中枢性聴覚障害は快復するのか?

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2021-05-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 伊藤, 真人, Ito, Makoto メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00059549

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.

中枢性聴覚障害は快復するのか？

（課題番号 13671774）

平成１３年度　～　平成１６年度科学研究費補助金（基盤研究(C)(2)）研究成果報告書

平成１７年１０月

研究代表者　伊藤真人
（金沢大学大学院医学系研究科）

「はしがき」

中枢神経再生の治療戦略の一つとして、損傷の影響を最小限に抑え、「脳を守る」ことがあげられる。中枢神経再生のもう一つの治療戦略である「神経移植」と、「脳を守る治療」を融合することで、急性期の過剰な反応を抑え神経細胞を保護し、望みうる最良の状態で早期に移植ができるようにすることが望ましい。

神経軸索障害後に起始ニューロンにおいて著名な神経細胞死が起これば、たとえ障害部位の状態が神経再生にとって許容的な環境であったとしても、十分な再生は起こりえないのは明らかである。逆に本来旺盛な再生能をもつとも考えられる神経系では、神経細胞が十分量生き残りさえすれば、障害部位の環境が多少悪くとも再生してくるとも考えられる。これは神経再生の“環境仮説”に変わる、“細胞仮説”ともいえるものであり、再生能力に優れた末梢神経系ばかりではなく、再生が起こりにくいと考えられてきた中枢神経系においても、神経細胞を保護することが神経再生のための第一の課題である。

本研究では中枢神経再生のための「脳を守る治療」を目的に、感覚神経である脳幹部聴覚系について、DNLLから下丘などへの交差性求心性投射路であるプロブスト交連切断モデルを用いて検討した。

研 究 組 織

研究代表者　：　伊藤　真人　（金沢大学医学系研究科　助手）

交付決定額（配分額）　（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成１３年度	1,800,000	0	1,800,000
平成１４年度	1,100,000	0	1,100,000
平成１５年度	500,000	0	500,000
平成１６年度	500,000	0	500,000
総　　計	3,900,000	0	3,900,000

「研究の概要」

① 神経細胞を保護するために有効な薬物の選別を行なうために、プロブスト交連切断モデルの実験を行う前に、まず効果判定が容易な脳幹内顔面神経軸索切断モデルにおいて、末梢神経（坐骨神経）移植の効果を検討した。

② プロブスト交連と顔面神経末梢軸索の切断の結果みられる起始ニューロンの変化について、フリーラジカルであるNOS/NADPH-dの反応を比較した

③ 薬剤として血球増殖因子であるエリスロポエイチン、G-CSF などのサイトカイン、抗酸化剤であるビタミンE、漢方製剤であるTJ-23につき、様々な程度の顔面神経障害モデルについて検討した。

・ 臨床で使用可能な薬剤であるTJ-23のフリーラジカル消去（抑制）作用に着目し、顔面神経末梢切断モデルおよび、顔面神経引き抜き障害モデルにおいて、TJ-23の効果を検討した。

・ 強い抗酸化力をもつビタミンE(ニコチン酸α-トコフェノール)を用いて、顔面神経引き抜き障害モデルにおいて、その神経細胞保護効果を検討した。

・ 神経保護効果が期待されているエリスロポエチン（赤芽球増殖因子）を用いて、脳幹内顔面神経軸索切断モデルにおいて、その神経細胞保護効果を検討した。

④ 以上の顔面神経障害モデルの結果をふまえて、プロブスト交連切断モデルにおいて、GCSF（顆粒球コロニー増殖因子）の投与の効果を検討した。

「研究結果」

① 末梢神経移植によって、障害軸索に末梢神経のシュワン細胞由来の神経保護物質を供給するとともに、障害部位の状態を末梢軸索障害時に似た許容的環境にすることができる可能性がある。これらの働きによって、通常では著明な起始ニューロン変性・細胞死が励起される脳幹内顔面神経障害モデルにおいて、損傷部位への坐骨神経移植が神経細胞生存を助けることを確認した。

