

令和 元 年 6 月 16 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10808

研究課題名(和文)末梢神経損傷に対する多血小板血漿療法の効果に関する研究

研究課題名(英文)Effect of local administration of platelet-rich plasma (PRP) on peripheral nerve regeneration.

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) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：採血により得られた成長因子を組織再生に利用する新治療法：多血小板血漿療法を末梢神経損傷治療に応用することを目指し、研究計画を立案した。(1)非臨床proof of conceptの取得、(2)動物モデルを使用した作用メカニズムの解明と至適投与条件検討、(3)臨床研究(安全性試験)を行った。動物実験ではPRP投与群が神経再生が優り、シュワン細胞の増殖率が高いことを明らかにした。(3)遊離神経移植時単回投与安全性試験を5例行った。PRP投与による有害事象は全例で認められなかった。PRPは末梢神経損傷治療に安全に使用することができ、その有効性も示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

再生医療法の定める第3種再生医療として、末梢神経損傷に対し、新しい治療法：PRP療法を提案できた。投与により神経再生を促進することが明らかとなり、成績向上につながる治療法として期待できる。末梢神経損傷は近年、高齢者における成績不良が問題となっており、よりよい機能の再獲得を目指す新しい治療として貢献できる。

研究成果の概要(英文)：We studied about the effect of local administration of platelet-rich plasma (PRP) on peripheral nerve regeneration.(1)Acquire no-clinical proof of concepts of PRP therapy for nerve regeneration.(2)Animal examination to investigate mechanisms of PRP effect for peripheral nerve regeneration.(3)Clinical trial.Results:(1)(2)Local PRP administration increases the regenerative axon diameter and the regenerative axon number at the distal portion. PRP accelerates SC proliferation in vivo.(3)5 cases have experienced. Postoperatively, early neuropathic pain relief and good functional recovery were obtained with no PRP-related adverse events. This study demonstrates the therapeutic potential of intraoperative PRP to enhance the healing process of nerve injury in the acute phase and to decrease the neuropathic pain.

研究分野：末梢神経再生

キーワード：多血小板血漿療法 末梢神経再生 シュワン細胞

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19(共通)

### 1. 研究開始当初の背景

外傷性末梢神経損傷は年間約 30 万人に発生する。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るが、採取部の感覚障害や移植神経の再生能の限界などの問題点があり必ずしも最善の治療ではない。さらに末梢神経再生能力には損傷から修復までの時間、年齢や基礎疾患などの患者背景が影響し、満足する機能回復が得られるケースの方が少ないのが現状である。そのため、末梢神経の再生能を高める新しい技術が必要である。

神経再生を促進する方策として、軸索伸長速度を速める、シュワン細胞の活性化、神経血流の増加などが考えられ、国内外で研究が進められているが未だ実用化に至らない。再生軸索の伸長には、標的器官より逆行性輸送されてくる成長因子やシュワン細胞から分泌される栄養・接着因子とシュワン細胞の相互作用、神経細胞体からのシグナル伝達が関与している。神経の損傷直後にはこれらの栄養因子や遺伝子発現が促進され再生へと向かう。そのため損傷直後に成長因子を補充することにより神経再生能を高められる可能性がある。

