本研究は自家神経移植に匹敵する成績が期待できるハイブリッド型人工神経開発を試みて一定の成果を上げた。

一方、神経再建単独では満足すべき結果を得られないことも多く、外科的治療に限定しても、静的再建手術などの他の治療方法との組み合わせが必要な症例が多い。本研究では神経移植およびその他の方法を臨床例において検討し、顔面神経麻痺に対する包括的な治療戦略も示した。

研究成果の概要(英文)：To develop hybrid artificial nerve conduits, biodegradable artificial nerve conduits made from woven polyglycolic acid (PGA) filled with collagen fibers were used. Gelatin hydrogel containing basic fibroblast growth factor (bFGF) and adipose-derived stem cells (ASCs) was put into PGA-collagen tube. Some lateral holes were made on the tube and condition of the gelatin hydrogel and artificial nerve were observed. In clinical cases, artificial nerves were applied to nerve gaps of peroneal nerve without any complications. Autologous nerve grafts were used in facial nerve, hypoglossal nerve and recurrent laryngeal nerve. Comprehensive surgical treatment of facial paralysis including facial nerve reconstruction, nerve crossover and static procedures was analyzed.

研究分野：形成外科

キーワード：顔面神経麻痺 神経再建 人工神経

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 神経移植術は、四肢の運動および知覚神経の障害や、中枢性麻痺または末梢性神経欠損による顔面神経麻痺の重要な治療方法のひとつであり、従来は自家神経の端々縫合を用いた移植を前提とした再建術式が行なわれてきた。しかし、自家組織採取にともなう合併症や患者への過剰な負担を回避するために、人工神経の開発が以前より続けられており既に臨床応用もされている。但し、現在使用されている人工神経の治療成績は自家神経移植には及ばず、素材の改良に加えて、成長因子やシェワマン細胞などの付加によるハイブリッド型人工神経の開発が進んでいる。

(2) 一方、臨床例における端側神経縫合による顔面神経再建は20世紀初頭に既に副神経を用いた報告があるが、その後は進展を見なかった。1990年代にその有用性が再認識され、主にマウスやラットを用いた基礎的な実験に続いて、臨床例においても端側縫合を用いた顔面神経に対する舌下神経移行術手術や顔面神経欠損に対する神経移植術が盛んに報告されるようになった。そのような状況下で、2004年に我々は移植神経への端側縫合を利用した顔面神経再建術を世界に先駆けて成功させた。さらに、臨床応用が先行したこの端側型神経移植における神経再生をラットにおいて解析した結果、端々縫合と同等の軸索再生が得られ、また、より臨床に近い多数枝の再建においても同様の結果が得られた。

(3) これら二つの新しい治療概念を組み合わせるハイブリッド型人工神経による端側型神経移植は顔面神経再建において有望な新技術であり、顔面神経麻痺に対する治療の選択肢が広がることが期待された。

(4) 顔面神経麻痺の治療において神経再建術は重要な位置を占めるが、単独では満足すべき結果を得られないことも多い。外科的治療に限定しても、いわゆる静的再建手術との組み合わせが必要な症例が多く、総合的な対応が必須であることは広く認められている。

2. 研究の目的

既に製品化されているポリグリコール酸(PGA)と型コラーゲンを組み合わせた人工神経(PGA-collagen tube)に、既に製剤化されている線維芽細胞増殖因子(bFGF)やマウスの脂肪組織由来由来幹細胞(ADSC)を付加する技術を確立し、マウスを用いた動物実験において従来の神経再建方法と比較した後に、ヒトに対する臨床応用につなげる。

3. 研究の方法

(1) ハイブリッド型人工神経の作成

a) ポリグリコール酸と型コラーゲンを組み合わせた人工神経(PGA-collagen tube)へのbFGF添加方法の確立

- ・bFGF徐放性ゼラチンを人工神経内に注入する。
- ・側孔を設けた人工神経内のbFGF徐放性ゼラチンの状態を確認する。

b) 人工神経(PGA-collagen tube)にマウスの脂肪組織由来由来幹細胞(ADSC)を付加する技術の確立

- ・マウスの皮下組織から採取し、培養、増殖させた脂肪組織由来由来幹細胞(ADSC)をゼラチンに播種して人工神経内に注入する。
- ・側孔を設けた人工神経内のADSC添加ゼラチンの状態を確認する。