Neurotrauma Res 13;1-3, 2001

金沢大学十全医学会雑誌　111(6);348-361, 2002

② プロブスト交連と顔面神経末梢軸索の切断による起始ニューロンの変化を比較したところ、プロブスト交連障害後には顔面神経末梢軸索障害後に比べて、NOS/NADPH-d は時間的に早く発現しており、NOS の発現機序や働きの面で両者の間では違いがあることが示唆された。

③ TJ-23 は抗酸化作用をもつ漢方製剤のひとつであり、グルタミン合成酵素の活性を亢進することと相まって、NMDA 興奮性細胞死を抑制する働きがある。またプロゲステロンやエストラジオールの活性化により神経保護的に働いている可能性もある。またコリン作動性神経を賦活することから、アルツハイマー病や老人性痴呆に有効との報告もある。すでに臨床で広く使用され、その安全性が確認されている薬剤である TJ-23 に着目し、顔面神経末梢切断モデルおよび、顔面神経引き抜き障害モデルにおいて、TJ-23 の効果を検討したところ、神経障害後に発現する NOS の発現を TJ-23 は強く抑制すると共に、神経細胞の変性・細胞死を抑制する傾向が認められた。

We investigated free radical scavenging activity, particularly that against nitric oxide (NO) and the possible neuroprotective effect of Tokishakuyakusan (TJ-23), a traditional Japanese herbal medicine, on facial motoneurons after peripheral axotomy. TJ-23 has been shown to have an antioxidant action and to have a prophylactic effect against neuronal disease mediated by free radicals.

Methods: In 40 adult rats, the right facial nerve was transected at the level of the stylomastoid foramen. TJ-23 was orally administered to half the animals postoperatively; the other half acted as a control group. Following axotomy, the effects of TJ-23 on NO synthase were investigated using nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-diaphorase (NADPH-d) histochemistry. Facial motor nucleus

(FMN) motoneurons were counted bilaterally in sections stained with cresyl violet.

Results: On the operated side, the number of NADPH-d-positive neurons increased progressively in the FMN, reaching a peak on day 14 and decreasing gradually to control levels by 8 weeks after axotomy. Rats administered TJ-23 exhibited clear suppression of injury-induced neuronal NADPH-d expression in the ipsilateral FMN when compared to non-treated controls. The number of surviving motoneurons in the ipsilateral FMN was significantly greater among TJ-23-treated rats than non-treated controls on day 56 following axotomy.

Conclusion: The present study demonstrates the neuroprotective effect of TJ-23 after peripheral facial nerve axotomy. Since TJ-23 has been widely used with very few adverse effects in Japan, it may have therapeutic potential in traumatic cranial nerve injury resulting from head trauma, ear surgery and head and neck surgery involving cranial nerves.

Oto Jpn 13(4):471, 2003

日本耳鼻咽喉科学会 2004 年度総会抄録

④ 神経軸索障害後の初期にみられる、著明な神経細胞死を抑制する最も有効な方法の一つとして、抗酸化剤によるレドックス制御（酸化還元反応の制御）があげられる。強い抗酸化作用を持つ抗酸化ビタミンであるビタミン E によって、起始ニューロンの神経細胞生存率が改善した。

Oto Jpn 14(4):418, 2004

Oto Jpn 15(4):426, 2005

⑤ エリスロポエチンは赤芽球前駆細胞（CFU-E）由来のコロニー形成を促進させる作用を持つが、NMDA 興奮性細胞死を抑制することで、神経保護的に働くことが知られている。

脳幹内顔面神経軸索切断モデルにおいて、その神経保護効果を検討したところ、脳内根切断後 14 日目、28 日目の神経生存率に改善がみられた。特に 14 日目では、無治療群の神経生存率 24.7±3.3%に対し、rhEPO 投与群の神経生存率は 42.6±6.7%と著明な生存率の改善効果がみられた。したがって長期的には起始ニューロンの細胞死は免れないものの、障害後２週間程度の亜急性期までは神経細胞の延命効果が認められた。

