

advancement in syndromic  
craniosynostosis. *Plast Reconstr Surg*  
2010;126:973-981

19. Cohen SR, Boydston W, Burstein FD,  
et al. Monobloc distraction osteogenesis  
during infancy: report of a case and  
presentation of a new device. *Plast  
Reconstr Surg* 1998;101:1919-1924

20. Toth BA., Chin M. Distraction  
osteogenesis and its application to the  
midface and bony orbit in  
craniosynostosis syndromes. *J Craniofac  
Surg* 1998;9:100-113

21. Cohen SR. Internal craniofacial  
distraction with biodegradable  
devices:early stabilization and protected  
bone regeneration.*J Craniofac Surg*  
2000;11:354-356

F. 健康危険情報 特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Shinji Kobayashi, Takeshi Nishiouri,  
Jiro Maegawa, Takashi Hirakawa,  
Toshihiko Fukawa.

A novel craniofacial osteogenesis  
distraction system enabling control of  
distraction distance and vector for the  
treatment of syndromic craniosynostosis

*J of Craniofacial Surgery* 2012 23(2)  
422-425

2. Shinji Kobayashi, J Maegawa Ear  
elevation using two-tiered costal cartilage  
on the same side as the reconstructed

framework. *J Craniofac Surg.* 2011  
22(5):1796-9.

3. Shinji Kobayashi,, Mari Tanaka, Yukie  
Ohashi,, Yukichi Tanaka, Jiro Maegawa.  
Functional reconstruction of epignathus  
with cleft palate using part of a mature  
teratoma. *The Cleft Palate-Craniofacial J*  
2011 in press

#### 2. 学会発表

1. 小林眞司 鮑智伸 錦織岳史 前川  
二郎 平川崇 府川俊彦

延長距離と方向を制御できる新しい顔面  
骨延長システム 第 54 回 日本形成外  
科学会総会 徳島 2011.4.13-15

2. 菅原順 小林眞司 杉本孝之  
中顔面の低形成に対し内固定型骨延長  
器を用いた1例 第7回 Craniosynostosis  
研究会 東京 2011.7.16

3. 杉本孝之 小林眞司 菅原順 上野  
龍 伊藤進

Craniosynostosis syndrome における  
Cervical spine anomalies の検討 第7回  
Craniosynostosis 研究会 東京  
2011.7.16

4. 伊藤進, 関戸謙一, 佐藤 博信, 小  
林眞司

多縫合の頭蓋縫合早期癒合症に対する、  
前方および側方への骨延長器法手術  
日本脳神経外科学会第70回学術総会  
横浜 2011.10.

#### G.知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし

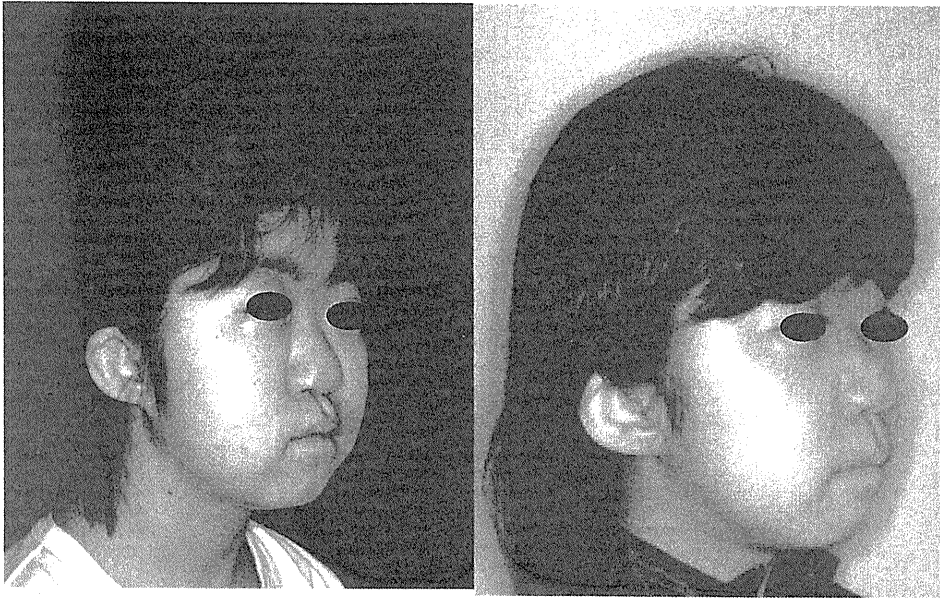


図1 12歳で顔面骨延長法を行った症例  
従来法でも12以降に顔面骨延長法を行った場合は1回の手術で済む。  
左:手術前12歳 右:手術後15歳

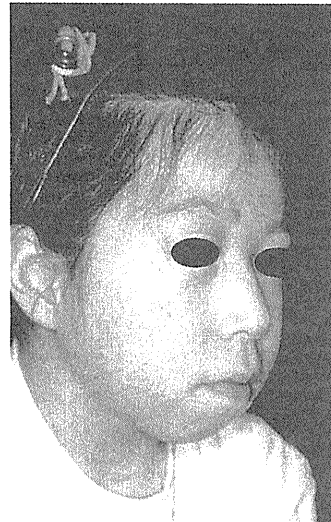
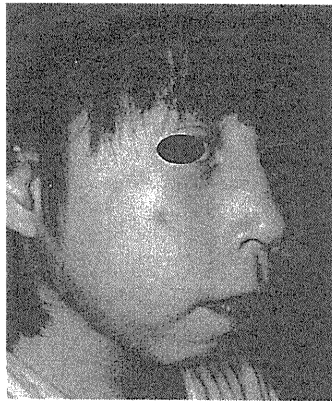
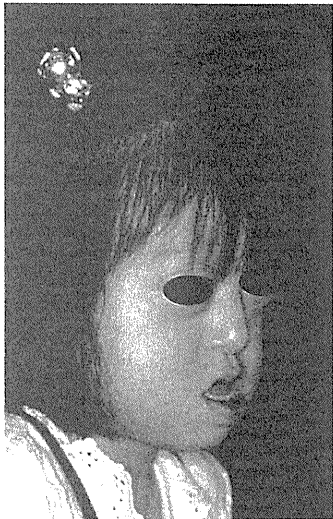




図2 就学前に顔面骨延長法を行った症例

5歳時に骨延長を行ったが、顔面骨が成長しないために、18歳時には再び相対的に顔面が陥凹しているように見える。18歳時に再手術を行い19歳時には良い顔貌が得られた。このように従来法では少なくとも2回以上の骨延長術を必要とする。