c) 人工神経(PGA-collagen tube)へのbFGFおよびADSC添加方法の確立

- ・ADSCをbFGF徐放性ゼラチンに播種して人工神経内に注入する。
- ・側孔を設けた人工神経内のADSC添加bFGF徐放性ゼラチンの状態を確認する。

(2) 実験動物における端々神経縫合による単一の神経再建モデルの検討

a) マウスに作成した顔面神経の1分枝の欠損に対して、端々縫合によるbFGF添加、ADSC添加、bFGFおよびADSC添加ハイブリッド型人工神経移植をそれぞれ行い、自家神経移植と比較検討する。

- ・機能評価は髭のおよび鼻の運動を継続的に観察し、機能回復の程度を点数化する。
- ・機能回復がプラトーに達した時点で、電気生理学的検討および組織学的検討を行う。
- ・組織学的検討はHE染色、トリジンブルー染色などによって、神経内の再生軸索の形態および数量を観察する。
- ・電気生理学的検討は神経伝導速度、筋電図により行う。

(3) 実験動物における端複数枝欠損に対する端側型神経移植モデルの検討

a) マウスに作成した顔面神経の2～4分枝の欠損に対して、端側縫合によるbFGF添加、ADSC添加、bFGFおよびADSC添加ハイブリッド型人工神経移植をそれぞれ行い、自家神経移植と比較検討する。

- ・機能評価は髭のおよび鼻に加えて眼瞼の運動を継続的に観察し、機能回復の程度を点数化する。
- ・機能回復がブラトーに達した時点で、電気生理学的検討および組織学的検討を行う。
- ・組織学的検討はHE染色、トリジンブルー染色などによって再生軸索の形態および数量、各分枝への分配の割合を観察する。逆行性トレーサーとしてFast BlueとDiamidino Yellowの2種類の蛍光色素を用いた二重標識法によって再生軸索の分枝を検証する。走査電子顕微鏡による観察によって、端再生軸索からの分枝(collateral sprouting)の存在の確認を試みる。
- ・電気生理学的検討は神経伝導速度、筋電図により行う。

(3) 臨床例における自家神経移植および人工神経による神経再建術の検討

(4) その他の手術方法による顔面神経麻痺治療の検討

4. 研究成果

(1)人工神経について

人工神経(PGA-collagen tube)に側孔を作成したり縦横に割を入れたりすることも可能であったが、人工神経の切断を含めて、繊細かつ鋭利な剪刀を用いることが必要であった。

人工神経において細胞成分を含まない組織液や薬液を含まないゼラチンの人工神経内への添加を試行し、手技の安定性や端側縫合用の側孔における薬液やゼラチンの状態を確認した。bFGF 徐放性ゼラチンについても同様の検討を行ったが、使用可能な状況に至らなかった。マウスの皮下脂肪を採取し、培養、増殖させた脂肪組織由来由来幹細胞(ADSC)を作成し、人工神経内への附加方法を検討し、生理食塩水とともに注入は可能であったが、人工神経内に充填されたコラーゲン内に均等に行き渡るか否かは不明であった。

(2) 神経再建術について

人工神経を用いた動物実験の進捗が遅れたため、耳下腺悪性腫瘍切除後に顔面神経欠損を生じた症例に対して自家神経および人工神経移植による神経再建術を10例に行った。

臨床において人工神経を顔面神経再建において用いた症例は無かったが、他の部位の神経再建において取扱いに習熟した。人工神経および自家神経はマイクロサージャリー用の9-0ナイロン糸での縫合が可能であったが、自家神経と人工神経の縫合部は、術後の強度を考慮すると4針以上の縫合が望ましいと考えられた。

臨床例において、人工神経は、顔面神経再建のドナー神経として採取した下腿の腓腹神経の約5cmの欠損および母指の指神経の神経線維腫切除後の約2mmの欠損に対して使用し、露出や感染などの合併症を認めず、知覚に回復が得られた。

