

厚生労働科学研究費補助金

(感覚器障害研究事業)

内耳性難聴に対する細胞移植システムの構築

平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 小川郁

平成18(2006)年 4月

## 目 次

I. 総括研究報告		
内耳性難聴に対する細胞移植システムの構築-----		3
小川郁		
II. 分担研究報告		
1. 内耳性難聴に対する細胞移植システムの構築 -----		5
梅澤明弘		
2. 内耳ドラッグデリバリーシステムに関する研究-----		9
神崎晶		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	11
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	16

## 内耳性難聴に対する細胞移植システムの構築

主任研究者 小川 郁 慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科

**研究要旨** 内耳性難聴は難治性であり人口の5%以上が内耳性難聴のためのコミュニケーション障害に悩んでいる。特に高齢者においては加齢変化により約34%が難聴者である。内耳性難聴の原因の80%は感覚細胞（有毛細胞）に障害がある。もし有毛細胞を生かせることが可能ならば、内耳性難聴の治療が期待できる。これらの聴力にかかわる社会的問題に対し、内耳機能の再生、維持は国民の健康、医療、福祉の向上、政策医療の観点からも急務であり、欠くことの出来ない問題となっている。内耳障害における細胞環境の変化について検討した。転写因子であるNFκBによって誘導されるサイトカインIL-1, IL-6などが発現していることが判明した。また、ヒト間葉系幹細胞から分化させた神経幹細胞を内耳に移植するため投与し、着床するかどうかについて検討を行ったが、明らかな細胞塊をモルモット内耳に認めることがなく、観察期間、移植動物の検討も含めて今後の検討が必要であると考えられた。

### A. 研究方法

1) 内耳障害モデルとして音響外傷モデルを作成した。聴力測定は聴性脳幹反応 (ABR) を用いて行った。障害内耳におけるサイトカイン発現と発現を制御していると考えられる転写因子NFκBについて分子生物学的検討、免疫組織学的検討を施行した検討を行った。

2) ヒト骨髄から採取された間葉系幹細胞から神経幹細胞に分化させて内耳に移植した。移植するために必要とされる内耳投与方法（中央階経由と鼓室階経由による投与が聴力に与える影響についてモルモットの聴性脳幹反応を検討した。

### B. 研究目的

内耳障害における細胞環境の検討を行い、内耳幹細胞が着床するかについて検討を行った。

### C. 結果

1) 急性音響障害モデル動物（マウス、ラット）

の音響障害モデルにおいてNF-κBといった転写因子、さらに転写因子によって発現誘導されるサイトカインに関する遺伝子を解析した。特にIL-6は細胞移植や内耳再生を阻害する可能性があり、移植細胞をとりまく環境への対応を検討する必要がある。

2) 急性音響障害モデルや薬剤性難聴モデルに対して、間葉系細胞から神経幹細胞に分化させた細胞を鼓室階、中央階経由で投与した。1週間と3ヶ月のポイントで経時的に観察した。細胞移植を行ったが、上記どちらのアプローチについても1週間では移植細胞塊を認めたものの、3ヶ月では間葉系細胞から神経幹細胞に分化しているはずの細胞が骨細胞に変化しているものもあった。異種移植ということもあるが、細胞をとりまく内耳の環境に関する検討が必要である。

内耳中央階経由による投与では、投与時の機械的ダメージによって聴力の維持が困難になるが、一方で外リンパ腔経由した投与は聴力の変化は

少なかった（詳細は分担研究者 神崎のところでも報告）。内耳機能保持の課題を残しているが、再生医療が必要になる高度難聴者に限れば、外リンパ腔経由で新しい内視鏡を用いた明視下で投与が実現可能ではないかと考えている。

#### D. 考察

上記結果から、内耳障害における環境によって再生能力が抑制されていることが推測される。これは脊髄においてサイトカインは神経細胞の再生や軸索の再生を阻害することが知られていることから、内耳でも同様なことが生じていることが予想される。

間葉系幹細胞をそのまま投与すると骨細胞に生じたことは、内耳環境が神経系の細胞に分化させるものではないことが証明された。したがって、神経幹細胞に分化させた後に投与することが必要である。

ヒト間葉系幹細胞をモルモットに投与したが、明らかな細胞塊を認めることがなかった。しかし、ヒトとモルモットを鑑別する細胞マーカーの問題が解決できず、このため新たに検討を加える必要がある。

#### E. 結論

神経幹細胞を投与する際にはIL-6などサイトカイン阻害を検討する必要があると考えられる。ヒト間葉系幹細胞を神経幹細胞に分化させた後、モルモットに移植した。免疫抑制剤を投与したが、明らかな細胞塊を認めることができなかった。サイトカインの問題の検討も加味しつつ、今後は同種移植などの研究も含めて検討していく必要がある。

