

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 22 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670864

研究課題名(和文)自家骨髄由来単核球を用いた人工神経管による顎・顔面領域での神経再生研究

研究課題名(英文) Regeneration study of maxillofacial nerve using of artificial nerve tube with self mononuclear leukocyte (BMC) derived from bone marrow.

研究代表者

茂野 啓示 (Shigeno, Keiji)

京都大学・再生医科学研究所・その他

研究者番号：00162587

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究でイヌ骨髄由来単核球(BMC)を宿主より採取し神経損傷部に等研究室で開発した人工神経管(P.G.A.コラーゲンチューブ)とともに用いることによりこれまで再生が困難とされてきた顎・顔面領域の運動及び知覚を司る三叉神経対し神経再生の、速度及び質の向上を図れる事が確認できた。またこの実験により神経再生治癒の際に出現する「痛み-再生痛」をできるだけ抑制し速やかな神経再生を招来させることも確認できた。

研究成果の概要(英文)：We were able to confirm that the trigeminal nerve which controlled difficulty and the maxillofacial which had been done, the exercise of maxillofacial and perception corresponded, and regeneration could provide improvement of speed of the nerve regeneration and the quality until now by gathering mononuclear leukocyte (BMC) derived from dog marrow than a host in this study, and using it for nerve damage region with an artificial neural tube (P.G.A. collagen tube) which We developed in a laboratory. In addition, We were able to confirm that We restrained "a pain - regeneration pain" to develop in the case of neurologic regeneration healing by this experiment as much as possible and bring about prompt nerve regeneration.

研究分野：医歯薬学

キーワード：人工神経管 PGA-コラーゲンチューブ 骨髄由来単核球(BMC) 再生痛 神経再生実験 神経再生の質

## 1. 研究開始当初の背景

これまで再生が困難とされてきた顎・顔面領域の運動及び知覚を司る三叉神経に対し、我々は新しく開発した合成高分子+コラーゲン複合材料 (PGA-コラーゲンチューブ:人工神経管) と in situ Tissue Engineering の手法を用いることにより、大型動物(イヌ)を用いた動物実験で良好な神経再生を証明し、さらに一般臨床において顎・顔面外科領域の神経損傷に対し、一定の治療成果を上げてきた。これまで下顎智歯抜歯時、歯科用インプラント埋入時、また、腫瘍切除の際の当該三叉神経損傷が原因で起きていた神経因性疼痛(特に難治性疼痛 いわゆる CRPS)や運動障害に対し、我々の開発した人工神経管を用いることで、一応の臨床成果が得られることがわかった。これらの実績に基づき、従来の合成高分子+コラーゲン複合体である人工神経管に自己骨髄由来単核球(BMC)を内包させ、これを神経損傷部と置き換えることにより、より早く、より緻密な運動、知覚神経や混合性神経再生を生来させ、早期の治療に用いること。ひいては早期に一般臨床に用いることを目的とする。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、脊髄損傷や心筋梗塞患者で有効と見られている骨髄由来単核球(BMC)を宿主より採取し神経損傷部に人工神経管とともに用いることにより、神経再生の速度、質の向上を図り、いち早く顎・顔面外科領域の一般臨床に用いることを主目的とする。

当研究室において開発された「人工神経管 PGA-Collagen tube」は、既に約 300 例整形外科領域において末梢神経再生治療に用いられ良好な結果が得られている。また、イヌ

下顎神経再生実験 (in press) においても同様に良好な結果が得られている。しかし被損傷領域の神経再生は長期の治療期間を必要とし、また治療の際に出現する「痛み-再生痛」をできるだけ抑制し、速やかな神経再生を招来させることを目指した研究である。

## 3. 研究の方法

1) ビーグル犬の下顎骨頬側部を下顎管走向部上部で一部切除及び若木骨折により骨扉を作成し、下顎神経を露出させる。

1. ビーグル犬の下顎口腔底部、下顎骨に沿って切開を行い、舌下神経を露出させる。

1-2. 電気生理学的手法を用い、下顎神経走行部及び舌下神経走行部の正常な状態を評価する。(歯及び歯肉を含め評価する。) また、舌の運動機能及び味覚の発現に対しても評価を行う。