人工神経の使用方法に関しては、自家神経の接合部を保護する材料としての検討も行ったが、実際の使用例はなかった。

(3) 顔面神経麻痺に対する神経再建術について

1. 総論

a. 神経縫合術

神経再建の基本は、切断された神経の断端どうしを縫い合わせる端々縫合であるが、複数の分枝に分かれている顔面神経の再建においては、複数の神経を束ねてひとつの神経断端に縫合する独特のケーブルグラフトや端側神経縫合もしばしば用いられる。

神経縫合法としてはその他に側々縫合もあるが顔面神経再建に用いられることは少ない。

b. 神経移植術

一般的に神経欠損が長く、直接縫合することが難しい場合は神経移植が行われるが、顔面神経再建においては、直接縫合できる可能性が高い外傷よりも腫瘍切除に伴う神経欠損や患側の顔面神経の中樞端との単純縫合では回復が難しい陳旧例や中枢性麻痺が多く、様々な方法の神経移植が行われる。

移植神経としては、自家神経移植術が基本となるが、有茎神経移植術、血管柄付き遊離神経移植の他に人工神経も用いられることがある。

c. 神経移行術

患側の顔面神経をそのまま使用する術式以外は神経移行術となり、健側の顔面神経を利用する交叉神経移植術も一種の神経移行術を考えられる。

再生軸索の供給源として用いられる頭頸部の運動神経は一般的には舌下神経、副神経、三叉神経の分枝である咬筋神経などの脳神経であるが、頸神経や横隔神経を用いる術式もある。

また、複数の移行神経による二重支配を利用した方法も考案されている。

2. 各論

a. ケーブルグラフト

基本的な方法は一本の太い神経の欠損部にそれよりも細い複数の神経を移植する方法である。移植用に太い神経が得られない場合もあるが、遊離神経移植の場合に神経の中心部まで組織液が到達せず壊死に陥ることがあるため、この方法が選択される。

顔面神経再建のように、一本の神経が複数の分枝に分かれる場合には、末梢側はそれぞれ端々縫合であるが、中枢側の断端で複数の移植神経を束ねて縫合することになる。

b. 顔面交叉神経移植術

1971年の Scaramella⁴⁾の報告以来行われてきた、健側の顔面神経からの神経移行術とも言える古典的な術式である。

神経縫合が2か所になるため再生軸索の数が少ないこと、手術から機能回復までの期間が長いことなどにより、単独で良好な結果が得られるのは、完全麻痺の場合は発症後2か月以内と考えられる。

c. 舌下神経移行術

1903年に Korte が発表した、片側の舌神経を切断して顔面神経本幹の断端と縫合する方法である。良好な筋収縮や安静時の口周囲の対称性が得られやすいが、舌の萎縮や舌と顔面の共同運動が問題となる。

それらの解決のために May は後述のインターポジショナル・ジャンプグラフトを考案し、梁井らは舌下神経を縦に半切して用いた。

d. 咬筋神経移行術

1978年に Spira が顔面の下半分の動きの再建に用いた方法である。神経の早期に強力な随意運動が得られるが、安静時の対称性には劣るとされ、咀嚼時の顔面の共同運動も問題となる。

e. 副神経移行術

1879年に Drobnick らが報告した副神経の断端を顔面神経本幹に吻合する方法である(図5)⁶⁾。早期に強力な随意運動が得られるが、肩、上肢の動きと連動する。

f. インターポジショナル・ジャンプグラフト

1991年に May らが報告した、舌下神経移行の改良術式である。移植神経の一端を部分切開した舌下神経の側面に端側縫合して、もう一端を顔面神経本幹と端々縫合する。

古典的な術式における舌の萎縮や運動障害、両側例への適応などの問題が解決される。

g. 端側型神経移植(ループ型神経移植)

2004年に我々が報告した、顔面神経の複数の分枝を一本の移植神経に対する端側神経縫合によって再建する方法である。

ケーブルグラフトで起こりうる、複数の移植神経を顔面神経本幹の断端に束ねて縫合することや、露出した下顎骨やプレートの表面に移植が配置されることを回避でき、必要な移植神経の長さも短いなどの利点がある。