F. 健康危険情報  
なし

#### G. 研究発表

1. 小川 郁、【視聴覚の再生】 慢性感音難聴

に対する治療戦略と人工中耳・人工内耳再生医療 4巻2号; 19-26, 2005

2. Fujioka M, Kanzaki S, Okano JH, **Ogawa K**, Okano H, Cytokine up-regulation mechanism of inner ear after noise exposure. *J neuroscience res* 2006;83(4):575-83.
3. Masuda M, Nagashima R, Kanzaki S, Ogita K, **Ogawa K**, Nuclear factor-kappa B nuclear translocation in the cochlea of mice following acoustic overstimulation. *Brain res*, 2006 Jan 12;1068(1):237-247.
4. Kanzaki S, Ito M, Takada , **Ogawa K**, Matsuo K, Hearing loss and ossicles of osteoporosis in mice. *Bone* (accepted)
5. 神崎 晶、小川 郁 【視聴覚の再生】内耳有毛細胞の再生とらせん神経変性の予防 再生医療4巻2号27-32
6. Okamoto Y, Hoya N, Kamiya K, Fujii M, **Ogawa K**, Matsunaga T. Permanent threshold shift caused by acute cochlear mitochondrial dysfunction is primarily mediated by degeneration of the lateral wall of the cochlea. *Audiol Neurotol*. 10(4). 220-233

#### 学会発表

1. Kanzaki S, Shiotani A, Fukumura M, Hasegawa M, **Ogawa K**; Sendai virus vector mediated transgene expression in the cochlea in vivo. Association for Research in Otolaryngology meeting Baltimore ,USA, 2006
2. Kanzaki S, Ito M, **Ogawa K**, Matsuo K; Hearing loss and osteoporosis of auditory ossicles in mice. 25<sup>th</sup> Politzer meeting (Korea) 25<sup>th</sup> Politzer award (2005)受賞 2005
3. Masuda M, Nagashima R, Kanzaki S, Fujioka M, Ogita K, **Ogawa K**, Nuclear factor-kappa B nuclear translocation in the cochlea of mice following acoustic overstimulation. Association for Research in Otolaryngology meet

- ing, Baltimore, 2006
4. Fujioka M, Kanzaki S, **Ogawa K**, Blockage of interleukin-6 signal after noise exposure ameliorates functional recovery in noise induced hearing loss, Association for Research in Otolaryngology meeting, Baltimore, 2006
5. Iizuka T, Kanzaki S, Zhen-Hua Jin, Minowa O, Noda T, **Ogawa K**, Ikeda K, Gene transfer of a mouse model created by a conditional knockout of *gjb2* gene, Association for Research in Otolaryngology meeting, Baltimore, 2006
1. 特許取得
- G. 倫理面への配慮  
なし
- I. 知的財産権の出願・登録状況
- 1) 特許取得  
なし
- 2) 実用新案登録  
なし
- 3) その他  
なし
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

## 内耳性難聴に対する細胞移植システムの構築

分担研究者 梅澤 明弘 国立成育医療センター生殖医療研究部長

**研究要旨** 内耳性難聴は難治性であり人口の 5%以上が内耳性難聴のためのコミュニケーション障害に悩んでいる。特に高齢者においては加齢変化により約 34%が難聴者である。内耳性難聴の原因の 80%は感覚細胞（有毛細胞）に障害がある。もし有毛細胞を生かせることが可能ならば、内耳性難聴の治療が期待できる。これらの聴力にかかわる社会的問題に対し、内耳機能の再生、維持は国民の健康、医療、福祉の向上、政策医療の観点からも急務であり、欠くことの出来ない問題となっている。このような中で、本研究では実験動物において間葉系幹細胞から分化させた内耳幹細胞を投与し、細胞の生着を含めた network の形成と内耳の機能再生について検討することにより、難治性である内耳性難聴の治療にむけて、間葉系幹細胞より分化した感覚細胞を内耳に投与することにより聴覚機能を回復させることを目的とする。さらに、本研究遂行のために、マウス及びヒト骨髄間質細胞の分離培養、細胞のプロファイルの確定後、細胞寿命の延長を行い、内耳移植モデルを用いた結果に基づき、臨床への探索的研究へ着手する。

### A. 研究目的

実験動物において間葉系幹細胞から分化させた内耳幹細胞を投与し、細胞の着床を含めた network の形成と内耳の機能再生について検討する。難治性である内耳性難聴の治療にむけて、間葉系幹細胞より分化した感覚細胞を内耳に投与することにより聴覚機能を回復させることを目的とする。さらに、本研究遂行のために、ヒト骨髄間質細胞の分離培養、細胞のプロファイルの確定後、細胞寿命の延長を行い、内耳移植モデルを用いた結果に基づき、臨床への探索的研究へ着手する。

### B. 研究方法

(1) 内耳性難聴モデルマウスに対する細胞治療の供給源としてのマウス骨髄間質細胞及びヒト細胞の調整とプロファイリング

マウス骨髄間質細胞 KUSA-A1 及び分離培養したヒト骨髄間質細胞の性質を細胞表面マーカー、gene array を用いたプロファイリングを行い細胞の有する性格を詳細に検討

する。そのデータを利用して、これらの細胞が多分化能を有す状態を保つ培養条件、方法等を確立する。

#### (2) モデルマウスへの移植

ヒト細胞をモルモット内耳に移植する。免疫抑制剤を用いることによる生着を検討する。

マウス骨髄由来間葉系細胞 KUSA-A1 を同種マウス (C3H/He) 内耳に移植し、その生着を検討する。

同種他家移植モデルの検討方法として、梅澤らにより分離培養されたマウス骨髄由来間葉系幹細胞 (KUSA-A1 細胞) を他系統マウスへ移植し、免疫寛容についても検討する。