前ページ上左:1回目手術前5歳 上中央:1回目手術後6歳 上右:1回目手術後8歳 下左:2回目手術前18歳 下右:2回目手術後19歳

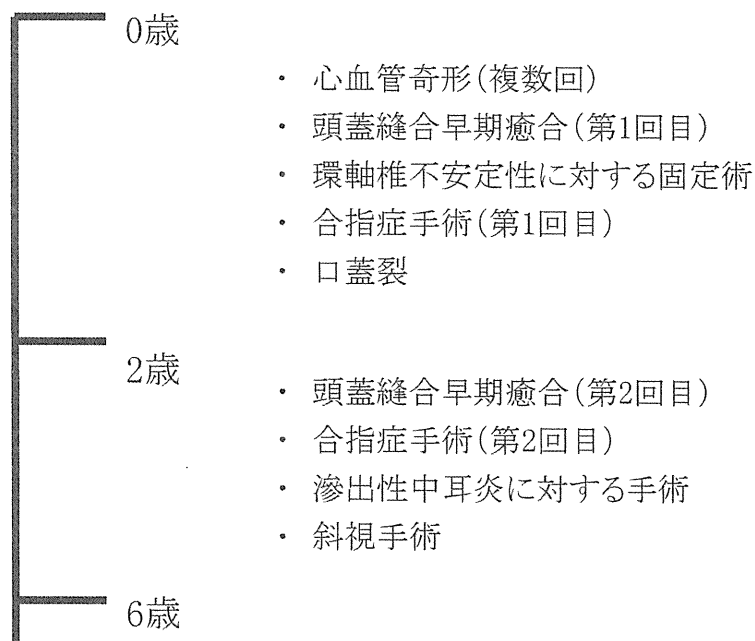


図3 6歳までのアペール症候群に対する代表的な手術

6歳まで多くの手術を受ける必要がある。さらに、6歳以降でも複数の手術を受けなければならない。

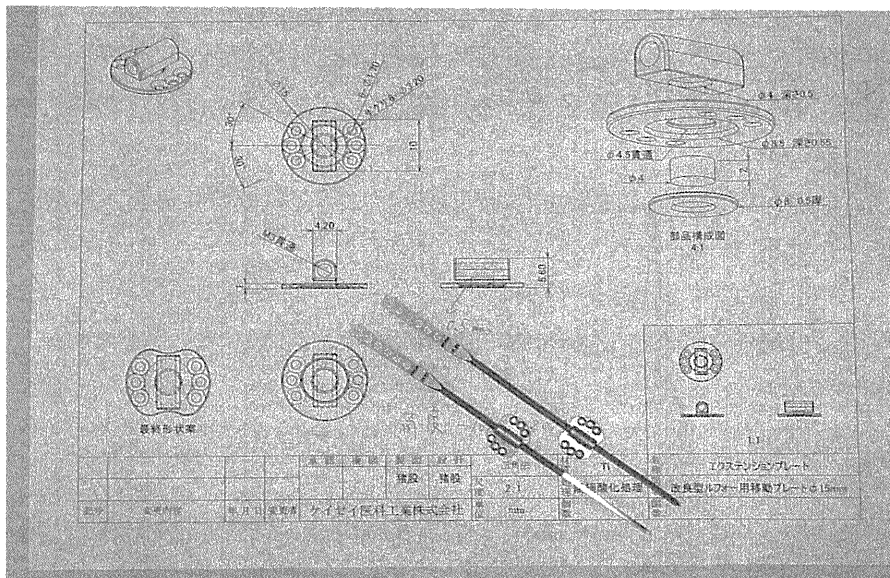
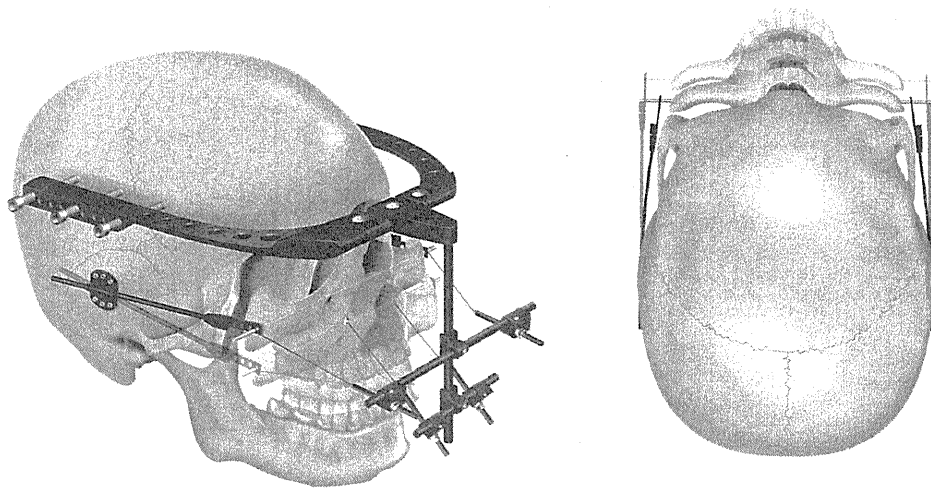


図4 新しいハイブリッド型顔面骨延長システム

上左:術後における延長方向の制御は創外型骨延長装置(赤色)で行い、延長距離の制御(顔面骨を押し出す)は角度可変型の創内型骨延長装置(青色)で行う。上右:創内型延長装置は、延長距離が伸びるにしたがって、側頭骨の固定位置より $-5^{\circ}$  ~  $15^{\circ}$  まで角度を変えることができる。下:新規に開発した「3次元角度可変型顔面骨延長装置」と図面



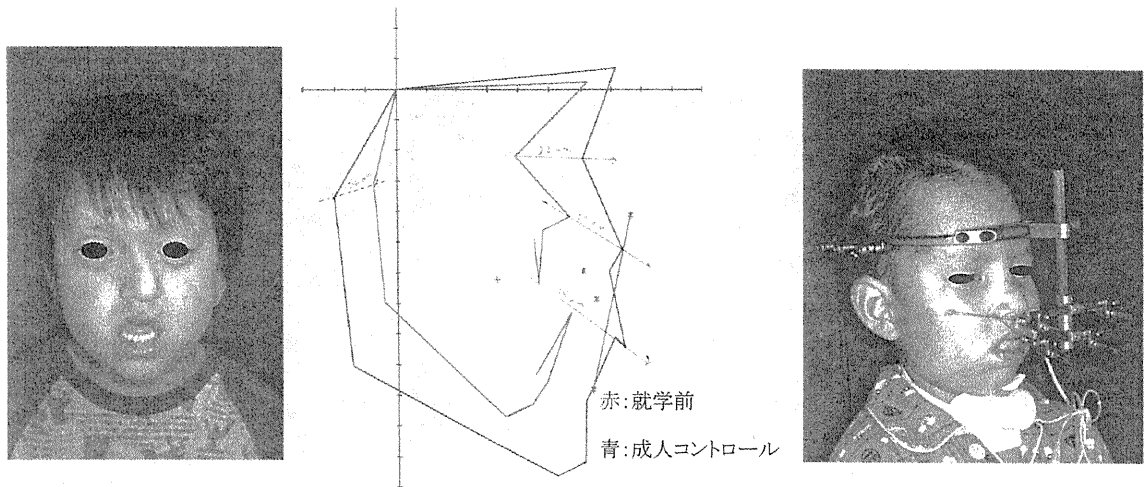


図5 症例1 クルーゼン症候群 6歳 男児

左:中顔面は陥凹しており、上下切歯間は15mmの反対咬合を認めた。鼻骨は左に偏位しており骨性および軟骨性斜鼻が明らかであった。仰向けでの睡眠時に閉塞性無呼吸を認めた。中央:プロフィログラムによる解析では、成人と比較してそれぞれ、眼窩下縁で22mm、前鼻棘で20mm、上顎中切歯で35mm後退していた。右:Le Fort III型骨切り術が行われ、「3次元角度可変型顔面骨延長装置」と連動する創外型骨延長装置が取り付けられた。その後、1日に1mmの割合で顔面骨が前方に移動された。

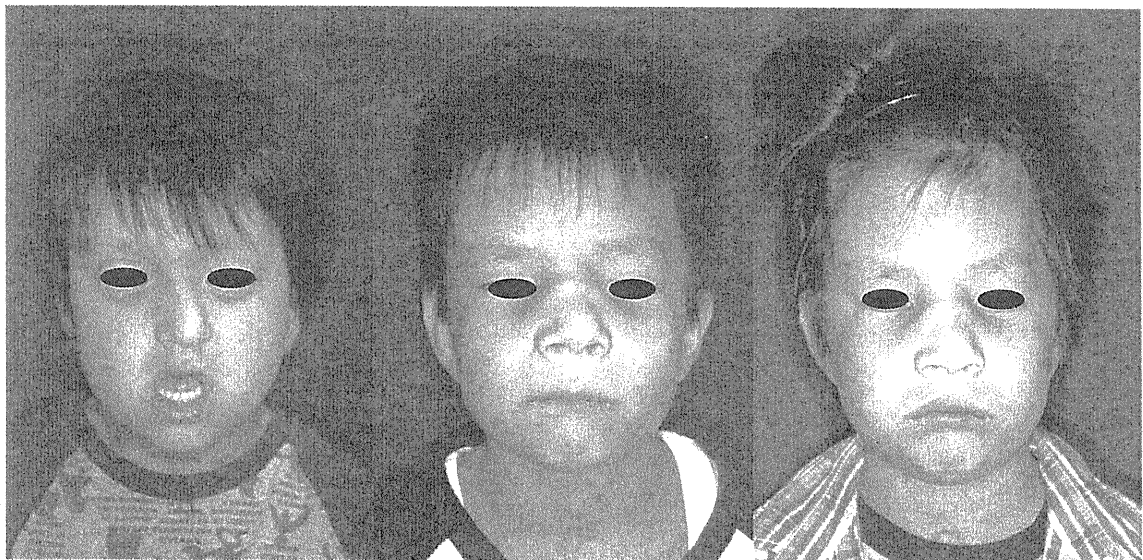




図6 術前後の顔貌

左:術前 中央:術後6ヶ月 眼窩下縁で27mm、前鼻棘で36mm 延長された。右:術後1年 過延長を考慮すると眼窩下縁、前鼻棘などの位置は良く、非常に良好な結果であった。