1-3. このビーグル犬の下顎神経を約30mm切除し、骨髄由来単核球(BMC)を含浸させた人工神経管で切除部を連結する。(12頭のイヌを用いる。) 対側を対照側とする。

1-4. 同じビーグル犬で舌下神経を約30mm切除し、骨髄由来単核球(BMC)を含浸させた人工神経管で切除部を連結する。

1-5. 骨髄由来単核球(BMC)の分離培養を行い、適正な移植量を精査する。

1-6. 骨髄由来単核球(BMC)の創傷治癒促進メカニズムを細胞工学的手法を用い検討する。

1-7. 骨髄由来幹細胞応用実験とのベンチマークの比較。

1-8. 顔面神経、および舌下神経の再生実験において、顔面神経は知覚及び運動を司る混合性の神経で頭蓋底を出て内耳孔より骨中に入り下顎後窩より前方に出て表情筋を支配

する。また舌下神経は運動を司る神経で、その走行部位は内頸動静脈に沿って舌根部より舌筋に分布する。これはやはり部位的に非常に難易度の高い部位となるため、既存の人工神経管をさらに強度を増しかつ細い材質が必要となる。このための人工神経管も作製する。

1-9. これら実験を行ったイヌを3ヶ月後(4頭)、6ヶ月後(4頭)、10ヶ月後(4頭)、12ヶ月後(4頭)の4群に分け、電気生理学的及び施術部支配神経領域の血流変化や運動機能等を評価した後、病理組織学的検討を行い神経再生の状況を確認する。

2-1. 顔面神経再生後の長期予後について組織学的、神経生理学的及び運動機能等の検証を行い、神経再生の確認が終わり次第、引き続き再生した舌下神経の支配領域の回復も神経生理学的に評価する。また骨髄由来単核球(BMC)応用の臨床効果の確認と安全性の評価ができれば、臨床応用を検討する。

2-2. 顔面神経については、様々な表情筋を支配する神経枝に対して再生実験を行う。舌下神経については再生実験の成功例が得られれば、臨床応用をできるだけ早期に考える。

#### 4. 研究成果

当研究室で開発し臨床応用されているPGA-コラーゲンチューブの人工神経管を用いた神経再建は2002年より、現在までに300症例400本以上の臨床応用実績がある。主に指や四肢の外傷性神経損傷Neurosurgery 55:640-648, 2004)であるが、2005年より顎、顔面領域にも応用し始めている。本研究はさらに広範囲の顎骨内及び顔面、表情筋、咀嚼筋、その他口腔軟組織内での神経再建を目指

す研究である。また、何らかの顎顔面損傷により顎、顔面組織を欠損した患者は三叉神経末枝の切断や切除により、口腔内の諸組織及び顔面皮膚の感覚が喪失し、様々な痛みや麻痺感、機能障害またそれらを伴う不定愁訴に悩まされていた。(特に難治性神経因性疼痛

いわゆるCRPS)知覚のみならず運動機能の障害により発音や嚥下、摂食障害も招来されている。この知覚及び運動神経を再生組織工学の手法と細胞工学の手法でより早く、成熟組織として再生させることを目指す。

今回用いる自己骨髄由来単核球(BMC)は、脊髄損傷や心筋梗塞の治療に応用され一定の成果があがっていることが田村らにより報告されている。**特筆すべきは骨髄由来単核球(BMC)の応用は、骨髄液より簡便に分離でき、採取より1時間以内で移植処置に入れる。このことにより神経損傷を陳旧化させず、早期に神経再生の処置が行へまた神経再生を飛躍的に促進する可能性を秘めている。つまり難治性神経因性疼痛 いわゆるCRPSの根絶や再生痛の発現の抑制効果も期待できる。これらの骨髄由来単核球(BMC)のもつ治癒促進能力の発現メカニズムの精査もこの実験に含まれる。**

数の多いこの領域の神経因性疼痛に対する全く新しい治療法として、本研究の成果には大きな期待が寄せられている。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計8件)

