

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 5 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659665

研究課題名（和文） 人工神経を用いた新しい横隔神経再建法の開発

研究課題名（英文） Reconstruction of the phrenic nerve using an artificial nerve.

研究代表者

稲田 有史 (INADA YUJI)

京都大学・再生医科学研究所・非常勤講師

研究者番号：90254515

研究成果の概要（和文）：

本研究の目的は、人工神経を用いた新しい横隔神経再建法を開発することである。横隔神経は肺癌の縦隔浸潤に際しては切断されることがあり、従来、肋間神経移行などが行われることがあったが、再建の標準術式は未だにない。一方、整形外科領域では自己組織再生型の人工神経が臨床応用され、自家神経移植に代わる治療として注目されている。そこで本研究ではイヌのモデルにおいて、従来の術式の中では一番好成績が予想される血管柄付自家神経移植と比較して、人工神経の有用性を胸部外科領域で検討した。

研究成果の概要（英文）：

A purpose of this study is to develop the new phrenic nerve reconstruction acts using the artificial nerve. The phrenic nerve is often cut on the occasion of mediastinum invasion of the lung cancer, and intercostal nerve graft might be carried out conventionally, but there is not yet the standard method of the rebuilding. On the other hand, clinical the artificial nerve of the self-organizing reproduction type in the orthopedics domain; is applied, and attract attention as treatment for the self nerve transplant. Therefore a good grade examined the usefulness of the nerve more artificial than expected blood vessel handle of self nerve transplant belonging to in the conventional method in the model of the dog in this study most in chest surgery domain.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：人工神経、横隔神経、神経再生、末梢神経、呼吸不全、横隔膜麻痺、肺癌、合併切除

1. 研究開始当初の背景

研究の学術的背景

これまで横隔神経切除後に行なわれた治療は、自家神経移植や肋間神経移行であった。しかし、いずれも成績は安定せず、神経再建されない症例も少なくなかった。一方、我々は人工神経の開発を進め、世界に先駆けてコラーゲンを充填した自己組織再生型の人工神経の開発に成功した。これは2002年より学内の倫理委員会の審査を経て既に臨床で使われている。その結果、神経再建にこの人工神経が有効であることが示された。これまで人工神経の臨床応用は整形外科、耳鼻科領域で進められてきて、胸部外科領域ではまだ使われていない。世界的にみても人工神経で横隔神経を再建したという報告は、我々の知る限り全くない。そこで本研究では、呼吸器外科領域で初めて人工神経の臨床応用を目指した。

末梢神経の回復においては、感覚神経の回復が運動神経の回復より良好である。この点で、pure motor nerve である横隔神経は、最も回復しにくい神経と考えられる。本実験が成功して、人工神経の有効性が証明されれば、autograft を用いた自家神経移植に代わる新しい標準術式が樹立できると予想された。自家神経移植では、操作が煩雑であり、近年普及している内視鏡手術では神経束単位の吻合は不可能であった。さらに必要的に採取部位の神経機能を犠牲にするばかりではなく、新たな神経障害が生じることも少なくなかっただけに、画期的な治療法につながると思われ研究を企画した。

2. 研究の目的

横隔神経切除後は従来、自家神経移植や肋間神経移行が行われたが、いずれも成績は安定せず、神経再建をあきらめて放置される症

例も少なくなかった。一方、我々は人工神経の開発を進め、世界に先駆けてコラーゲンを充填した自己組織再生型の人工神経の開発に成功した。これは四肢末梢において既に臨床で使われており、その結果、神経再建にこの人工神経が有効であることを示してきた。人工神経の臨床応用は整形外科、耳鼻科領域で進められてきて、胸部外科領域ではまだ使われていない。世界的にみても人工神経で横隔神経を再建したという報告は、我々の知る限り全くない。そこで本研究では、呼吸器外科領域で初めて人工神経の臨床応用を目指すものである。