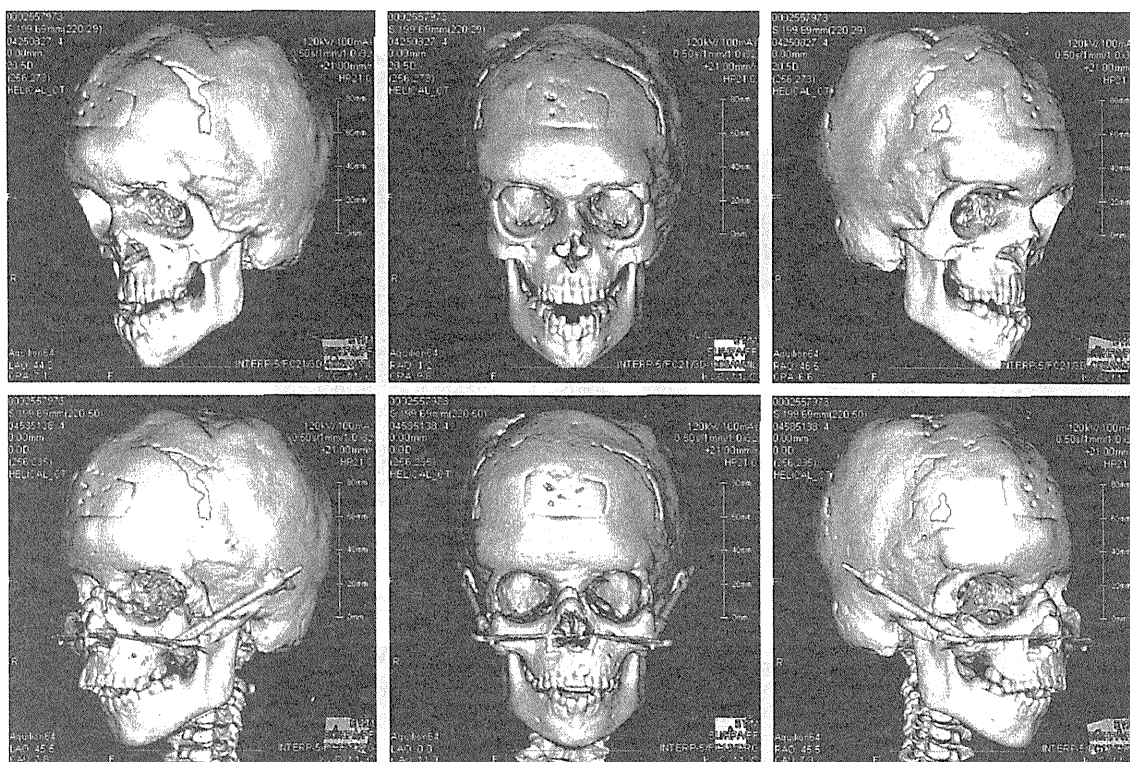


図7 術前後の3D-CT写真

上:術前 中顔面は陥凹しており、上下切歯間は15mmの反対咬合を認めた。鼻骨は左に偏位していた。下:術後2ヶ月 過延長を考慮すると眼窩下縁、前鼻棘などの位置は良く、非常に良好な結果であった。

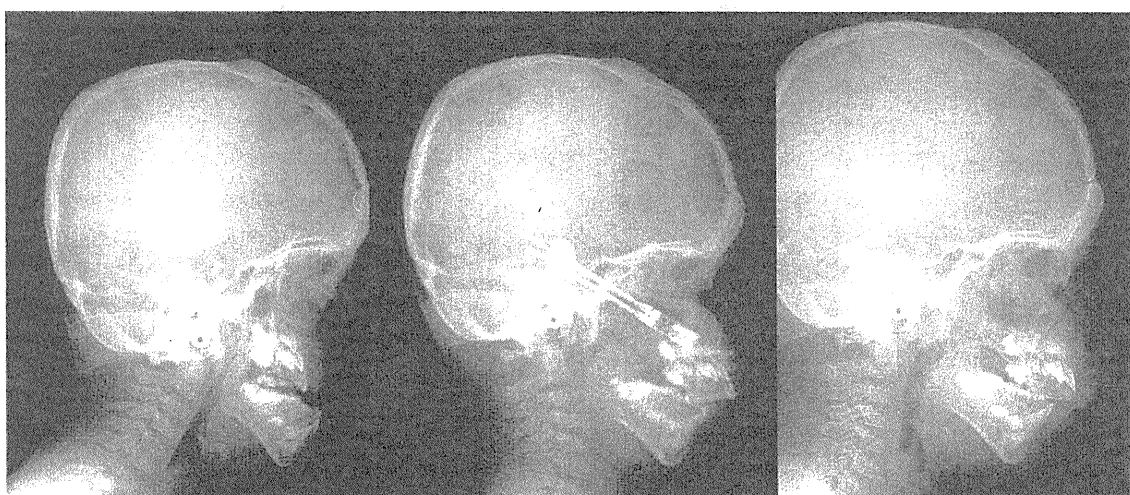


図8 術前後の側面頭部X線規格写真

左:術前 中央:術後2ヶ月「3次元角度可変型顔面骨延長装置」の抜去直前である。右:術後1年 過延長を考慮すると眼窩下縁、前鼻棘などの位置は良く、非常に良好な結果であった。

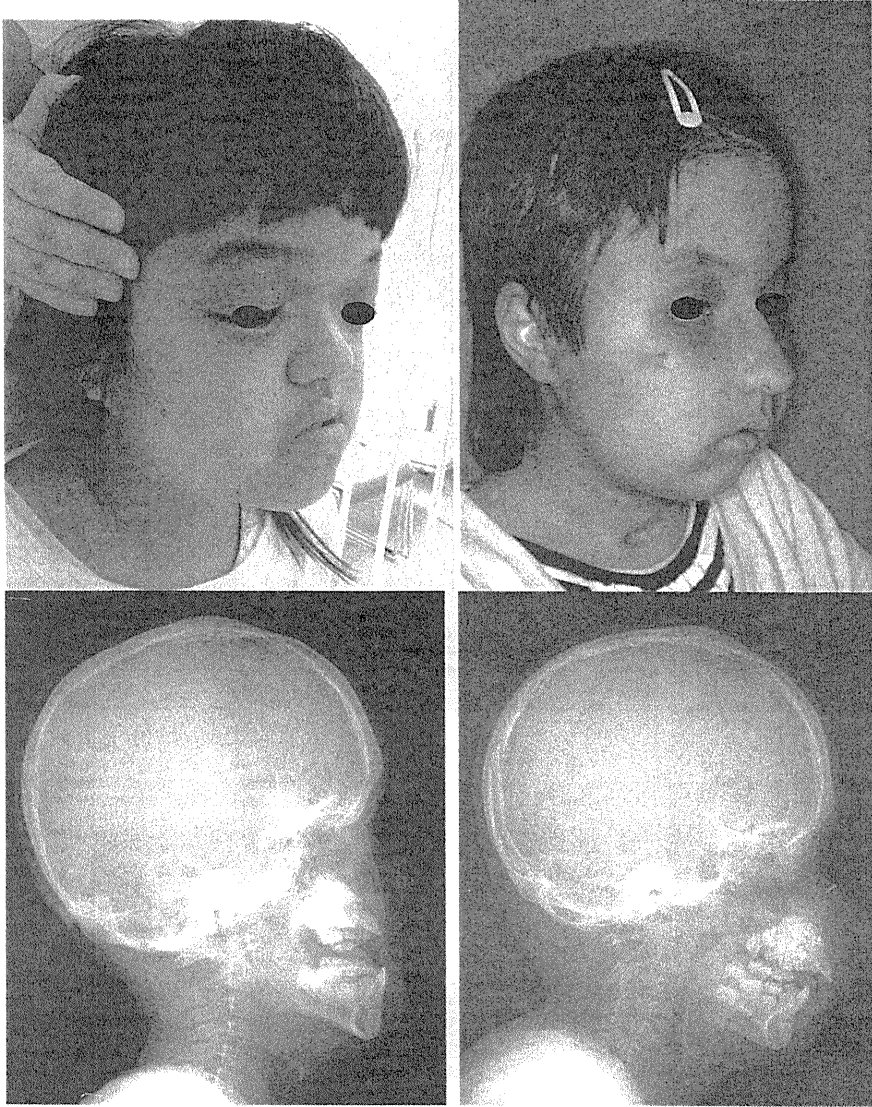


図9 症例2 クルーゾン症候群 8歳 女児

左上:中顔面は陥凹しており、上下切歯間は14mmの反対咬合を認め、仰向けでの睡眠時に閉塞性無呼吸を認めた。右上:術後6ヶ月 過延長を考慮すると眼窩下縁、前鼻棘などの位置は良い。左下:術前の側面頭部X線規格写真 右下:術後の側面頭部X線規格写真 良好な顔面形態である。





