

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 20 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591877

研究課題名（和文） 先天性難聴モデル動物における聴覚中枢の発達と可塑性について

研究課題名（英文） Changes of developments of central auditory system following early hearing loss in animal experiment.

## 研究代表者

伊藤 真人 (ITO MAKOTO)

金沢大学・医学系 准教授

研究者番号：50283106

研究成果の概要（和文）：近年、先天聾小児の人工内耳手術が増加し、手術時期も低年齢化が進んでいる。先天聾における聴覚中枢の発生が正常と比べてどのように変化するかについて検討した。我々の開発した薬剤性先天聾モデルを用いて、脳幹部聴覚中枢から下丘への神経投射を検討したところ、交叉性／非交叉性投射路の比率が、正常発達ラットとは異なっており、外側網帯核から下丘への投射に比べて、蝸牛神経核から下丘への投射が、先天聾の影響をより強く受けることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to investigate the effects of early hearing loss on the anatomy of the central auditory system, specifically, the ascending projections to the inferior colliculus (IC). We compared normal animals with animals deafened during early development by administration of amikacin, an ototoxic antibiotic that is known to destroy the hair cells in the inner ear. Neonatal deafness reduces the number of labeled neurons projecting from the CN to the IC with the effect being more evident during later stages of deafness. In contrast, there are no significant changes in the projections from DNLL to IC.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：耳鼻咽喉科・頭頸部外科学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学、耳鼻咽喉科学

キーワード：先天聾モデル、聴覚中枢、発達、急性内耳障害、脳の可塑性

## 1. 研究開始当初の背景

ヒトでは先天聾児に対する人工内耳医療の有用性が確立されており、手術年齢も若年化してきている。このことからヒトの先天聾では、その多くが中枢聴覚中継路の発達は正常に近いと期待されている。ところが

従来行われてきた先天聾動物モデルにおける研究では、蝸牛障害後に蝸牛神経核の著明な縮小がみられ、その他の聴覚中枢においても広範な変化が認められる。この理由として、従来モデルでは内耳蝸牛軸を機械

的に破壊していたが、これはラセン神経節細胞の変性・消失(=内耳神経の消失)を伴う重度障害モデルであったため、上位中枢である蝸牛神経核に及ぼす影響も大きいものと推測される。したがって過去の先天聾動物モデルは、ヒトの先天性内耳性難聴の病態と大きくかけ離れた重度障害モデルであり、人工内耳の適応とされるラセン神経節細胞が生存しているような非破壊的内耳性難聴のモデルではない。かねてから我々も、聴覚の開始(Hearing onset)前の新生児期蝸牛破壊による先天聾モデルラットを作成し、その聴覚中枢発生の変化について検討し、聴覚中枢神経核間の投射やカルシウム結合タンパク発現の変化について検討をおこない報告してきた。(Acta Otolaryngol 2009、ARO meeting 2009、AAO-HNS Annual Meeting 2007、2009年日本耳鼻咽喉科学会、2008年日本耳鼻咽喉科学会、2007年日本耳科学会)。一方人工内耳手術をおこなうような症例により近いモデルとして、蝸牛を破壊せずに内耳毒性を有するアミノグリコシド系抗菌薬であるアミカシンを、全身投与することで作成することができた。さらに、この先天聾モデルにおいて、聴覚中枢神経核の神経細胞数が正常に比べて増加する可能性が示唆された。

また、聴覚中枢神経核では蝸牛の周波数対帯に一致したバンド状のトノトピシティーが各神経核に存在しているが(Kelly, Ito; Hear Res, 1998)、後天聾の脳皮質聴覚野では、トノトピシティーがはっきりしなくなることが知られている。しかし下丘以下の脳幹部聴覚中継核における周波数特異性の変化は知られておらず、さらに先天聾でのトノトピシティーについては全くわかっていないのが現状である。現状の人工内耳の弱点とされる音楽の聴き取りのために重要なのがトノトピシティーである。トノトピシティーの消失はチューニング機能の低下に繋がるものであり、先天聾児の聴覚機能を知る上で重要なキーワードといえる。聾であっても脳幹レベルのトノトピシティーが保たれているならば、将来的に人工内耳機器のさらなる改良によって周波数弁別が可能となり、音階を認知し音楽を感じることができる可能性がある。