本研究期間では人工神経による横隔神経の再建と、従来の四肢末梢神経外科で最も良い成績が報告されている血管柄付神経移植術式を比較して、電気生理学的ならびに病的に神経再生を評価する。既に横隔神経において、この人工神経を用いて神経再生と横隔膜の運動が回復することはJTCVS (Yoshitani, M., 133: 726-32, 2007) に報告している。

本研究が独創的な点は、新たに日本で開発された人工神経を用いてこれまでにない新しい術式を提供する点であり、横隔神経が体内でも珍しい運動神経である点で、その結果は興味深いものである。両側の横隔神経麻痺が起きると患者は呼吸不全から死に至る。片側の肺手術に際しても麻痺を残さず神経が再建できれば、患者のQOD 向上につながる。長寿社会で高齢者の肺手術症例も年々増加しており横隔神経切除後に呼吸機能低下を防ぐ術式が確立できれば、手術適応の拡大にもつながると考えられる。

胸部外科手術で横隔神経が切断された場合は、従来は放置されることが多く、まれに自家神経移植や肋間神経の移行術が行われたが、横隔膜が運動回復することは少なかった。本

研究では従来にない新しい手法で横隔神経の機能を回復させるものである。末梢神経は再生能を本来有しているが、再生の場がなかったり、周囲組織が先に治癒してしまい、神経の伸展をブロックしてしまうと回復しない。我々が開発した人工神経は生体内分解性高分子材料のアテロコラーゲンのコンポジットであり、これまでにない速さで神経軸索の伸びを促すことが証明されている。神経の欠損に対しては、自家神経移植、とりわけ血管柄付の移植の成績が一番良好であると考えられてきた。しかし、この新しいデバイスを用いることにより、従来の定説を覆して新しい治療法が開発できる可能性がある。

末梢神経の回復においては、感覚神経の回復が運動神経の回復より良好であるとされてきた。この点で、横隔神経はpure motor nerveであり、最も回復しにくい神経である。本実験が成功して、人工神経の有効性が証明されれば、autograftを用いた自家神経移植に代わる新しい標準術式が樹立できる。自家神経移植では、操作が煩雑であり、近年普及している内視鏡手術では神経束単位の吻合は不可能であった。さらに必要的に採取部位の神経機能を犠牲にするばかりではなく、新たな神経障害が生じることも少なくなっただけに、画期的なものであると言えるであろう。

3. 研究の方法

動物実験用に直径2mm、長さ3cmのポリグリコール酸チューブから内部にコラーゲンを充填した人工神経を作製し、これを用いてビーグル犬の右側横隔神経欠損部(L=2cm)の再建を行なった。コントロールには従来最も成績が良いとされてきた有茎神経移植として局所で横隔神経を2カ所で切断してマイクロサージャリーの手法で端々吻合した群を作り、6～12ヶ月にわたり経時的に各群の回復を電

気生理学、X線、MR画像で評価するとともに、12ヶ月後に病理組織学的にシュワン細胞と神経軸索の回復を確認することとした。

(1) ビーグル犬20頭に対し、右開胸下に横隔神経を横隔膜上5cmの高さで2cm切除して、これをφ2mm、長さ25mmのPGA-コラーゲンチューブで架橋再建した。対照群として、同位部で2カ所2cm感覚で横隔神経を切除後、マイクロサージャリーの手法を用いて9-0ナイロン糸で端々吻合した群を作製した。

(2) この両群を術前、術直後、12ヶ月にわたり透視下に横隔膜の動きを観察することとした。経皮的にタングステン電極を横隔膜に刺入して、筋電図を測定することとした。

(3) 軸索の再生の最終確認には屠殺1週間前に右開胸下に再建部位の中枢側よりHRPをガラス微細管を用いて注入し、横隔神経が横隔膜に入る部位の筋肉を1週間後に切除して、Neuro muscular junctionならびに筋細胞内へのHRPの移行を証明することとした。