(3) 内耳機能の病理学的評価システム移植後の内耳における病理組織学的な解析を推進する。光学顕微鏡レベルのみならず、免疫組織学的検討も同時に遂行中である。

### C. 研究結果

#### (1) マウス骨髄間質細胞およびヒト骨髄間葉系細胞の調整とプロファイリング

マウス骨髄間質細胞及びヒト間葉系幹細胞を用いて、細胞表面マーカー、gene arrayを用いたプロファイリングを行い、データベース化した。細胞の有する性格を詳細に検討し、特に骨、軟骨、脂肪、骨格筋、心筋、神経への分化能に注目してその形質を検討して細胞毎に結果を得た。そのデータを利用して、これらの細胞が多分化能を有す状態を保つ培養条件、方法等を確認することに成功した。

#### (2) モデルマウスへの移植

マウス骨髄間質細胞 (KUSA-A1細胞) を同系統マウスへ移植したところ、内耳に骨形成を認めた。細胞注入 (移植) は、正確に行うことが明らかとなった。

ヒト細胞をモルモット内耳に注入したが正確な移植が行われたどうかは不明であった。

#### (3) 病理学的評価システム

モルモット内耳にヒト細胞を移植するにあたり、ヒト特異的に染色されるマーカーを検討したところ、Chromogranin, CD31, Synaptophysin, Alpha1-antitrypsin, CD34に対する市販抗体が有効であることを明らかにした。

### D. 考察

有毛細胞に分化可能であるヒト細胞を探し出すことが肝要である。有毛細胞の形態を試験管内にとることがむずかしいとしても有毛細胞のマーカーを発現するような分化誘導系を確認できることは極めて重要な意義がある。

ヒト細胞移植を行う場合に動物モデル内耳でヒト細胞 (donor cells) を明確にできるマーカーをさらに明らかにする必要がある。

それは、Cell trackerのような色素であるか、EGFPのような蛍光蛋白質 cDNA 導入であるか、ヒト細胞の内在蛋白質であるかは検討の余地がある。SPIOのような鉄材であってもよいと考える。EGFP 遺伝子導入の場合は、その効率を考え、レトロウイルスおよびアデノウイルスベクターを用いることが好ましい。色素の導入効率はほぼ 100% である一方、色素のもちが悪いことおよび移植する細胞自体がいったんとりこんだ色素を吐き出す可能性があることが問題点としてあげられる。

さらに、内耳移植を念頭においた場合、マウスよりもモルモットが内耳が大きいことより好ましい。ヒト細胞およびマウス細胞をモルモットに移植する場合、免疫抑制剤が必要となることが実験をスムーズに遂行する上での支障となる。また、モルモットは近交系が確立していないことより、モルモットに由来する骨髄間質細胞を用いるとしたとしても、他家移植となり、やはり免疫抑制剤が必要となる。自家移植することは、モルモットの骨サイズより考えると難しい。

### E. 結論

マウス骨髄間質細胞 (KUSA-A1 細胞) を同系統マウスへ移植した系において、病理組織学的な解析を行うことを終了し、正確な細胞移植モデルを作成可能であることを示せた。ヒト骨髄間葉系細胞の調整とプロファイリングを元に、ヒト間葉系幹細胞の特徴をデータベース化し、特に骨、軟骨、脂肪、骨格筋、心筋、神経への分化能に注目してその形質を検討して細胞毎に結果を得た。そのデータを利用して、これらの細胞が多分化能を有す状態を保つ培養条件、方法等を確認することに成功した。また、ヒト細胞をモルモットに移植する場合の、ヒト細胞を特異的に認識できる市販抗体が認識する抗原に Chromogranin, CD31, Synaptophysin, Alpha1-antitrypsin, CD34 があることが判明した。間葉系細胞を有毛

細胞を生かせることが可能ならば、内耳性難聴の治療の細胞移植供給源として期待することができる。

Acta., 1725:57-63,2005

## F. 健康危険情報

なし

## G. 倫理面への配慮

当研究所においては、ヒト間葉系細胞の培養に関し、研究面において既に倫理審査を受け、承認を受けている（国立成育医療センター研究所、受付番号 25、26 及び 27、平成 15 年 1 月承認、受付番号 49、平成 15 年 10 月承認、受付番号 55、平成 15 年 11 月承認、受付番号 88、89、90、91 平成 16 年 7 月承認、受付番号 55、平成 16 年 11 月追加承認、受付番号 146、平成 17 年 4 月承認、受付番号 156、平成 17 年 7 月承認）。また、それぞれの組織については倫理的な手続きおよび考え方が年次毎に異なると予想され、「ヒト幹細胞等を用いる臨床研究に関する指針（未定稿）」に従い、最新の社会的な影響を十分に考慮する。なお、研究協力者に倫理専門家を加え、本研究遂行にあたって新たな倫理的問題が生じないよう、常にモニタリングを行い、必要に応じて意見交換を行う予定である。