## 2. 研究の目的

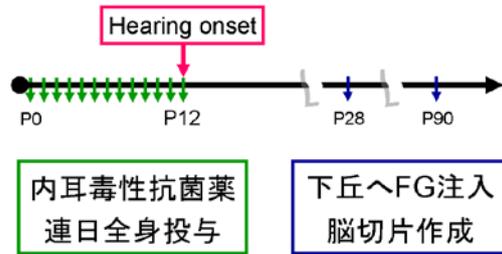
聴覚中枢の発生については未だ不明な点が多い。近年、先天聾小児の人工内耳手術が増加し、手術時期も低年齢化が進んでいる。しかし、先天聾における聴覚中枢の発生が正常と比べてどのように変化するかは解明されていない。聴覚中枢の正常発生と、先天聾によっておこる聴覚中枢の変化について知ることは、先天聾小児の人工内耳手術後に、より良い「聴く力」を獲得する上で重要であり、人工内耳医療の今後の可能性を探ることにつながる。様々なおこりうる変化のうち本研究では、①中枢神経の正常発達期におこるプログラム細胞死に対する影響と、②聴覚中枢神経核における周波数特異性(トノトピシティー)の変化に焦点をあてる。薬剤性先天聾モデルにおいて、中枢神経核の形態学的な変化のみならず、聴覚中枢神経核間の神経投射に変化が起きるか、特に神経投射の周波数特異性(トノトピシティー)が保たれるのか否かについて検討する。

本研究は出生直後のHearing onset前に、ヒトの先天聾に類似した、ラセン神経節細胞の破壊を伴わない状態での先天難聴動物モデルを作成し、Hearing onsetが起らないということが、その後の聴覚中枢の発達に及ぼす影響について検討するものである。

## 3. 研究の方法

1) ラット先天聾モデルを作成し、聾によっておこる聴覚中枢の変化について検討する

ラットが聴こえ始める(Hearing onset)のは、生後12日頃であるので、それ以前の出生後の新生児期ラットにアミノグリコシド系抗菌薬アミカシンを連日全身投与し、内耳障害を生じさせることで先天聾モデルを作成する(図4)。成長を待ち、下丘へニューロトレーサー(FG)を注入し、下丘への下位聴覚中枢からの上行性投射について検討する(図)。



2) ラット先天聾モデルにおいて、周波数特異性（トノトピシティー）の変化を検討する

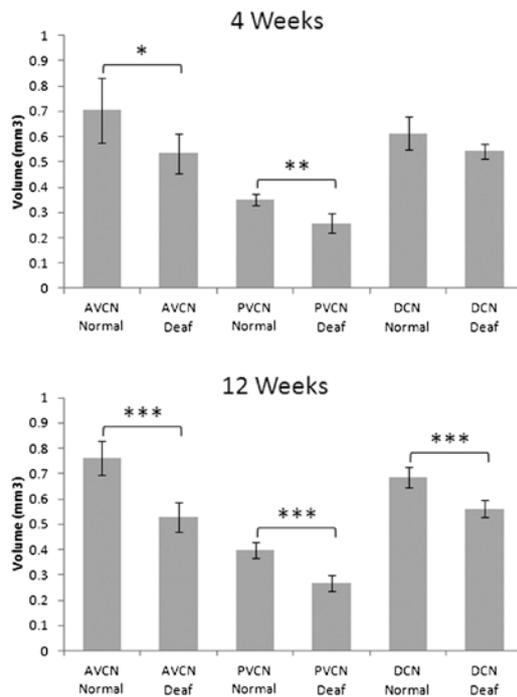
また、聴覚中枢神経核には蝸牛と同様にトノトピシティーという周波数局在があるが、先天聾モデルにおいてトノトピシティーに変化が生じるか否かについても、生理学的、神経解剖学的手法を用いて検討する。このトノトピシティーの局在についても、聾の期間の短い幼児期（生後28日）と、期間の長い成熟期（生後90日）において検討をおこなう。人工内耳では音楽の聞き取りが不良であるが、トノトピシティーの変化を分析することによってその原因の一端が解明されるかもしれない。周波数弁別やピッチ、音の強さの感覚には聴覚中枢が深く関与する。これらの感覚は音を楽しむこと、例えば音楽を感じるために重要な感覚である。中でも音楽を感じるために重要なのが周波数弁別能である。聾であってもトノトピシティーが保たれているならば、将来的に人工内耳機器のさらなる改良によって周波数弁別が可能で、音階を認知でき音楽を感じることができる可能性がある。