損傷神経への成長因子補充方法として我々が着目したのは、Platelet-rich plasma(多血小板血漿:PRP)である。PRP は、全血を遠心分離して得られる「血小板を多量に含有する血漿分画」と広義に定義される。PRP 治療は血小板と血漿が担持する成長因子を濃縮し局所に投与することで組織再生を促進する新しい自己血輸血技術であり、PRP に含まれる成長因子や接着因子・糖蛋白が生体内でバランスを保った状態で複合的に組織損傷に作用することによるものと考えられている。創傷治癒や歯科口腔外科領域における骨形成を目的として基礎研究と臨床応用がはじまり、近年では整形外科領域やスポーツ障害に対しても欧米を中心に臨床応用が進んでいる。本邦では、2014 年に制定された再生医療法において PRP が再生医療の範疇に入り、今後は臨床・基礎研究分野での使用が加速していくと考えられるが、PRP は臨床研究が先行し基礎研究においては至適使用条件や組織における作用機序についてほとんど調べられていないことが問題である。つまり「臨床症状は改善させるが、何に効いているかはわかっていない」というのが現状である。末梢神経に対する効果についても、動物実験でシュワン細胞の増殖に PRP が関与している可能性が示唆されているが、軸索伸長との関わりや髄鞘形成を促進して神経の成熟に関与しているか否かなど作用点とそのメカニズムは明らかになっておらず、実用化に向けてこれらの残る課題を解決していく必要がある。

### 2. 研究の目的

採血により得られた成長因子を組織再生に利用する新治療法: PRP 療法を末梢神経損傷治療に応用することを目的とし、①非臨床での有効性(Proof of concept:POC)を確認し、②作用メカニズムを検証した上で、③臨床第 1 相試験を行う。臨床が先行し、十分な基礎研究が行われてこなかった PRP 療法のエビデンス構築を目指す。

### 3. 研究の方法

家兎遊離神経移植モデルを用い、末梢神経再生に対する PRP の効果を調査する(PRP 効果に対する非臨床 POC 取得)。同モデルの再生神経の免疫組織学的検討により PRP が再生神経組織に与える影響を調べる。上記結果を受け、臨床試験プロトコルを作成し、第 1 相臨床試験(遊離神経移植に対する PRP 治療の安全性試験)を行う。

### 4. 研究成果

#### ①非臨床での有用性:

臨床応用に即した動物モデル(家兎遊離神経移植モデル)を作成し、PRGF endoret® system 遠心機(PRGF system III, BTI 社, Spain)で作成した PRP の移植時単回投与による効果を非投与群と比較した結果、組織学的評価及び電気生理学的評価において PRP 投与群では神経再生が非投与群より有意に優れていることが確認された。(図 1)

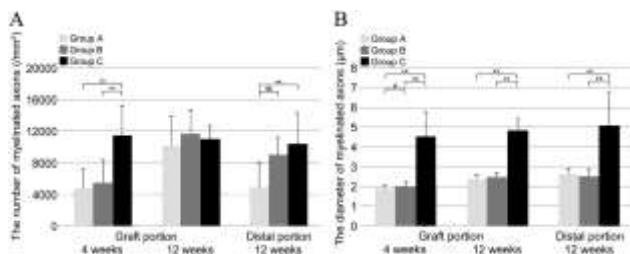


図 1. 組織学的評価. PRP 投与群で移植後 4 週における移植片内の再生軸索径の増大と、12 週における移植片遠位に到達した再生軸索数の増加を認めた。

#### ②作用メカニズムの検証:

再生神経の免疫組織学的検討を行い、生体内における PRP のシュワン細胞の増殖・活性化効果を確認した結果、PRP 投与群では非投与群よりシュワン細胞の増殖率が高く、PRP はシュワン細胞に作用して神経再生を促進しているメカニズムを明らかにした。(図 2)

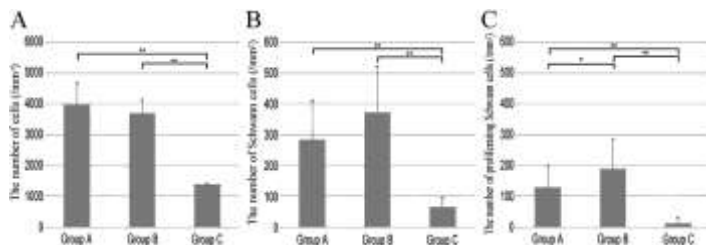


図 2. 免疫組織学的検証. PRP 投与群で移植後 4 週における移植片内のシュワン細胞増殖率の増加を認めた。

※上記①、②の成果は査読付き国際学術雑誌に採択され、公表済みである。

### ③臨床第 1 相試験：

筑波大学再生医療等認定委員会での審査と関東厚生局の承認を受け、2017 年 7 月より同治療の臨床第 1 相試験(末梢神経損傷患者に対する術中 PRP 単回局所投与の安全性試験)を筑波大学附属病院にて開始した。(図 3)