実験動物を用いる研究については、国立成育医療センター研究所動物実験指針に準拠して研究を実施する（承認番号 2003-002, 2005-003）。特に、動物愛護と動物福祉の観点から実験動物使用は、目的に合致した最小限にとどめる。またその際、麻酔等手段により苦痛を与えない等の倫理的配慮をおこなう。実験者は、管理者と相互協力のもと適切な環境のもと飼育管理を行う。

## H. 研究発表

### 論文発表

1. Matsumoto, S., Shibuya, I., Kusakari, K., Segawa, K., Uyama, T., Shimada, A., Umezawa, A. "Membranous osteogenesis system modeled with KUSA-A1 mature osteoblasts." Biochim Biophys

## I. 知的財産権の出願・登録状況

- 1) 特許取得  
なし
- 2) 実用新案登録  
なし
- 3) その他  
なし



## 分担研究報告書

### 内耳性難聴に対する細胞移植システムの構築

# 内耳へのドラッグデリバリーシステムの研究

分担研究者 神崎 晶 慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科

**研究要旨** 内耳に対する遺伝子導入について検討した。SeV (Sendai virus vector) は RNA virus由来のベクターで遺伝子毒性を抑えた遺伝子運搬体であるが、このベクターを用いて聴覚的検討と形態学的検討を行った。鼓室階と中央階経路にて投与を行い比較した。中央階経路で投与した場合、有毛細胞を含んだコルチ器に感染を認めたが、聴力も低下した。他のウイルスベクターと比べると聴力低下の程度は同じだが、センダイウイルスベクターによる感染効率は高かった。したがってセンダイウイルスベクターは内耳ドラッグデリバリーシステムにとって重要であると考えられる。

#### A. 研究方法

SeV-LacZを内耳に導入した。内耳蝸牛の鼓室階と中央階へ遺伝子導入を行い、感染細胞を形態学的に検討し、聴性脳幹反応を用いた聴覚機能について検討した。

#### B. 研究目的

SeVによる内耳遺伝子導入の検討を行い、有毛細胞や支持細胞など感覚上皮細胞に遺伝子導入をさせることが可能かどうか検討を行うことが目的である。

#### C. 結果

内リンパ腔経路でSeV投与を行った場合、支持細胞を中心に有毛細胞にも遺伝子導入に成功した。これは有毛細胞の前駆細胞と考えられている支持細胞に転写因子を導入することで有毛細胞再生にも有用であることを示した。また、同時にらせん神経細胞や蝸牛外側壁の細胞にも感染した。しかしながら、内耳の構造を破壊して投与することから聴力がある程度低下す

る。一方、外リンパ腔経路で投与した場合、遺伝子は外リンパ腔の線維細胞に主に感染した。聴力はほとんど低下しなかった。

#### D. 考察

上記結果から、内耳遺伝子導入は投与方法によって遺伝子導入する標的細胞が異なることが判明した。しかしながら、機能温存をふまえたウイルスベクターや投与方法の開発を検討する必要がある。内リンパ腔経路の投与による機能低下はコントロール群でも生じており、これはウイルスベクターによるものではなく、アプローチによる問題であると考えられた。

#### E. 結論

SeV投与は内耳遺伝子導入において有用であることを報告した。アプローチによる検討は幹細胞移植においても重要な問題であり、臨床応用に向けた課題であると考えられる。また、内耳の構造を破壊しない遺伝子運搬体

の開発を検討していく必要がある。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

1. **Kanzaki S**, Ito M, Takada M, Ogawa K, Matsuo K, Hearing loss and ossicles of osteoporosis in mice Bone (accepted)
2. **Kanzaki S**, Beyer L, Karolyi IJ, Dolan DF, Probst FJ, Camper SA, Raphael Y, Transgene correction maintains normal cochlear structure and function in 6 month old *Myo15a* mutant mice. Hear Res (accepted)
3. **Kanzaki S**, Beyer L, Stöver T, Kawamoto K, Don , Raphael Y, p27 kip1 deficiency causes organ of Corti pathology and hearing loss. Hear Res (online)
4. **Kanzaki S**. Degeneration and regeneration in auditory system 37-52, In: Degeneration and regeneration in neuron eds Yoneda Y. and Ogita K. Research Signpost, Kerala, India, 2006
5. **神崎 晶**、総説 内耳有毛細胞の再生とらせん神経変性の予防 再生医療 2号; 27-32, 2005
6. Fujioka M, **Kanzaki S**, Okano JH, Ogawa K, Okano H, Cytokine up-regulation mechanism of inner ear after noise exposure. J neuroscience res 2006;83(4):575-83.
7. Masuda M, Nagashima R, **Kanzaki S**, Ogita K, Ogawa K, Nuclear factor-kappa B nuclear translocation in the cochlea of mice following acoustic overstimulation. Brain res, 2006 Jan 12;1068(1):237-247.