図 10 術後 1 年の顔貌

過延長を考慮すると眼窩下縁、前鼻棘などの位置は良く、非常に良好な結果であった。

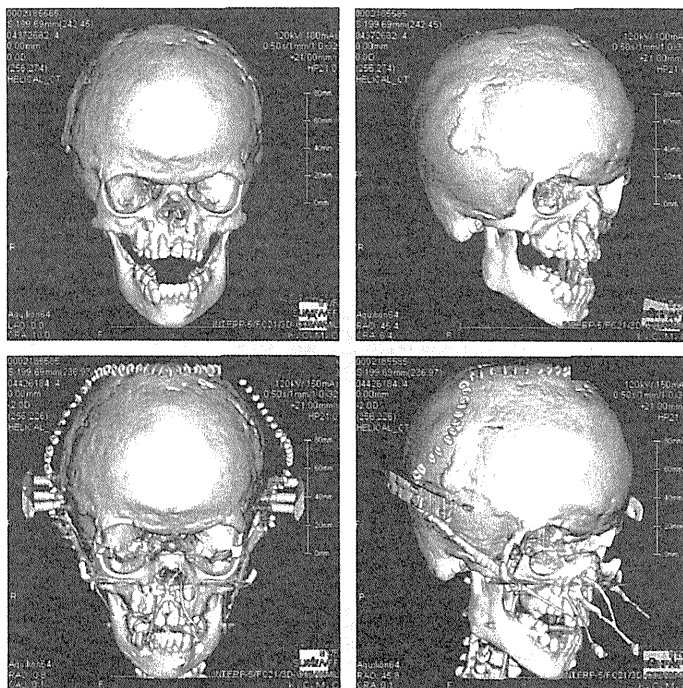


図 11 術前後の 3D-CT 写真

上:術前 中顔面は陥凹していた。下:術後 3 週間 延長中であり、10mm 延長していることがわかる。

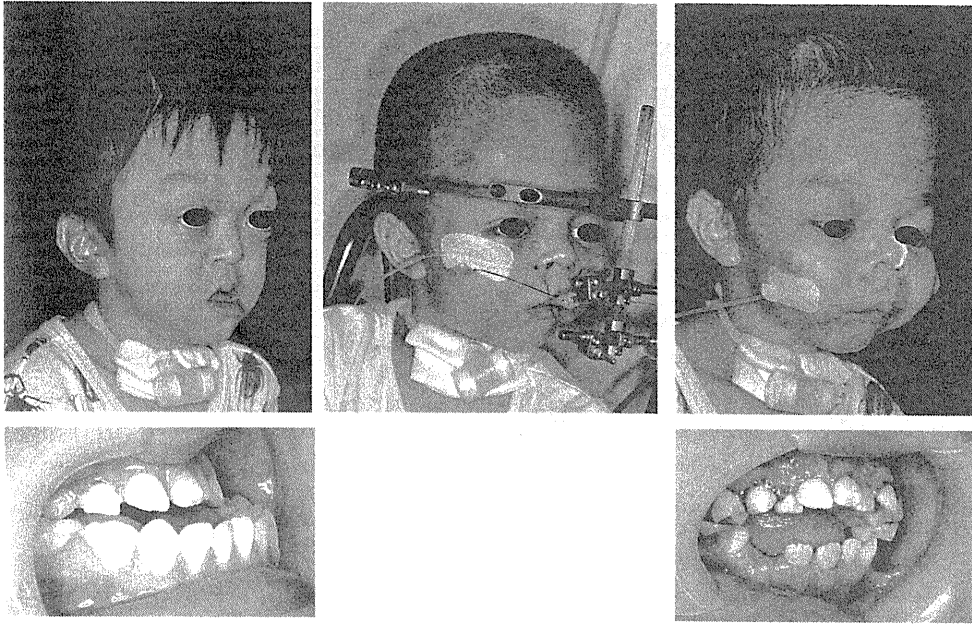


図12 症例3 クルーズン症候群 6歳 男児

左:生後から重篤な睡眠時無呼吸があり Nasal Airway で管理されていたが、2歳時に気管切開が行われた。中顔面は陥凹しており、上下切歯間は 18mm の反対咬合を認めた。中央:骨延長術が行われ、両側頬骨を貫通する K-ワイヤが挿入された。そして、K-ワイヤに「3次元角度可変型顔面骨延長装置」が取り付けられ側頭骨に固定された。その後に K-ワイヤを介して「3次元角度可変型顔面骨延長装置」と連動する創外型骨延長装置が取り付けられ手術が終了した。手術5日後より本顔面骨延長システムにより、顔面骨が延長され、1日に1mmの割合で顔面骨が前方に移動された。右:術後2ヶ月の顔貌は、過延長を考慮すると眼窩下縁、前鼻棘などの位置は良い。

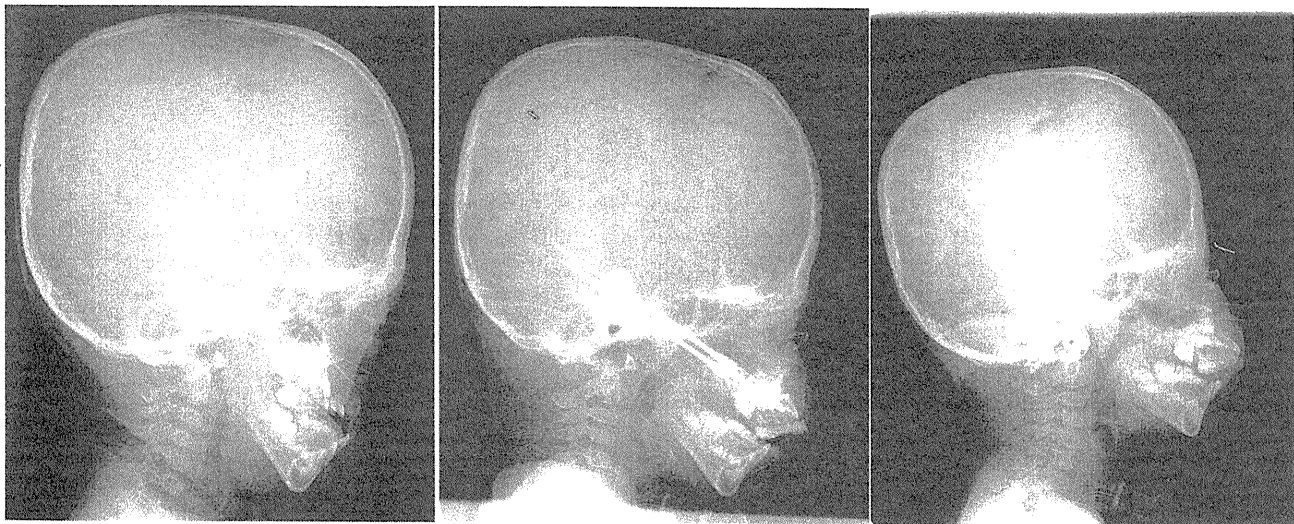


図13 術前後の側面頭部 X線規格写真

左:術前 中央:術後2ヶ月「3次元角度可変型顔面骨延長装置」の抜去直前である。右:術後9ヶ月過延長を考慮すると眼窩下縁、前鼻棘などの位置は良く、良好な結果であった。上顎骨の反時計回転は矯正歯科治療が必要である。