稲田 有史 ⇔ 中村 達雄

実験立案 病理標本作製、動物実験と評価
評価と総括 電気生理学的検討

4. 研究成果

本研究の目的は、人工神経を用いた新しい横隔神経再建法を開発することである。横隔神経は肺癌の縦隔浸潤に際しては切断されることがあり、従来、肋間神経移行などが行われることがあったが、再建の標準術式は未だにない。横隔神経麻痺は即ち、呼吸不全の原因となり、とりわけ低肺機能の患者においては命にかかわる重篤な病態となる。一方、整形外科領域では自己組織再生型の人工神経が臨床応用され、自家神経移植に代わる治療として注目されている。本研究ではイヌのモデルにおいて、従来の術式の中では一番好成績

が予想される血管柄付自家神経移植と比較して、人工神経の有用性を胸部外科領域で検討した。

ビーグル犬を用いた動物実験用に直径2mm、長さ3cmのポリグリコール酸チューブの内部にコラーゲンを充填した人工神経を作製した。これを用いてビーグル犬の右側横隔神経欠損部 (L=2cm) の再建を行った。コントロールには従来最も成績が良いとされてきた有茎神経移植として局所で横隔神経を2カ所で切断してマイクロサージャリーの手法で端々吻合した群を作った。6~12ヶ月にわたり経時的に各群の回復を電気生理学、X線、MR画像で評価するとともに、12ヶ月後に病理組織学的にシュワン細胞と神経軸索の回復を確認した。現在はそのデータの解析をすすめているが今後N数を増やして統計的に有意に良好な結果が出れば臨床応用に進める計画である。これまで治療法のなかった疾患に対する新しいアプローチとして臨床的意義の大きな研究と考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 18 件)

1. 嶋裕子、喜田久美、菅野和加子、山西弘美、石田宏美、岩下恵子、森田倫史、諸井慶七郎、中村達雄、稲田有史:血管穿刺時の神経損傷・神経障害の新概念による病態解明とその予防 1 疑いで病院を受診した当センター10症例の検討.血液事業. 34(4): 591-594(2012) 査読無
2. 嶋裕子、喜田久美、菅野和加子、山西弘美、石田宏美、岩下恵子、森田倫史、諸井慶七郎、中村達雄、稲田有史: 血管穿刺時の神経損傷・神経障害の新概念による病態解明とその予防 2 献血者における上肢の Subclinical な状態の出現頻度.血液事業. 34(4): 573-577(2012) 査読無
3. 中村達雄:肺に対する再生医療応用の可能性. 侵襲と免疫. 21(2): 7-12(2012) 査読無
4. 平野滋、金丸眞一、中村達雄、伊藤壽一: PGA チューブによる反回神経再建を施行した甲状腺癌長期経過の一症例. 頭頸部癌. 38(3): 363-367(2012) 査読無
5. Yukihiro Tatekawa, Akira Nakada, Tatsuo Nakamura. : Intrahepatic biliary ablation with pure ethanol: an experimental model of biliary atresia. Surg Today. (2012) DOI 10.1007/s00595-012-0379-2 査読有
6. 萩原明於、辻本洋行、阪倉長平、中村達雄: 消化器系における神経再生: 神経再生を用いる直腸癌の新しい手術戦略. G.I. Research. 20(6): 48-55(2012) 査読無
7. 稲田有史、中村達雄: 慢性疼痛疾患(難治性慢性疼痛): CRPS(Complex regional pain syndrome: 複合性局所疼痛症候群) に対する生体内再生治療. Bone Joint Nerve. 2(2): 333-338(2012) 査読無
8. 稲田有史、諸井慶七郎、中村達雄、森本茂、古家 仁: 神経障害性疼痛 (Complex regional pain syndrome (CRPS)を含む) に対する生体内再生治療. 治療. 94(5): 1031-1038(2012) 査読無
9. Shigeno, K., Nakada, A., Kaneko, M., Wakatsuki, M., Hashimoto, Y., Inada, Y., Nakamura, T.: Regeneration of canine inferior alveolar nerve by polyglycolic acid-collagen tube. Int Artif Organs. 35(8): 569(2012) 査読有
10. Wakatsuki, M., Kaneko, M., Sasauchi, K., Nakada, A., Shigeno, k., Nakamura, T.: Promotion of bone repairing by use of novel Collagen scaffold in Rabbit skull defect model. Int Artif Organs. 35(8): 591(2012) 査読有
11. Kaneko, M., Wakatsuki, M., Shigeno, k., Nakada, A., Nakamura, T.: The experiment of the bone regeneration in the canine frontale. Int Artif Organs. 35(8): 608(2012) 査読有
12. Nakamura, T., Fumitsugu, K., Sato, T., Nakada, A., Wakatsuki, M., Sasauchi, K., Kida, N., Kanemaru, S., Omori, K., Kaneko, M., Shigeno, k., Inada, Y., Endo, K.: Artificial trachea and In situ tissue engineering: twelve gean-follow up.in canine model. Int Artif Organs. 35(8): 608(2012) 査読有
13. 中村達雄: 肺における再生医療. Clinical Engineering. 22:32-36(2011) 査読無
14. Nakamura, T., Omori, K., Kanemaru, S.: Tissue-engineered airway and “in