#### 学会発表

1. **Kanzaki S**, Shiotani A, Fukumura M, Hasegawa M, Ogawa K; Sendai virus vector mediated transgene expression in the cochlea in vivo. Association for Research in Otolaryngology meeting, Baltimore ,USA, 2006 (oral presentation)
2. **Kanzaki S**, Ito M, Ogawa K, Matsuo K,

Hearing loss and osteoporosis of auditory ossicles in mice. 25<sup>th</sup> Politzer meeting (Korea) 25<sup>th</sup> Politzer award (2005)受賞 2005

3. Masuda M, Nagashima R, **Kanzaki S**, Fujioka M, Ogita K, Ogawa K, Nuclear factor-kappa B nuclear translocation in the cochlea of mice following acoustic overstimulation. Association for Research in Otolaryngology meeting, Baltimore, 2006
4. Fujioka M, **Kanzaki S**, Blockage of interleukin-6 signal after noise exposure ameliorates functional recovery in noise induced hearing loss, Association for Research in Otolaryngology meeting, Baltimore, 2006
5. Iizuka T, **Kanzaki S**, Zhen-Hua Jin, Minowa O, Noda T, Ogawa K, Ikeda K, Gene transfer of a mouse model created by a conditional knockout of *gjb2* gene, Association for Research in Otolaryngology meeting, Baltimore, 2006
6. **神崎 晶**、内耳の細胞死 (アポトーシス) ランチョンセミナー 第15回日本耳科学会 (2005)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

2. 特許取得

#### G. 倫理面への配慮

なし

#### I. 知的財産権の出願・登録状況

- 1) 特許取得  
なし
- 2) 実用新案登録  
なし
- 3) その他  
なし

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Kanzaki S.	Degeneration and regeneration in auditory system	Yoneda Y. and Ogita K.	Degeneration and regeneration in neuron	Research Signpost	Kerala, India	2006	37-52

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kanzaki S, Ito M, Takada T, Ogawa K Matsuo K,	Hearing loss and ossicles of osteoporosis in mice	Bone	Online		2006
Kanzaki S, Beyer L, Stöver T, Kawamoto K, Raphael Y,	p27 kip1 deficiency causes organ of Corti pathology and hearing loss.	Hear Res	Online		2006
Kanzaki S, Beyer L, Karolyi JJ, Dolan DF, Probst FJ, Camper SA, Raphael Y,	Transgene correction maintains normal cochlear structure and function in 6 month old <i>Myo15a</i> mutant mice	Hear Res	Online		2006
小川 郁	【視聴覚の再生】慢性感音難聴に対する治療戦略と人工中耳・人工内耳	再生医療	4巻2号	19-25	2005
神崎 晶、小川 郁	総説 内耳有毛細胞の再生とらせん神経変性の予防	再生医療	4巻2号	27-32	2005
Fujioka M, Kanzaki S, Masuda M, Okano JH, Ogawa K, Okano H	Cytokine up-regulation mechanism of inner ear after noise exposure	J neuroscience res	83(4)	575-583	2006

Masuda M, Nagashima R, Kanzaki S, Ogita K, Ogawa K	Nuclear factor-kappa B nuclear translocation in the cochlea of mice following acoustic over- stimulation.	Brain res		237-247.	2006
Okamoto Y, Hoya N, Kamiya K, Fujii M, Ogawa K, Matsunaga T.	Permanent threshold shift caused by acute cochlear mitochondrial dysfunction is primarily mediated by degeneratio n of the lateral wall of the cochlea.	Audiol Neurot -ol..	10(4)	220-33	2005
小川 郁	耳鼻咽喉科学 耳鳴の 新しい治療 TRT(解説)	医学のあゆみ	216巻4号	315-316	2006
新田清一, 小川 郁, 田副真美	耳鳴患者の心理状態・生 活状況に関する検討	Audiology Japan	48 巻 6 号	617-622	2005
佐藤美奈子, 片岡ち なつ, 田副真美, 小 川 郁	検査結果から考える decision making 小児耳 鼻咽喉科領域の疾患に おける心理検査 小児心 因性難聴を中心に	小児耳鼻咽喉 科	6 巻 2 号	28-31	2005
小川 郁	【耳鼻咽喉科領域におけ る最近の話題 めまい,耳 鳴り,難聴】 耳鳴りの治 療 TRT(解説/特集)	日本医師会雑 誌	134 巻 8 号	1495-1499	2005
小川 郁	五感の生理,病理と臨床 聴覚 突発性難聴	医学のあゆみ	215 巻 9 号	763-767	2005
佐藤美奈子, 小川 郁, 斎藤秀行, 山下 大介, 弓削勇, 増田 正次, 岡本康秀, 栗 田昭宏	突発性難聴治療後患者 に対するアンケート調査 HHIA(Hearing Handicap Inventory for Adults)に よる両側性感音難聴症 例との比較	日本耳鼻咽喉 科学会会報	108 巻 12 号	1158-1164	2005
小川 郁	耳鼻咽喉科領域におけ る難治性疾患】 外リンパ 瘻	JOHNS	21 巻 9 号	1232-1236	2005