顔面交叉神経移植術や舌下神経移行術、咬筋神経移行術との組み合わせも可能とされる。

h. ネットワーク型神経移植

2003年に Yamamoto らが報告した、顔面神経本幹、舌下神経、対側顔面神経などの複数の力源と表情筋を支配する顔面神経を移植神経で連結してネットワークを形成することによって、顔面神経の即時再建および陳旧性顔面神経麻痺の治療成績を向上させる方法である。

i. クロスリンク型神経移植

2010年に橋川らが報告した、ネットワーク型神経再建の一亜型である。舌下神経と顔面神経の双方の側面の神経上膜を開窓して、その間を橋渡しするように移植神経で連結することにより、顔面神経麻痺後遺症である不全麻痺や病的共同運動を改善させる方法である。

リハビリテーションを組み合わせることによって、より良好な成績が得られるとされる。

3. 顔面神経再建に特有の概念

a. 眼周囲と口周囲の分離再建

眼と口の動きを別々に再建する考えは、顔面交叉神経移植術における Andari 法にも見られるが(図9)¹⁶⁾、舌下神経移行術や咬筋神経移行術を組み合わせることによって、より効果が期待できる方法が考案されている¹⁷⁾¹⁸⁾²⁹⁾。

b. Babysitter 法

1984 年に Terzis が報告したユニークな概念である。顔面交叉神経移植による回復を待つ間の筋萎縮を舌下神経移行によって防止する。副神経や咬筋神経による方法も報告されている。

(4) 顔面神経麻痺に対する静的再建術について

1. 口周囲の再建

顔面神経麻痺に対する静的手術は神経移植術や筋肉移行または移植術が行われない場合の次善の策とも考えられるが、低侵襲の手術によって短期間で確実な効果が得られることから選択されることも多い。

眼瞼周囲に関しては閉瞼機能を改善するための側頭筋移行術を除くと、神経再建で十分な効果が期待できない場合に有効と認められた動的再建方法がなく、眉毛挙上術や軟骨移植や筋膜移植を含む上下眼瞼形成などの静的再建術も標準的な再建方法となっている。

一方、口周囲の麻痺に対しては、有茎側頭筋移行術や薄筋、広背筋、腹直筋などの遊離筋肉移植が有効であるが、長時間に及ぶ手術時間や筋肉採取部への侵襲の大きさ、機能回復が得られるまでの期間の長さ、機能回復の不確実性などが時に問題となる。そのため、侵襲を最小限にとどめたいハイリスク患者や動的再建術を希望しない患者においては、大腿筋膜移植を中心とした静的再建術が適応となる。

陳旧性顔面神経麻痺に対して、主に大腿筋膜を用いた鼻翼、鼻唇溝、口角、上下口唇の吊り上げ術は古くから行われてきたが、口角や鼻唇溝の吊り上げ術において良好な結果を得るために、多方向への牽引が以前より推奨されている。我々も、鼻唇溝周辺の牽引は鼻翼、上口唇、下口唇を異なる角度で牽引することで、鼻唇溝および上下口唇の形態や摂食、構音機能をより改善できると考えている。また、鼻唇溝や上下口唇を大腿筋膜などによって側頭筋や咬筋と連絡する半動的とも言える再建方法も古くから報告されている。

さらに下口唇麻痺については、今世紀に入ってから、静的再建方法であるにも関わらず動きを伴うように見える術式が Udagawa らによって bidirectional fascia graft として報告された。この方法は下口唇麻痺に対する低侵襲かつ有効な方法であり、double fascia graft などとしても優れた結果とともに紹介されている²⁹⁾³⁰⁾。我々も、下口唇麻痺の再建には同法に準じた方法を行っているが上口唇に対する手術と同様に、筋膜の固定方法や緊張のかけ具合などは個々の患者の状態に合わせて調整する必要があると思われる。

b) 眼周囲の再建

眼瞼に対する静的形成手術として、上眼瞼においては、ゴールドプレートなどの金属の埋入、挙筋腱膜を延長する LL 法、下眼瞼に対しては Kuhnt-Szymanowski 法や lateral tarsal strip 法に代表される下眼瞼形成術、suture anchor や筋膜、軟骨を用いた吊り上げ術、眼窩骨膜弁を用いた術式、耳介軟骨などによる挙上術などが、成人においては外来手術で施行可能である。また、これらの術式は小児などの全身麻酔が必要な患者においても、短期間の入院で行うことができる。