1. 中村達雄: 人工神経・人工臓器 44: 164-168 (2015)
2. 照光 真、瀬尾憲司、松澤 等、稲田有史、中村達雄、茂野啓示、渡辺将樹、鈴木清隆、中田 力: 三叉神経障害に対す

- る PGA-C tube による生体内再生治療の高分解能神経 MRI を用いた予後評価 . *Peripheral Nerve* **26**: 71-79 (2015)
3. Hamaji, M., Nakamura, T.: A successful attempt to prevent postoperative adhesions between the mediastinum and a lung: a canine model. *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* **63**:483-4 (2015)  
doi:10.1007/s11748-015-0563-6.
  4. Hamaji, M., Kojima, F., Koyasu, S., Nobashi, T., Tsuruyama, T., Date, H., Nakamura, T.: A rigid and bioabsorbable material for anterior chest wall reconstruction in a canine model. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* **20**:322-8 (2015)  
doi:10.1093/icvts/ivu416.
  5. Tamura, K., Harada, Y., Kunimi, M., Takemitsu, H., Hara, Y., Nakamura, T., Tagawa, M.: Autologous bone marrow mononuclear cell transplant and surgical decompression in a dog with chronic spinal cord injury. *Exp Clin Transplant.* **13**:100-5 (2015) doi:10.6002/ect.2013.0237.
  6. Ichihara, S., Facca, S., Liverneaux, P., Inada, Y., Takigawa, T., Kaneko, K., Nakamura, T.: Mechanical properties of a bioabsorbable nerve guide tube for long nerve defects. *Chir Main.* **34**: 186-192(2015)  
doi:10.1016/j.main.2015.05.004.
  7. Nakamura, H., Matsuno, T., Hashimoto, Y., Nakamura, T., Mataga, I.: Comparison of a hydroxyapatite-coated and an anodic oxidized titanium implant for experimentally induced peri-implantitis: Macroscopic and novel radiographic evaluations in a canine model. *Journal of Hard Tissue Biology* **24**: 347-356 (2015)  
<http://doi.org/10.2485/jhtb.24.347>
  8. Hiwatashi, N., Hirano, S., Mizuta, M., Kobayashi, T., Kawai, Y., Kanemaru, SI., Nakamura, T., Ito, J., Kawai, K., Suzuki, S.: The efficacy of a novel collagen-gelatin scaffold with basic fibroblast growth factor for the treatment of vocal fold scar. *J Tissue Eng Regen Med.* (2015) doi: 10.1002/term.2060. [Epub ahead of print]
- 〔学会発表〕(計 28 件)
1. Shigeno, K., Shionoya, Y., Kaneko, M., Wakatsuki, M., Nakada, A., Honda, M., Kojima, F., Sato, T., Inada, Y., Kanemaru, S., Nakamura, T.: Verify the effect on nerve regeneration from increased blood flow in the nerve control area due to stellate ganglion blocks. 41th Annual ESAO Congress (2014.9.17-20 Roma)
  2. Kaneko, M., Wakatsuki, M., Shigeno, K., Nakada, A., Nakamura, T.: Bone repairing in the canine frontal sinus implanted octacalcium phosphate and collagen composite (II). 41th Annual ESAO Congress (2014.9.17-20 Roma)
  3. 中村達雄: 末梢神経の再生医療と *in situ* Tissue Engineering (生体内再生) . 第 37 回日本バイオマテリアル学会大会 (2015.10.9-10 京都)
- 〔図書〕(計 2 件)
1. 稲田有史、諸井慶七朗、中村達雄、森本茂: CRPS に対する手術治療-病態別治療と生体内再生治療-「複合性局所疼痛

症候群(CRP)をもっと知ろうー病態・診断・治療から後遺障害診断までー」( 編者：堀内行雄、発行所：株式会社 全日本病院出版会、全 129 頁) 87-91 ( 2015 )

2. 稲田有史、中村達雄：『生体内再生治療【in-situ tissue engineering】の適応性と有効性は？』、8.臨床に役立つ神経障害性痛の理解、(株)文光堂、271-273、2015年5月25日、全300頁

〔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

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

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

茂野 啓示 ( SHIGENO KEIJI )

京都大学・再生医科学研究所・非常勤講師

研究者番号：00162587

### (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