小川 郁	【他科医に聞きたいちょっとしたこと】 耳鳴り	クリニシアン	2 巻 7 号	699-701	2005
神崎 仁、神崎 晶	突発性難聴の諸問題—治療成績の評価を中心に—	耳鼻展望	2 月号	10-16	2005
神崎 仁、神崎 晶、	特集; 耳鼻咽喉科領域における難治性疾患 ステロイド依存性難聴	JOHNS	21(9)	1247-1250	2005
Ikeda A, Shiotani A, Mori Y, Fujimine T, Tomifuji M, Takaoka T, Kameyama M, <b>Ogawa K.</b>	Suitability of calcium phosphate cement for injection laryngoplasty in rabbits.	ORL J Otorhinolaryngol RelatSpec.	68(2)	103-109.	2006
Moro K, Shiotani A, Watabe K, Takeda Y, Saito K, Mori Y, <b>Ogawa K.</b>	Adenoviral gene transfer of BDNF and GDNF synergistically prevent motoneuron loss in the nucleus ambiguus	Brain Res.	1076(1)	1-8	2006
Araki K, Shiotani A, Watabe K, Saito K, Moro K, <b>Ogawa K.</b>	Adenoviral GDNF gene transfer enhances neurofunctional recovery after recurrent laryngeal nerve injury.	Gene Ther.	13(4)	296-303	2006

Matsumoto S, Shibuya I, Kusakari K, Segawa K, Uyama T, Shimada A, Umezawa A.	“Membranous osteogenesis system modeled with KUSA-A1 mature osteoblasts.”	Biochim Biophys Acta.	1725	57-63	2005
Lu FZ, Fujino Kitazawa Y, Uyama T, Hara Y, Funeshima N, Jiang JY, Umezawa A, XK. Y,	“Characterization and gene transfer in mesenchymal stem cells derived from human umbilical-cord blood.”	J Lab Clin Med.	146(5)	271-278	2005
Matsushita K, Iwanaga S, Oda T, Kimura K, Shimada M, Sano M, Umezawa A, Hata J, Ogasawa S.	“Interleukin-6/soluble interleukin-6 receptor complex reduces infarct size via inhibiting myocardial apoptosis.”	Lab Invest.	85(10)	1210-1223.	2005
Tsuchiya K, Miyoshi S, Makino H, Matsumoto K, Saito H, Ogawa S, Sakamoto M, Hata J, Umezawa A.	“Combination of hTERT and bmi-1, E6, or E7 induces prolongation of the life span of bone marrow stromal cells from an elderly donor without affecting their neuro-genic potential.”	Mol Cell Biol.	25(12)	5183-5195	2005
Kawashima N, Shindo K, Sakamoto K, Kondo H, Umezawa A, Kasugai S, Perbal B, Suda H, Takagi M, Katsube K.	Molecular and cell biological properties of mouse osteogenic mesenchymal progenitor cells, Kusa.”	J Bone Miner Metab.	23(2)	123-33	2005
Terai M, Uyama T, Sugiki T, Li XK, Umezawa A, Kiyono T.”	“Immortalization of human fetal cells: the life span of umbilical cord blood-derived cells can be prolonged without manipulating p16INK4a/RB breaking pathway.	Mol Biol Cell.	16(3)	1491-1419	2005

Mori T, Kiyono T, Imabayashi H, Takeda Y, Tsuchiya K, Miyoshi S, Makino H, Matsumoto K, Saito H, Ogawa S, Sakamoto M, Hata J, <b>Umezawa A.</b>	“Combination of hTERT and bmi-1, E6, or E7 induces prolongation of the life span of bone marrow stromal cells from an elderly donor without affecting their neurogenic potential.”	Mol Cell Biol.	25(12)	5183-5195	2005
Higuchi A, Shindo Y, Gomei Y, Mori T, Uyama T, <b>Umezawa A.</b>	“Cell separation between mesenchymal progenitor cells through porous polymeric membranes.”	J Biomed Mater Res B Appl Biomater.	74(1)	511-519	2005
Kuroda M, Oikawa K, Yoshida K, Takeuchi A, Takeuchi M, Usui M, <b>Umezawa A, Mukai K.</b>	“Effects of 3-methylcholanthrene on the transcriptional activity and mRNA accumulation of the oncogene hWAPL.”	Cancer Lett.	221(1)	21-28	.2005

## 慢性感音難聴に対する治療戦略と 人工中耳・人工内耳

*Middle ear implant and cochlear implant as a therapeutic strategy  
for chronic sensorineural hearing loss*

### Keywords

人工中耳→用語解説 132 頁

人工内耳→用語解説 133 頁

補聴器

有毛細胞再生

小川 郁

慶應義塾大学医学部 耳鼻咽喉科学

### Summary

Conventional hearing aids pick up acoustic signals by a microphone and convert them to electric signals, and again converted back them into acoustic signals by a receiver. In these converting processes, several acoustic distortions are produced, which may result in the poor sound quality of hearing aids. Conventional hearing aids also have other problems including feedback effect, hassle to wear, stigma of wearing a hearing aid, comfort and occlusion, and cosmetics. On the other hand, implantable hearing aids or middle ear implants replace receiver of conventional hearing aids to an output transducer that directly vibrates the ossicular chain. The concept of conversion may produce good sound quality and is also expected to resolve other problems of conventional hearing aids.

In this paper, implantable hearing aids (middle ear implants) and cochlear implants are reviewed and the pros and cons of these implantable devices are discussed.