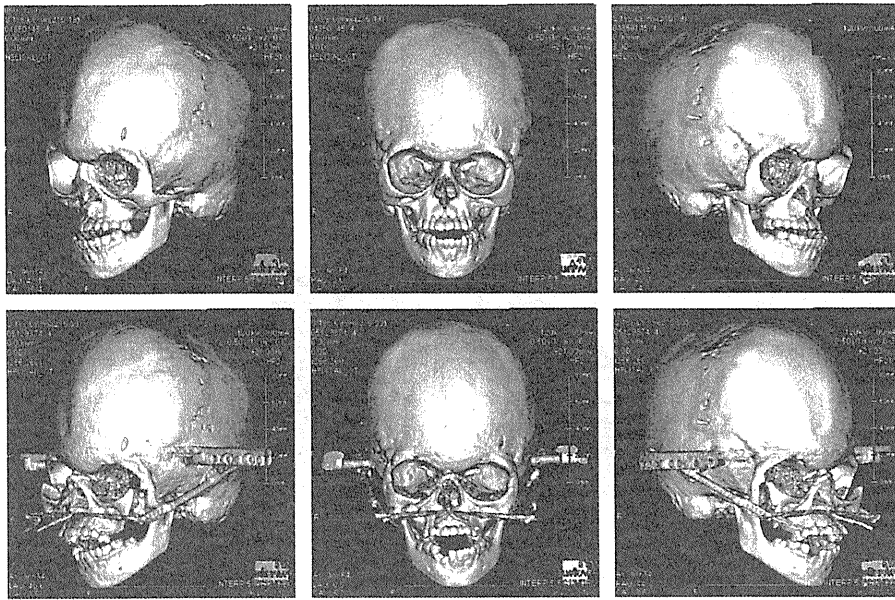
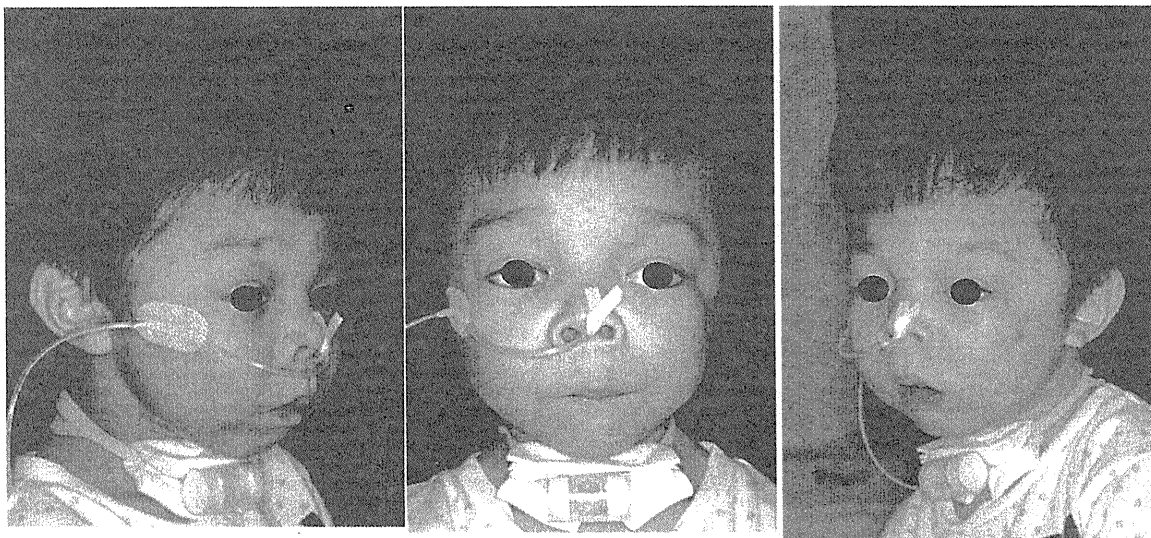


図 14 術前後の 3D-CT 写真

上:術前 中顔面は陥凹していた。下:術後 2 週間 延長中であり、すでに 10mm 延長していることがわかる。



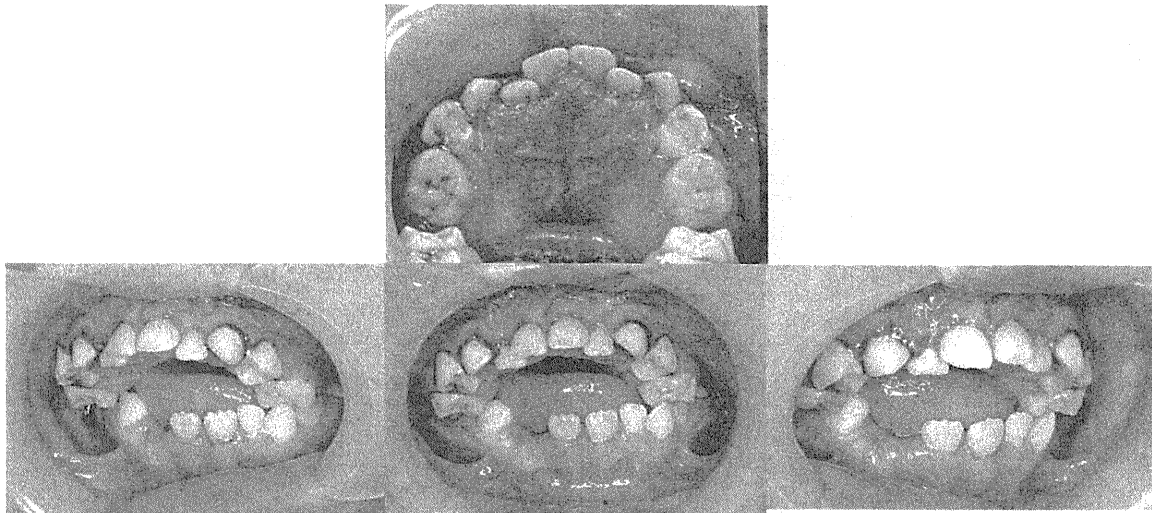


図 15 術後 1 年の顔貌と咬合

過延長を考慮すると眼窩下縁、前鼻棘などの位置は良く、非常に良好な結果であった。咬合に関しては、矯正治療が必要である。

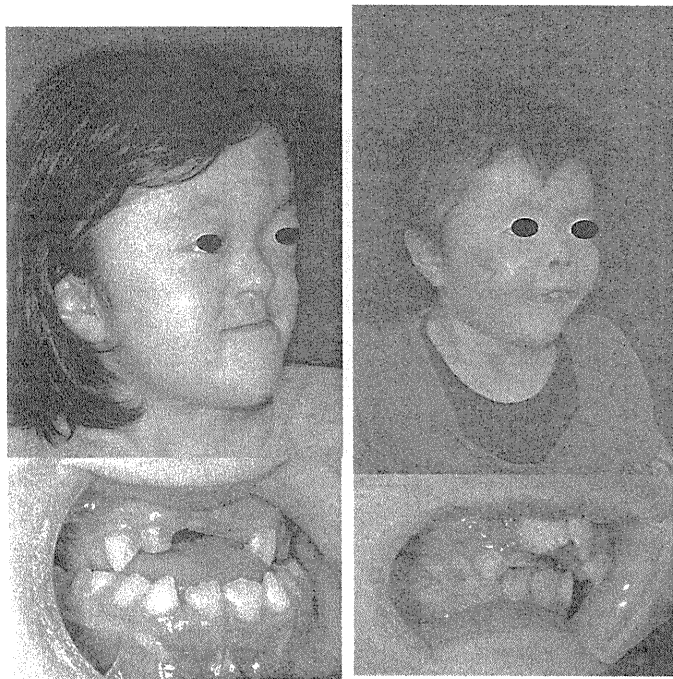


図 16 症例 4 アペール症候群 7 歳 女児

左: 中顔面は陥凹しており、上下切歯間は 16mm の反対咬合を認めた。睡眠時にいびきを認め、仰向けでは時に閉塞性無呼吸を認めた。右: 顔面骨延長術が行われ、両側頬骨を貫通する K-ワイヤが挿入された。そして、K-ワイヤに「3 次元角度可変型顔面骨延長装置」が取り付けられ側頭骨に固定された。その後 K-ワイヤを介して「3 次元角度可変型顔面骨延長装置」と連動する創外型骨延長装置が取り付けられた。手術 5 日後より本顔面骨延長システムにより、顔面骨が延長され、1 日に 1mm の割合で顔面骨が前方に移動された。術後 6 ヶ月の顔貌および側面頭部 X 線規格写真ではプロフィログラムによる解析では、成人と比較して眼窩下縁、前鼻棘、上顎中切歯においてほぼ同等な位置にあり、良好な過延長であった。