#### 4. 研究成果

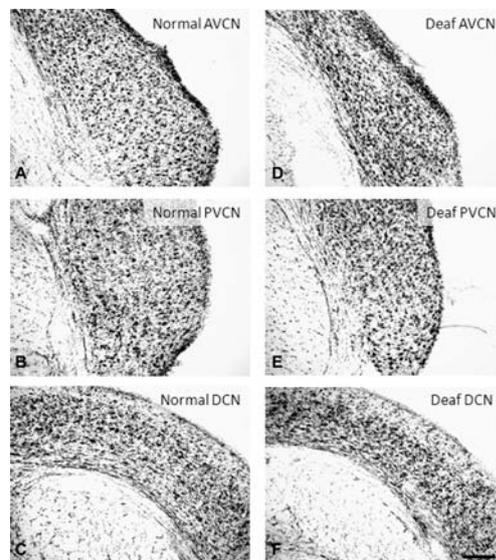
1) ラットの聴こえの開始（Hearing onset）は、生後12日（P12）頃であるので、それ以前の仔ラットに内耳毒性をもつ薬剤の、アミノグリコシド系抗菌薬（アミカシン）を連日全身投与し、内耳障害を生じさせることで先天聾モデルを作成した。過去の先天聾動物モデルは機械的な蝸牛破壊モデルなどが多く、ヒトの先天性内耳性難聴の病態とは異なる重度障害モデルであった。つまり、人工内耳の適応となるようなラセン神経節細胞が生存しているような非破壊的内耳性難聴のモデルではなかったのに対して、我々の薬剤性内耳破壊モデルはヒトの先天聾により近いモデルである。

この薬剤性先天聾モデルを用いて、脳幹部聴覚中枢から聴覚中脳である下丘への神経投射を検討したところ、P12蝸牛破壊モデルと同様に、交叉性／非交叉性投射路の比率が、正常発達ラットとは異なっている可能性が示唆されたので、さらに定量的な実験を進めたと

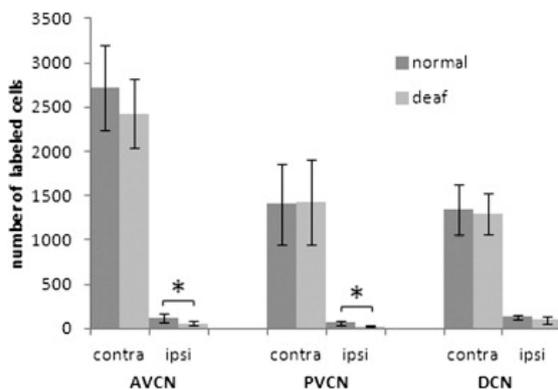
ころ、外側網帯核から下丘への投射に比べて、蝸牛神経核から下丘への投射が、先天聾の影響をより強く受けることが明らかとなった。



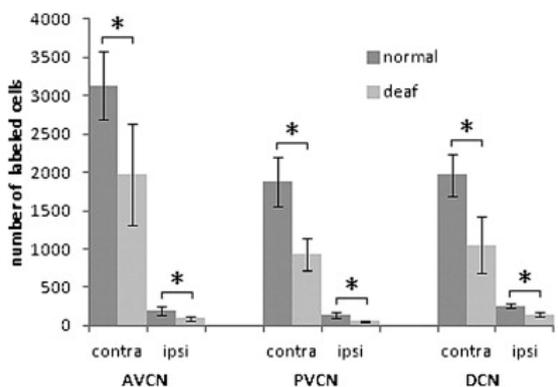
先天聾モデル動物の生後4週目、12週目の蝸牛神経核の各亜核のボリューム変化を示す



正常ラットと先天聾モデルラットの生後12週目の蝸牛神経核のニッスル染色像。先天聾モデルでは蝸牛神経核の縮小が認められる。



生後4週目のFG標識細胞数の比較。



生後12週目のFG標識細胞数の比較。

(これらの結果は、TRIOLOGICAL SOCIETY 114th ANNUAL MEETING (COSM), 2011、28<sup>th</sup> Pulitzer Socing Res 2012に掲載された)