### はじめに

再生医学の目覚ましい進歩によって、組織再生や臓器再生による疾病治療も現実のものとなってきている。Ramón y Cajalの提唱以来、不可能とされてきた中枢神経再生も実験的には可能となってきており、近い将来、臨床的にも実用化されるものと期待されている。しかし、内耳を初めとする感覚器の再生に関しては、いまだ多くのハードルがある。たとえば、聴覚の感覚器官である蝸牛の領域では、その感覚細胞である有毛細胞再生に関する多くの研究がなされているが、単に有毛細胞を再生できるとしても、必ずしも聴覚を獲得できるとはいえない。支持細胞を含めた複雑な感覚器(コルチ器)の構造を再生有毛細胞により再建する方法に関しては、明確な見通しは立っていないのが現状である。このように、蝸牛再生による慢性感音難聴治療への

Ogawa, Kaoru

Department of Otolaryngology, Keio University School of Medicine

E-mail : ogawak@sc.itc.keio.ac.jp



道のりは、いまだ遠いといえる。

しかし一方で、日本は世界にも類をみない高齢化社会を迎えており、難聴などの感覚器障害者も急増しているという現実がある。聴覚と言語機能は表裏一体の関係にある。難聴によるコミュニケーション障害はQOL(quality of life)低下の大きな原因となることは明らかであり、高齢者の社会的孤立など社会的にも重要な問題となっている。急増している難聴の多くは内耳障害による慢性感音難聴であり、現時点では有効な治療法はない。したがって、慢性感音難聴に対する現時点でのアプローチ法としては、補聴器などを用いたりハビリテーションが中心となる。しかし、補聴器には後述するような多くの問題点もあり、その解決のために人工中耳や人工内耳などの人工臓器による機能回復に関して、さまざまな検討がなされている。

従来の補聴器が音響信号を電気的に

増幅して、再度、空気振動である音響信号として出力するのに対して、増幅した音響信号を機械的振動として直接耳小骨に伝達する人工中耳では、歪みの少ない優れた音質が得られるものと期待されている。こうした音響的な補聴が適応できない高度難聴に対しては、人工内耳が用いられている。人工内耳は蝸牛に埋め込んだ電極により直接蝸牛神経を刺激するため、蝸牛有毛細胞が高度に障害されていても効果が期待できる。わが国でも、すでに4,000名に及ぶ高度難聴者が人工内耳を使用しており、近年では先天性難聴などの乳幼児にも適応が拡大されている。このように、人工内耳はすでに一定のクオリティに達しており、今後、高度の慢性感音難聴に対する再生医療の確立を待つよりは、改良を重ねて、よりクオリティの高い人工内耳を目指すほうが現実的であるともいえる。したがって、蝸牛の再生医療が当面目指

すものは、人工内耳が適応にならない慢性感音難聴の治療であり、その対極に位置するアプローチは人工中耳である。本稿では、特に人工中耳および人工内耳の概要および現状を中心に解説し、併せて今後解決すべき問題点などについて論じたい。

## 人工内耳について

人工内耳は、これまで医学的治療が不可能であった慢性の高度感音難聴ないしは全聾(ろう)患者の蝸牛内に電極を埋め込み、蝸牛神経を直接に電気刺激することにより聴覚を取り戻すという人工臓器である。補聴器も有効でない高度感音難聴または全聾患者は、これまで手話や唇の動きを読み取る読話、あるいは筆談を余儀なくされてきたが、この最新のテクノロジーを利用した人工内耳の出現は、これら難聴患者にとって大きな福音となっており、耳鼻咽喉科の歴史の中でも極めて画期的な進歩であるといえる。現在、わが国ではコクレア、クラリオン、メドエル各社の人工内耳が認可されている。

側頭骨に埋め込まれるものは受信コイル、IC回路と電極である(図1)。すべて頭皮下に埋め込まれるので洗髪や水泳も可能である。音は耳介に掛けられたマイクで拾われ、この電気信号は音声信号処理が瞬時に行われる携帯用スピーチプロセッサに送られる(図2)。処理された音声信号は送信コイルに送られ、電磁誘導によって頭皮を通して埋め込まれた送信コイルに伝