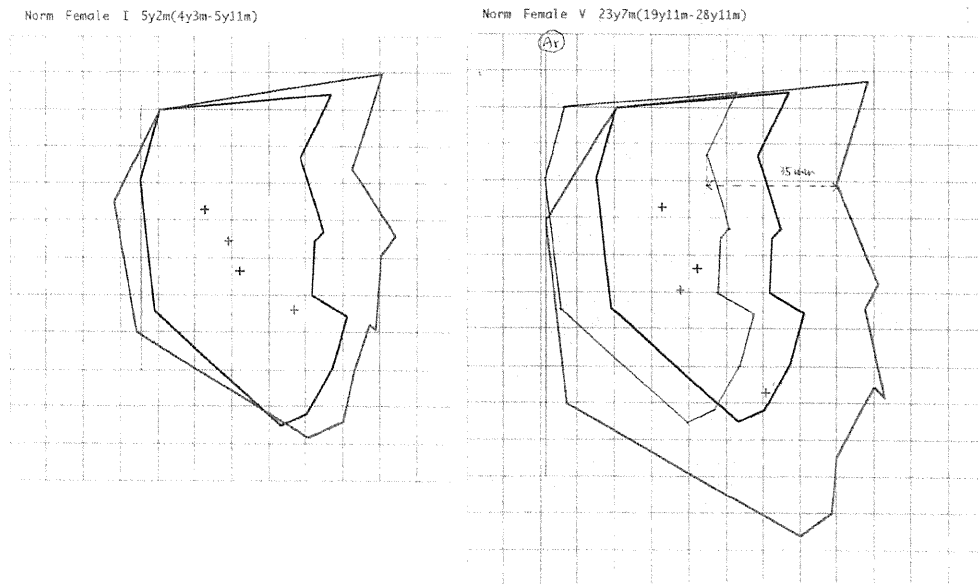


図 17 術前のプロフィログラムによる解析  
成人と比較して眼窩下縁で 35mm の延長を行う必要がある。

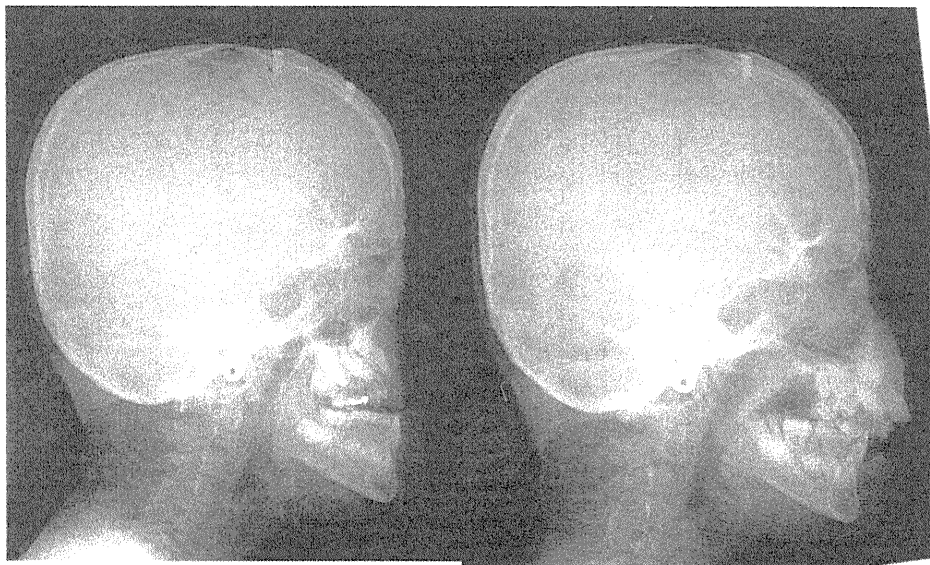


図 18 術前後の側面頭部 X 線規格写真  
左:術前 右:術後 6 ヶ月 過延長を考慮すると眼窩下縁、前鼻棘などの位置は良く、非常に良好な結果であった。

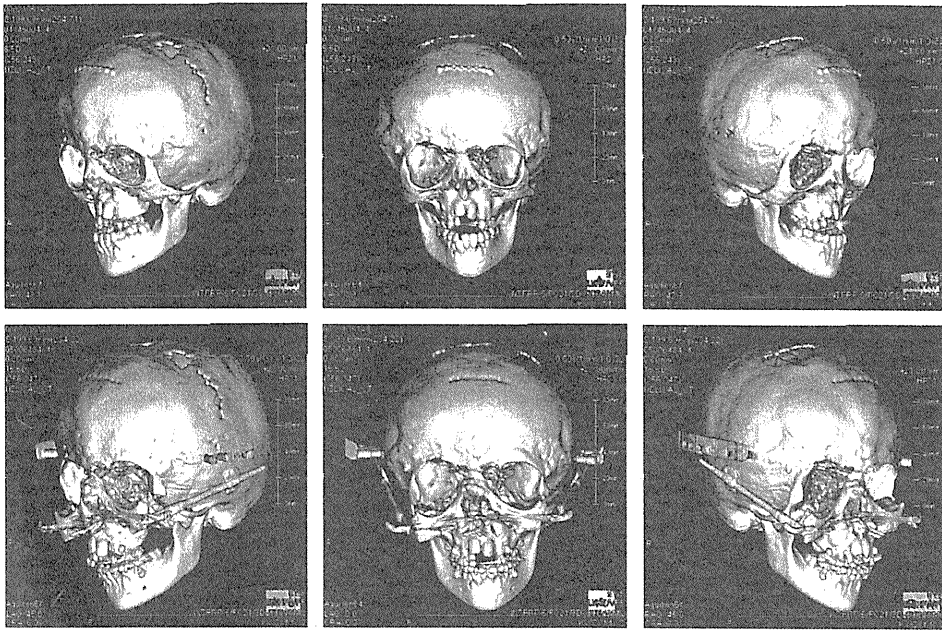


図 19 術前後の 3D-CT 写真

上:術前 中顔面は陥凹していた。下:術後 2 ヶ月 過延長を考慮すると眼窩下縁、前鼻棘などの位置は良く、非常に良好な結果であった。

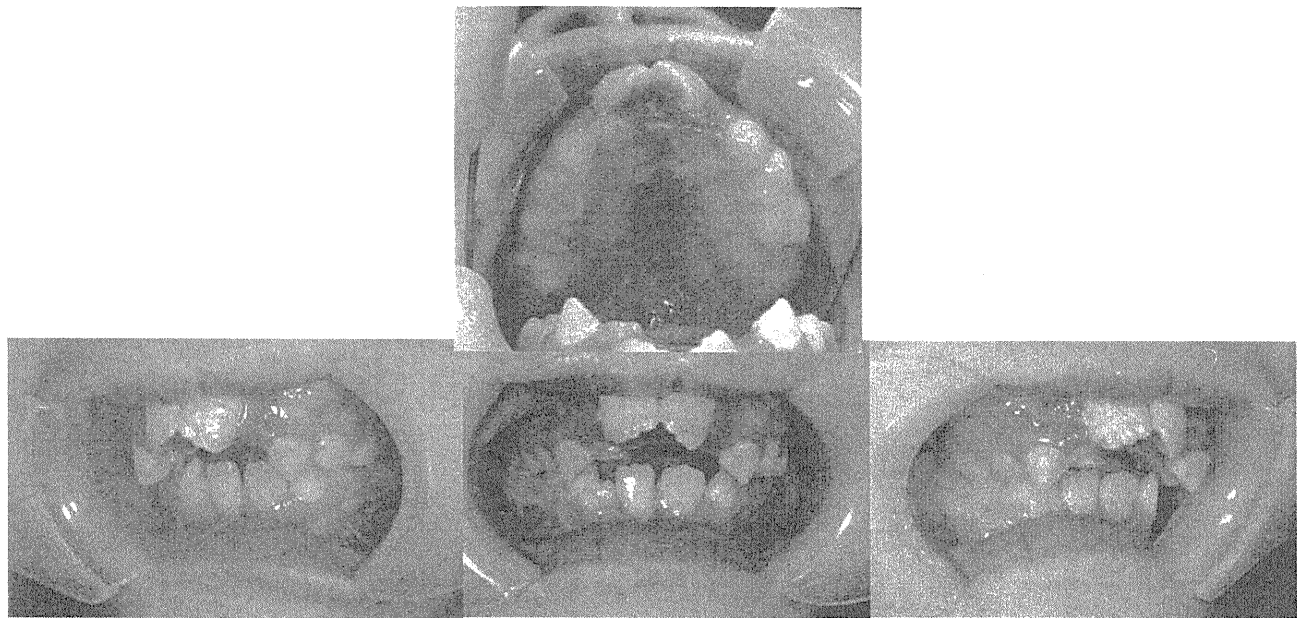


図 20 術後 1 年の咬合

過延長を考慮すると良好な結果であった。