- situ tissue engineering” . Gen Thorac Cardiovasc Surg. **59**:91-97(2011), DOI10.1007/s11748-010-0677-9 査読有
15. Ohno, S., Hirano, S., Tateya, I., Kojima, T., Ito, J.: Management of vocal fold lesions in difficult laryngeal exposure patients in phonomicrosurgery. *Auris Nasus Larynx*. **38**:373-380(2011), DOI10.1016/j.anl.2010.10.006 査読有
 16. Ohno, S., Hirano, S., Kanemaru, S., Kitani, Y., Kojima, T., Tateya, I., Nakamura, T., Ito, J.: Implantation of an atelocollagen sponge with autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cells for treatment of vocal fold scarring in a canine model. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. **120**:401-408(2011) 査読有
 17. 稲田有史、諸井慶七郎、中村達雄、森本茂、古家仁：人工神経を中心とする生体内再生治療を用いた複合性局所疼痛症候群（CRPS）の治療．*整形外科*. **62**: 809-814 (2011) 査読無
 18. 稲田有史：機能再建のマイスターは何をみているのか. *DOCTOR'S NETWORK*. **45**: 23-27 (2011) 査読無
- [学会発表] (計 20 件)
1. 中村達雄：人工神経管（PGA-tube）による末梢神経再生と in situ Tissue Engineering (生体内再生)．第 32 回日本臨床麻酔学会 (2012.11.1 福島) 招待講演
 2. 稲田有史：四肢神経障害性疼痛に対する外科的治療の実際．第 29 回立山セミナープログラム (2012.7.28 富山市) 招待講演
 3. 稲田有史：機能再建のマイスターは何をみているのか？．札幌徳洲会病院こけら落とし講演(2012.7.13 北海道) 招待講演
 4. 稲田有史：運動器の痛みの治療．奈良医大整形外科・臨床研修医合宿研修 (2012.5.27 奈良) 招待講演
 5. Ohno, S., Hirano, S., Kanemaru, S., Mizuta, M., Ishikawa, S., Tateya, I., Nakamura, T., Ito, J.: Role of Circulating Mesenchymal Stem Cells in Vocal Fold Wound Healing. The 92nd Annual Meeting of The American Broncho-Esophagological Association. (2012.4.19 San Diego (USA))
 6. 稲田有史、中村達雄、諸井慶七郎、古家仁：外傷後難治性疼痛への挑戦—整形外科医の成功と苦悩の変遷．日本賠償科学会第 59 回研究会 (2011.12.3 東京)
 7. 稲田有史、中村達雄、諸井慶七郎、森本茂：外傷性末梢神経分岐部・高位欠損治療に使用された PGA-Collagen tube 内で本当に神経は再生したのか？—2 症例の 8 年 follow-up から．第 38 回日本マイクロサージャリー学会学術集会 (2011.11.10-12 新潟)
 8. 稲田有史、中村達雄、諸井慶七郎、森本茂：献血後神経障害は、穿刺が原因か否か？—第一報日赤献血事業での末梢総和仮説の検証—．第 35 回日本血液事業学会総会 (2011.10.20-22 埼玉)
 9. 岩下恵子、菅野和加子、山西弘美、石田宏美、嶋裕子、森田倫史、稲田有史：過去約 2 年間に神経損傷・神経障害の疑いで病院を受診した当センター 10 症例の検討．第 35 回日本血液事業学会総会 (2011.10.20-22 埼玉)
 10. 南垣内夏子、菅野和加子、山西弘美、石田宏美、岩下恵子、中西秀行、高木潔、嶋裕子、森田倫史、稲田有史：献血者における上司の Subclinical な状態に出現頻度．第 35 回日本血液事業学会総会 (2011.10.20-22 埼玉)
 11. 面川庄平、小島康宣、村田景一、仲の健一、稲田有史：月状三角骨不安定症に対する背側手根靭帯を用いた靭帯再建術．第 54 回日本手外科学会学術集会サテライトシンポジウム (2011.8.19 青森)
 12. 稲田有史、中村達雄、諸井慶七郎、古家仁、森本茂：静脈穿刺後神経障害は、穿刺が原因か否か？—日赤献血事業での末梢総和仮説の検証—．第 54 回日本手外科学会学術集会サテライトシンポジウム (2011.8.19 青森)
 13. 本多通孝：食道良性狭窄の生じるメカニズムと内視鏡治療の開発．第 81 回消化器内視鏡学会総会 (2011.8.17-19 名古屋)
 14. 稲田有史、中村達雄、諸井慶七郎、古家仁、森本茂：静脈後穿刺後神経障害は、穿刺が原因か否か？—第一報日赤献血事業での末梢総和仮説の検証—．第 33 回日本疼痛学会 (2011.7.22-23 松山)