Neurotrauma Res 16;6-9, 2004

⑥ 一般に成熟哺乳類の中枢神経損傷後には中枢神経系のミエリンであるオリゴデンドロサイトから、軸索進展阻害因子(Nogo)が放出されるとともに、著名なグリオーシスのために神経再生は起こりにくい。さらに損傷ニューロンの細胞死も強く認められることから、中枢神経系＝拒絶的環境仮説が現在支配的である。ところで幼弱動物や下等脊椎動物の中枢神経系は旺盛な再生能を維持しており、成熟動物においても損傷部の環境を幼弱型のグリア細胞に変化させることができれば、先の拒絶的環境仮説を否定し、中枢神経系＝許容的環境仮説という別の展望が見えてくるかもしれない。大きな有効性が期待されている神経幹細胞や胎仔脳神経移植は、従来の考えどおり神経細胞を補給する治療であると共に、損傷部の環境を幼弱型のグリアに変える治療であるともいえる。

幼弱型のグリア環境を作るために、培養グリア細胞の移植などの試みもみられるが、近年、血管再生療法（neo-vasculogenesis）への効果が期待されている、顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）などのCSF製剤に注目した。本来血管再生療法には自家骨髄細胞の移植が行われ、その効果が明らかとなってきているが、G-CSFにより骨髄由来の未分化細胞を末梢血へ動員することで、非侵襲的血管再生治療の可能性が示されている。一方で骨髄間質細胞の多分化能を利用して、移植した培養骨髄間質細胞をシュワン細胞に分化誘導し、ミエリン形成を起こす試みもなされている。G-CSFなどのCSF製剤によって脳内へシュワンやグリアに分化可能な未分化細胞を動員可能であるかもしれない。実際に脳虚血モデルではG-CSFが神経保護的な働きがあるとの報告もある。

今回、感覚神経である脳幹部聴覚系において、DNLL から下丘などへの交差性求心性投射路であるプロブスト交連切断モデルを用いて、G-CSF の神経保護効果を検討した。

［方法］

正常成熟雄ラットを用い、ペントバルビタール麻酔(60mg/kg ip)下に開頭し、蛍光色素 Fluoro-Gold (FG; 5%溶液、Fluorochrome, Inc., U. S. A.)を右側の下丘に注入し、逆行性トレーサー法により、下丘投射繊維の起始ニューロンを標識した。数日後再びペントバルビタール麻酔下に、定位脳手術下に微小ナイフ(Fine Science Tools, Inc., Canada)を用いて脳正中でプロブスト交

連を切断した。同時に反対側(左側)の下丘に Fluoro-Ruby(FR; dextran tetramethylrhodamine、10%溶液、 Molecular Probes, Inc., Eugene, USA)を注入し、プロブスト交連線維の完全切断を評価した。

G-CSF 投与群では、G-CSF (50mg/kg, im) をプロブスト交連切断後5日間投与した。1ー5週間の生存期間をおきペントバルビタール深麻酔下に(120 mg/kg ip)、左心室より灌流固定を行った。その後、厚さ 40 μm の前額断連続凍結切片を作成し、これを三等分の上ゼラチン化スライドグラスにマウントし、オリンパス社製蛍光顕微鏡で観察した。また cresyl-violet 染色を行い、プロブスト交連切断部の状態をみるとともに DNLL 内の解剖学的変化を観察した。

[結果]

無治療群では、軸索切断後2週目には起始ニューロンの著明な細胞変性・細胞死が観察されたが、G-CSF の投与によってこの逆行性変性は抑制されることが観察された。

軸索切断後5週目には、無治療群ではほとんどの交叉性繊維の起始ニューロンが消失し、著明に増加したマイクログリアによる貪食像が観察されたが、G-CSF の投与によって少数ではあるが生き残った神経細胞が認められ、周囲のマイクログリアの貪食像も無治療群に比べて軽微であった。

[結論]

G-CSF は障害神経細胞の変性・細胞死を抑制もしくは起始ニューロンの延命効果がある可能性が示唆された。しかしこの中枢神経保護効果は、G-CSF 単独(5日間)投与のみでは限局的なものであり、今後移植などの治療法との併用効果を検討すべきである。