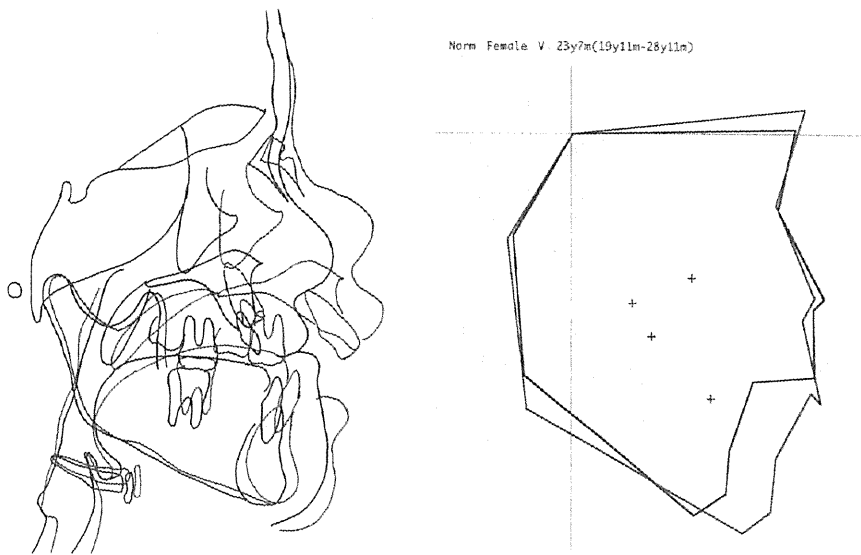


図 21 術後 6 ヶ月のセファログラムとプロフィログラムによる解析  
成人と比較して眼窩下縁、前鼻棘、上顎中切歯においてほぼ同等な位置にあり、非常に良好な過延長であった

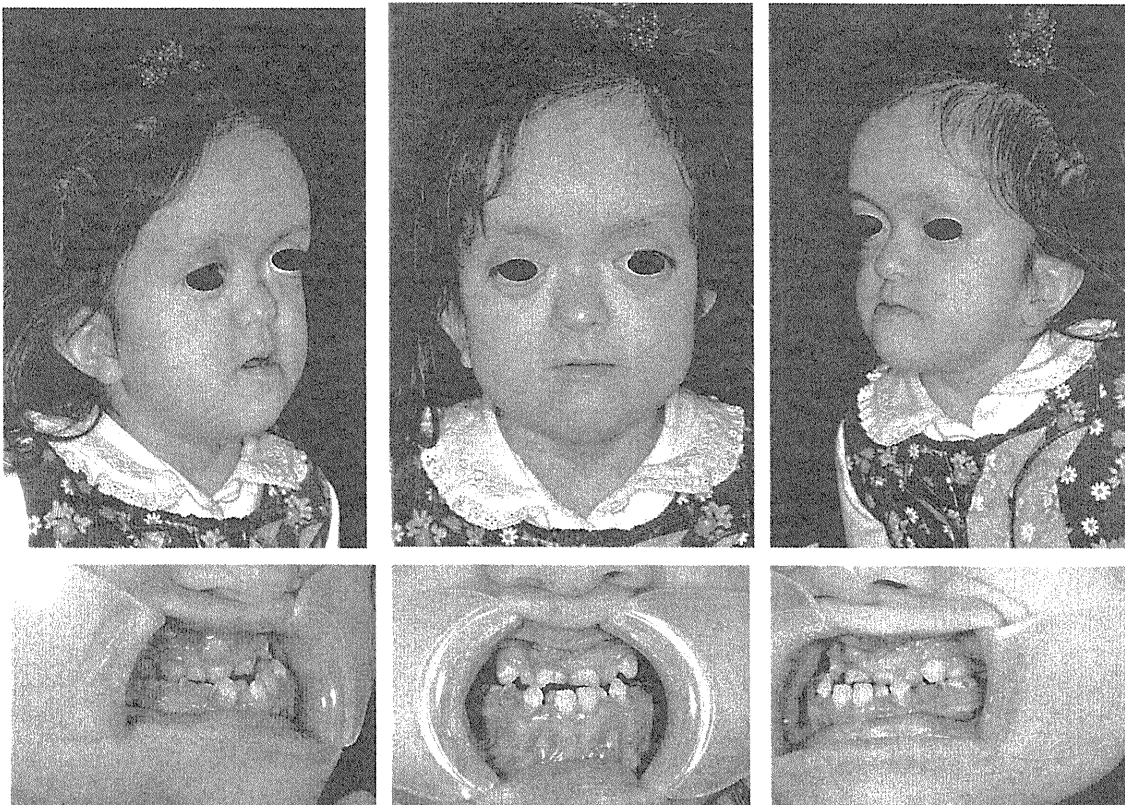


図 22 症例 5 クルーズン症候群 4 歳 女児  
左：中顔面は陥凹しており、睡眠時にいびきを認め、仰向けでは時に閉塞性無呼吸を認めた。

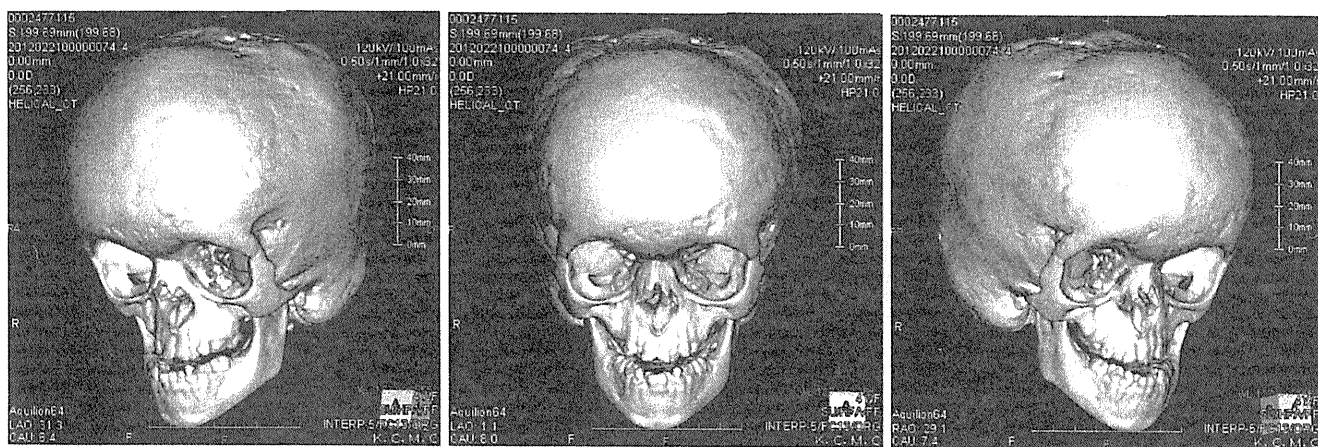


図 23 術前の3D-CT写真  
 中顔面は陥凹している。

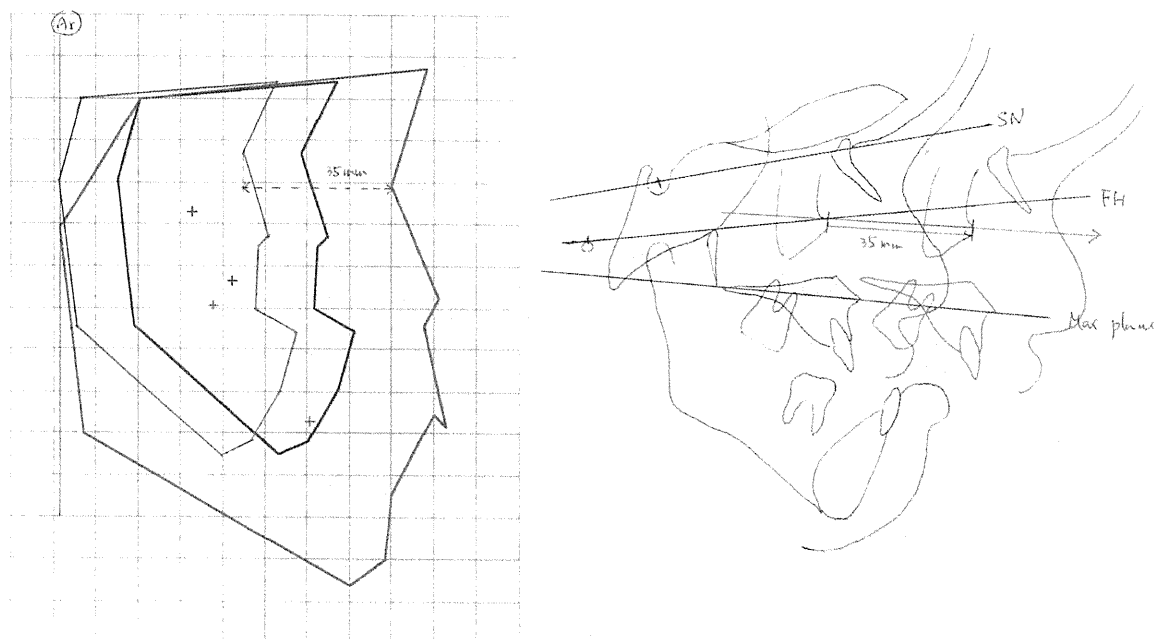


図 24 術後6ヶ月のセファログラムとプロフィールグラムによる解析  
 左:移動距離は、成人と比較して眼窩下縁において前方に35mm移動する必要がある。右:移動方向は、FH平面に対して8°下方にする必要がある。