15. 稲田有史：神経損傷への戦略. 第3回日本重度四肢外傷セミナー (2011.7.16-17 札幌) 特別講演
16. 稲田有史：皮弁による再建. 第3回日本重度四肢外傷セミナー (2011.7.16-17 札幌)
17. 稲田有史：CRPS病態別外科的治療. 第9回整形外科痛みを語る会 (2011.6.25-26 松山) 特別講演
18. Shimada, H., Hashimoto, Y., Nakada, A., Shigeno, K., Nakamura, T.: Investigation of optimized conditions for RNA-based cellular reprogramming. ISSCR(2011.6.15-18 Toronto(Canada))
19. 稲田有史：静脈穿刺後神経障害は、穿刺が原因か否か？－日赤献血事業での末梢総和仮説の検証－. 平成23年度第1回検診医師研修会 (2011.5.26 神戸) 特別講演
20. 本多通孝：脂肪組織由来間葉系細胞の自家移植による食道ESD後狭窄の予防. 第97回日本消化器病学会総会 (2011.5.13-15 東京)

〔図書〕 (計1件)

1. 稲田有史：神経再生療法. 「神経障害性疼痛」(編:眞下節、克誠堂出版株式会社) 380-387 (2011)

〔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://www.frontier.kyoto-u.ac.jp/ca04/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

稲田 有史 (INADA YUJI)

京都大学・再生医科学研究所・非常勤講師
研究者番号：90254515

(2) 研究分担者

中村 達雄 (NAKAMURA TATSUO)

京都大学・再生医科学研究所・准教授
研究者番号：70227908

(3) 連携研究者
なし