2) 上記と同様の方法で先天聾モデルを作成した。聴覚中枢内には内耳から大脳皮質に至るまで、トノトピシティー (周波数帯) が存在するが、下丘においてその特定周波数に反応する層構造がきわめて明瞭に識別される。そこで、正常ラットと先天聾モデルラットにおいて蝸牛電気刺激を行い、下丘中心核での誘発電位を比較検討した。正常ラットでは誘発電位のピークは下丘中心核の中央部にみられたが、先天聾モデルラットではそのピークは下丘中心核の浅層 (通常では低周波数帯) に移動した。さらに、先天聾モデルラットでは下丘中心核背深層の高周波数帯の誘発電位が減少した。以上から、本先天聾モデルラットにおける実験では、先天聾において蝸牛電気刺激でみられる下丘の誘発電位に変化が生じており、トノトピシティーの幅の縮小や高周波数帯の反応低下などが起きることが明らかとなった。(これらの結果は、第24回日本耳科学会総会、The 9<sup>th</sup> International Conference on Cholesteatoma and Ear

Surgery、2nd Meeting of European Academy of ORL-HNSにおいて発表した)

近年、先天聾小児の人工内耳手術が増加し、手術時期も低年齢化が進んでいる。先天聾における聴覚中枢の発生が正常と比べてどのように変化するかについて、その一端を解明することができた。聴覚中枢の正常発生と、先天聾によっておこる聴覚中枢の変化について知ることは、先天聾小児の人工内耳手術後に、より良い「聴く力」を獲得する上で重要であり、人工内耳医療の今後の可能性を探ることにつながるものである。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計8件)

- ① Hatano M, Ito M, Yoshizaki T, Kelly JB. Change in projections to the inferior colliculus following early hearing loss in rats. 査読有, Hear Res 287: 57-66, 2012. DOI:10.1016/j.heares.2012.03.011.
- ② Nakanishi Y, Kondo S, Wakisaka N, Tsuji A, Endo K, Muroso S, Ito M, Kitamura K, Muramatsu M and Yoshizaki T Role of activation-induced cytidine deaminase in the development of oral squamous cell carcinoma. 査読有, Plos One (in press) 2013. DOI:10.1371/journal.pone.0062066.
- ③ Endo K, Ueno T, Kondo S, Wakisaka N, Muroso S, Ito M, Kataoka K, Kato Y, Yoshizaki T. Tumor-targeted chemotherapy with the nanopolymer-based drug NC-6004 for oral squamous cell carcinoma. 査読有, Cancer Sci. 104: 369-374, 2013. DOI: 10.1111/cas.12079.
- ④ Ito M, Maruyama Y, Muroso S, Wakisaka N, Kondo S, Hatano M, Nakanishi K, Miwa T, Yoshizaki T Efficacy and safety of garenoxacin in the treatment of upper respiratory tract Infections. 査読有, Auris Nasus Larynx 39(5):512-8, 2012. DOI:10.1016/j.anl.2011.09.004.

- ⑤ Sugimoto H, Yoshizaki T, Ito M.  
Cochlear implantation in a patient  
with superficial siderosis. 査読有,  
Auris Nasus Larynx 39;623-626, 2012.  
DOI: 10.1016/j.anl.2011.10.009.

〔学会発表〕(計 10 件)

- ① Hatano M, Ito M, Kelly JB. Inferior colliculus response to electrical stimulation of the cochlea in the rat. 2nd Meeting of European Academy of ORL-HNS, 2013 年 4 月 27 日-30 日, Acropolis congress center Nice、フランス
- ② Hatano M, Ito M, Wu S F, Kelly JB. Inferior colliculus response to electrical stimulation of the cochlea in the rat. 2012 年 6 月 4 日-7 日, 長崎ブリックホール、長崎県
- ③ 波多野都、伊藤真人: 先天聾における蝸牛電気刺激と下丘誘発電位. 第 24 回日本耳科学会総会 2012 年 10 月 4 日-6 日, 名古屋国際会議場、愛知県
- ④ Hatano M, Kelly JB, Ito M, Yoshizaki T. Changes in Projections to the Inferior Colliculus Following Early Hearing Loss in Rats. 114<sup>th</sup> Annual Meeting at COSM. 2011 年 4 月 29 日米国 Sheraton Chicago Hotel & Tower シカゴ (USA)
- ⑤ Ito M, Hatano M, Sugimoto H, Yoshizaki T. Serotype Distribution and Penicillin Resistance of Streptococcus pneumoniae Isolates from Nasopharynx in Young Children Attending Day Care in Japan. Politzer meeting 2011. 2011 年 9 月 28 日, Westin Astir Palace Beach Hotel (ギリシャ)

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者 伊藤真人 (ITO MAKOTO)  
金沢大学・医学系 准教授  
研究者番号: 50283106

(2) 研究分担者  
(該当なし)

(3) 連携研究者  
(該当なし)