報告時現在 5 例に実施され、全例安全性試験の追跡期間である 1 年が経過しているが PRP 投与に伴う有害事象の発生は認めておらず、術中 PRP 局所投与の安全性が確認された。また、術後の神経再生についても概ね良好な治療成績(神経因性疼痛の軽減、知覚の再生、筋力の回復)が得られている。

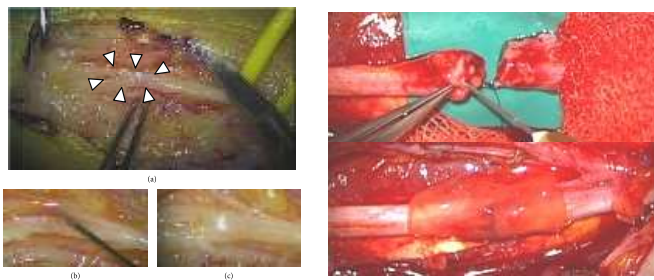


図 3. 術中 PRP 単回局所投与. 左) 指神経圧挫損傷患者に対する神経周膜内投与. 右) 尺骨神経断裂患者に対する神経周膜内投与および修復部周囲局所投与.

※上記③の成果の一部は査読付き国際学術雑誌に症例報告として採択され、公表済みである。

## 5. 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計 2 件)

Ikumi Akira, Hara Yuki, Okano Eriko, Kohyama Sho, Arai Norihito, Taniguchi Yu, Sugaya Hisashi, Yoshioka Tomokazu, Kanamori Akihiro, Yamazaki Masashi. Intraoperative Local Administration of Platelet-Rich Plasma (PRP) during Neurolysis Surgery for the Treatment of Digital Nerve Crush Injury. Case Rep Orthop. 2018 Sep 20;2018:1275713. doi: 10.1155/2018/1275713. 査読あり

Ikumi Akira, Hara Yuki, Yoshioka Tomokazu, Kanamori Akihiro, Yamazaki Masashi. Effect of local administration of platelet-rich plasma (PRP) on peripheral nerve regeneration: An experimental study in the rabbit model. Microsurgery. 2018 Mar;38(3):300-309. doi: 10.1002/micr.30263. 査読あり

### 〔学会発表〕(計 3 件)

Akira Ikumi, Yuki Hara, Yu Taniguchi, Hisashi Sugaya, Tomokazu Yoshioka, Akihiro Kanamori, Masashi Yamazaki. Effect of Local Administration of Platelet-rich Plasma (PRP) on Peripheral Nerve Regeneration: An Experimental Study in The Rabbit Model. Orthopedic Research Society 2018 Annual Meeting, March 2018, New Orleans, LA.

井汲 彰, 原 友紀, 谷口 悠, 久保田 茂希, 菅谷 久, 吉岡 友和, 金森 章浩, 山崎 正志. PRP を用いた組織再生 理論と実際 自家血由来多血小板血漿(PRP)による末梢神経再生促進メカニズムの検証. 日本整形外科学会基礎学術集会, 2017 年 10 月, 沖縄.

井汲 彰, 原 友紀, 谷口 悠, 吉岡 友和, 金森 章浩, 山崎 正志. 家兎新鮮末梢神経損傷に対する多血小板血漿(PRP)による神経再生促進効果. 日本整形外科学会基礎学術集会, 2016 年 10 月, 福岡.

### 〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

○取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号(8桁):

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名:井汲 彰

ローマ字氏名:Ikumi Akira

※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。