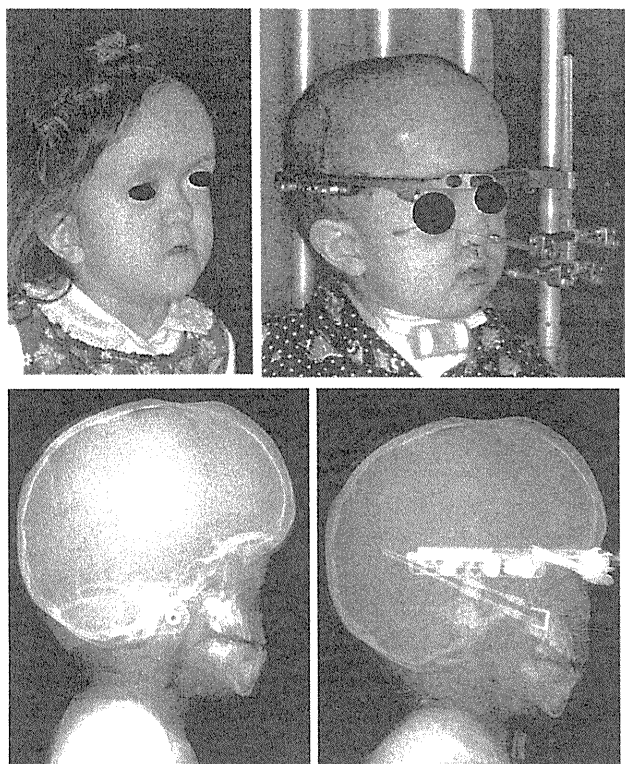


図 25

顔面骨延長術が行われ、両側頬骨を貫通する K-ワイヤが挿入された。そして、K-ワイヤに「3次元角度可変型顔面骨延長装置」が取り付けられ側頭骨に固定された。その後に K-ワイヤを介して「3次元角度可変型顔面骨延長装置」と連動する創外型骨延長装置が取り付けられた。手術 5 日後より本顔面骨延長システムにより、顔面骨が延長され、1日に1mmの割合で顔面骨が前方に移動されているところ。

## Ⅱ. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金  
分担研究報告書

症候性頭蓋縫合早期癒合症に対する「軟骨間葉系幹細胞」を用いた軟骨再生療法  
の開発

-ヒト耳介軟骨膜由来「軟骨間葉系幹細胞」を用いた新規弾性軟骨再構築法  
の開発-

研究協力者 武部貴則

分担研究者 谷口英樹

研究要旨

頭蓋・顎・顔面領域の組織変形に対する現在の標準的な治療法では、広範な変形に対する治療は困難であり、長期的な形態保持性の観点からも満足  
の行く臨床成績が得られていない。そこで、これらの課題を克服しうる新たな  
治療法の一つとして、組織再生工学を用いたヒト弾性軟骨の臨床的再構築法  
の開発が待望されている。我々は、低侵襲操作で採取可能なヒト耳介軟骨膜  
中から高い増殖能、多分化能、自己複製能などの特徴を有する軟骨幹/前駆細胞  
を分離することに成功した。このヒト軟骨幹/前駆細胞は、*in vitro* で耳介軟  
骨細胞と同等の軟骨基質産生を行うことが確認されただけでなく、重症免疫  
不全マウスへの皮下移植により長期形態保持性に優れたヒト弾性軟骨組織を  
再構築した。我々が開発したヒト弾性軟骨再構築法は、次世代の弾性軟骨再  
生治療の実現にとって革新的な方法となる可能性がある。

## A. 研究目的

頭蓋・顎・顔面領域の先天奇形や外傷に起因する組織変形に対する新しい治療法の開発は、全世界で100万人以上の患者に待ち望まれている極めて重要な臨床的解決課題である<sup>1</sup>。現在の標準的な治療法は、自家軟骨/骨組織を移植する方法や合成高分子化合物などの医用材料を移植する方法である<sup>2-8</sup>。しかし、自己組織移植で

は、採取量の制限と採取部位の侵襲が軟骨/骨組織移植に共通した問題である。また、軟骨組織移植に伴う経年的な組織変形と吸収や、骨組織移植に伴う経月的な組織吸収も極めて大きな問題となっており臨床的に満足  
のいく長期成績が得られていない<sup>9-13</sup>。医用材料を移植する方法においても、それらが人体にとり異物であることから、感染や炎症、それらに起因する皮膚穿孔などが生じることが知られて

おり、これらの問題が未解決である<sup>7,8</sup>。このような問題点を克服することの可能な新しい治療法として、組織再生工学を用いたヒト弾性軟骨の臨床的再構築法の開発が切望されている。

ヒト弾性軟骨の再構築法に適応可能な細胞源として、幾つかの可能性が示唆されている<sup>14-16</sup>。ヒト耳介軟骨細胞は良好な基質産生能などの優位性を有するものの、採取部位への侵襲に加え、自己複製能を有する幹細胞が存在しないために細胞寿命に起因する長期的な組織維持の困難性などの問題点を抱えている。骨髄由来のヒト間葉系幹細胞は、これらの諸問題を解決できる可能性を持つ細胞の一つであるが、骨髄穿刺の侵襲が大きいこと、成熟軟骨細胞への分化能が極めて低いこと、血管侵入や石灰沈着をきたすことなどの様々な問題を抱えているため実用化の可能性は低い<sup>17-19</sup>。他にも脂肪組織由来のヒト間葉系幹細胞など候補となる細胞は存在するものの、いずれも成熟軟骨細胞への分化能力が低く、弾性軟骨における細胞外マトリックスの産生能は全く確認されていないことから、ヒト弾性軟骨の再構築法に応用可能な優れた細胞源は見いだされていないのが現状である<sup>20-22</sup>。

本研究では、全く解明の進んでいないヒト弾性軟骨における幹/前駆細胞の分離・同定を、低侵襲操作で臨床的に採取が可能な耳介軟骨膜部を対象として試みた。また、分離したヒト軟骨幹/前駆細胞の操作技術を検討し、

臨床応用の可能な優れた弾性軟骨再構築法の開発を行った。さらに、我々が新規に開発した革新的な生分解性足場材料がヒト弾性軟骨の再構築に有用か否かを検討した。

## B. 研究方法

### 1. Isolation and cultivation of human perichondrocytes

横浜市立大学附属病院倫理委員会より承認を得て (approval #03-074), 30人の小耳症患者より、手術の際に余剰となる残存耳介弾性軟骨を供与頂き研究を遂行した。軟骨膜部を分離し、組織を細切後、細胞を分取した。各組織の細胞懸濁液は 100  $\mu$ m ナイロンメッシュ (BD Biosciences) で濾過し、PBS による洗浄を 3 度行った。細胞懸濁液は、37  $^{\circ}$ C, CO<sub>2</sub> 5% に設定したインキュベータで 10% fetal bovine serum (MOREGATE), 1% Antibiotic Antimycotic Solution (SIGMA) を含有する Dulbecco's modified Eagle medium and Ham's F-12 medium (日水製薬) を含む増殖培地により培養を行った。尚、長期増殖能の評価では、継代に際し血球計算板を用いて細胞数をカウントした後、1200 cells/cm<sup>2</sup> の密度で 35mm ディッシュに播種し、コンフルエントに達した際に同様に継代をする、という操作を繰り返した。

### 2. *In vitro* colony assay

各細胞を、35 mm 細胞培養ディッシュに 52 cells/cm<sup>2</sup> の密度で播種した。14