上眼瞼における LL 法の効果を充分かつ長期的に安定したものにするためには、耳介軟骨移植の併用が適当である。

下眼瞼における耳介軟骨の固定方法は報告により様々であるが、内眼角部と外眼角部の双方に固定する方法や眼窩下縁に固定する方法は、下眼瞼の尾側への動きが制限されることにより下方視時の視野が狭くなる場合があるため、下眼瞼縁への部分的な固定にとどめる方法が適当と思われる。

また、耳介軟骨移植によって下眼瞼縁の形状を頭側に凸とすることで、従来の静的な形成手術では完全な閉瞼が得られない症例においても、角膜保護の目的を達成することができる。

耳介軟骨の採取部位も報告により様々である。対耳輪や舟状窩は細長い軟骨が採取できるためハンモック型の下眼瞼吊り上げ術には有利であるが、ある程度の耳介の変形をきたす。一方、耳甲介軟骨を用いて下眼瞼を十分に挙上するためにはある程度の工夫が必要であるが、耳輪脚を避けて採取すると耳介変形をきたしにくい。

耳介軟骨の欠点のひとつとして術後の移植軟骨の変形が指摘されるが、整容的な理由から修正術を要する場合は少なく、兎眼の再発をきたす程の高度の変形は経験していない。

耳介軟骨移植による兎眼矯正術は、他の静的な方法と比較して兎眼の改善効果が高いとされ、軟骨の採取部位や移植方法にいくつかのバリエーションがあるが、中等度から高度の麻痺性兎眼に対して、簡便かつ効果的であると思われる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4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 垣淵 正男, 西本 聡, 河合 建一郎, 曾束 洋平, 松田 健	4. 巻 34
2. 論文標題 【顔面神経麻痺の治療アルゴリズム:ベストプラクティス】 顔面神経麻痺における神経再建術のアルゴリズム	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本頭蓋顎顔面外科学会誌	6. 最初と最後の頁 9-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 垣淵 正男, 河合 建一郎, 曾束 洋平	4. 巻 37
2. 論文標題 顔面神経麻痺における口周囲の静的再建症例の検討	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Facial Nerve Research Japan	6. 最初と最後の頁 137-140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 曾束 洋平, 河合 建一郎, 垣淵 正男	4. 巻 37
2. 論文標題 Kinect V2(Xbox One Kinectセンサー)を用いた顔面神経麻痺評価の可能性	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Facial Nerve Research Japan	6. 最初と最後の頁 147-150
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 垣淵正男, 河合建一郎, 曾束洋平	4. 巻 38
2. 論文標題 麻痺性兔眼に対する耳介軟骨移植術の検討	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Facial Nerve Research Japan	6. 最初と最後の頁 63-66
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 垣淵正男
2. 発表標題 顔面神経麻痺に対する神経再建術
3. 学会等名 第35回日本頭蓋顎顔面外科学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 垣淵正男
2. 発表標題 顔面神経麻痺における口周囲の静的再建症例の検討
3. 学会等名 第40回日本顔面神経学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 曾束洋平
2. 発表標題 Kinect V2(Xbox One Kinectセンサー)を用いた顔面神経麻痺評価の可能性
3. 学会等名 第40回日本顔面神経学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 垣淵正男
2. 発表標題 麻痺性兔眼に対する耳介軟骨移植術の検討
3. 学会等名 第41回日本顔面神経学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masao Kakibuchi
2. 発表標題 End-to-side nerve graft for facial nerve reconstruction
3. 学会等名 1st Meeting of Korean Facial Nerve Society (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019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	藤原 敏宏 (Toshihiro Fujiwara) (00423179)	兵庫医科大学・医学部・非常勤講師 (34519)	
研究分担者	西本 聡 (Soh Nishimoto) (30281124)	兵庫医科大学・医学部・教授 (34519)	
研究分担者	曾束 洋平 (Yohei Sotsuka) (40437413)	新潟大学・医学部・准教授 (13101)	
研究分担者	藤田 和敏 (Kazutoshi Fujita) (40461066)	兵庫医科大学・医学部・助教 (34519)	
研究分担者	河合 建一郎 (Kenichiro Kawai) (80423177)	兵庫医科大学・医学部・准教授 (34519)	

6. 研究組織（つづき）

	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	石瀬 久子 (Hisako Ishise) (30567194)	兵庫医科大学・医学部・助教 (34519)	