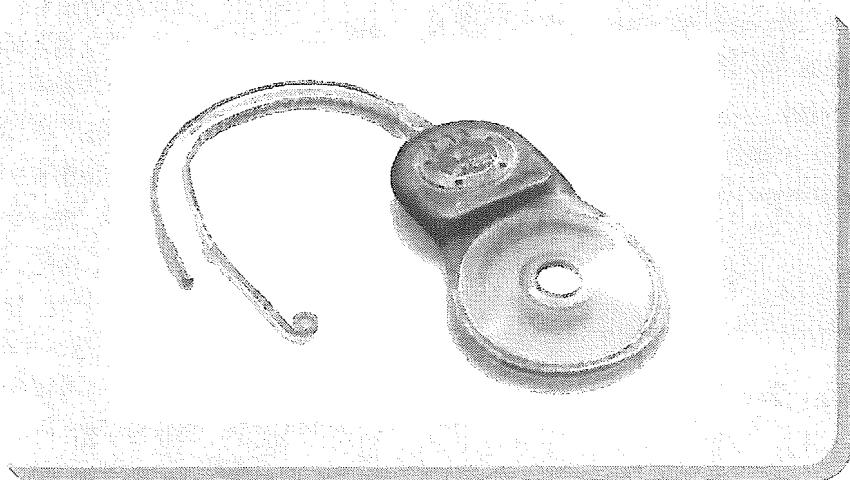


図1 コクレア人工内耳埋め込み部分

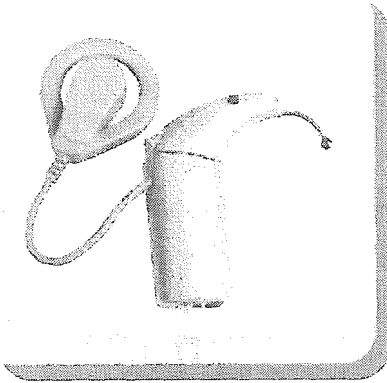


図2 コクレア人工内耳体外部分

えられる。これにより、蝸牛に埋め込まれた電極から電流パルスが発生し、周辺の蝸牛神経を刺激することで音として知覚される(図3)。

音声信号はサウンドスペクトログラムで分析すれば、音のエネルギーが強い周波数に一致するフォルマントに分離される。したがって、各音声に特徴的なフォルマントに対応する電極を刺激電極とすることにより、音声の認識が可能となる。音声信号の強さ、つまり声の大きさに応じて刺激パルスの電流量が、声の高さに応じて刺激パルスの頻度に変化するようにプログラムされている。人工内耳の適応症例の選択基準は日本耳鼻咽喉科学会が規定しており、①成人では両側90dB以上、小児では100dB以上の高度感音難聴であること、②補聴器の装用効果が乏しいこと、③成人では言語習得後(5~6歳以後)の失聴者であること、などである。補聴器装用効果の客観的評価を行うためには、ビデオテープに収録された語音聴取検査を行い、正答率が母

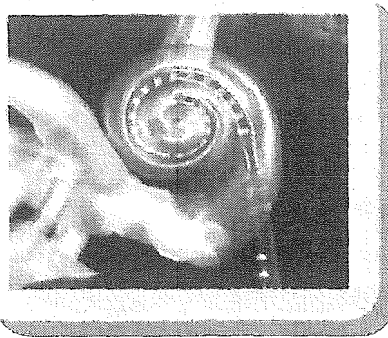


図3 蝸牛に挿入されたコクレア人工内耳の電極

音について20%未満、単音節について数%、単語について0%であり、かつ補聴器+読話でも読話単独の場合よりも正答率が上がらないことが示されれば、補聴器装用効果がないと判断してよいことになっている。先天性で成人した者は、環境音の聴取には役立つが語音聴取能の改善が乏しいという点から、積極的に手術の対象とされていない。小児では手術時期が重要であり、正確な聴力検査ができる年齢まで待てれば、適応の決定はより確実であるが、十分な音刺激がないままに言語獲得の臨界期(4~5歳)を過ぎれば脳の聴覚中枢の発達に限界があり、人工内耳の適応も限定される。現在では、よりよい成績を求めるために、2~3歳までの早期に人工内耳による刺激を開始するべきという方向に向かっている。低年齢では成人で行う語音検査ができないので、聴性行動観察による音声・言語機能評価で効果を判定するが、これによれば2年間で補聴器が有効であった難聴児と並ぶ、あるいはそれ以

上の効果が確認されている。このように、人工内耳の有効性、安全性、生体との適合性については、かなり満足できる段階にあり、すでに高度感音難聴に対する有効な外科的治療法としての高い評価を得ているといえる。

### 従来の補聴器の問題点と人工中耳開発のコンセプト

近年の高齢化により、補聴器装用が必要な難聴者の数は増加しているが、米国での大規模な調査でも補聴器装用の必要な難聴者の12%程度しか日常的に補聴器を装用していないとされている<sup>1)</sup>。このような現状の原因となっている従来の補聴器の問題点として、補聴器そのものの電子工学的特性や、補聴を必要とする聴器の損傷の種類や程度に起因する問題など、補聴効果にかかわる問題と、補聴器を装用したときの装用感や美容など、補聴効果以外の問題が指摘されている。このうち、補聴器の電子工学的特性に関しては、近年の電子工学技術の進歩による補聴器の小型化やデジタル化によって解決されてきた問題も少なくない。一方、聴器の損傷に起因する問題としては、感音難聴における補充現象を初めとして、いまだ解決できない問題も少なくないが、こうした聴器に起因する問題もデジタル化の技術によってある程度は補える可能性もあり、今後の更なる進歩が期待されている。

従来の補聴器は、音響信号を電気的に増幅し、再び空気の振動として出力することで鼓膜を振動させるものであ

る。つまり、いかに信号をデジタル処理しても、最終的には再度空気の振動として出力することになり、この際に回避できないさまざまな音響歪みが発生する。このような従来の補聴器の音響信号変換様式を根本的に変えて、さらに体内に埋め込むことによって装用感や美容上の問題をも解決しようとした補聴器が埋め込み型補聴器 (implantable hearing aid) または人工中耳 (middle ear implant) である。以下、特に限定する必要がない場合は人工中耳として述べる。現在開発されている人工中耳の多くは、現時点ではわが国で認可されていないが、近い将来には臨床導入される可能性は高く、今後の補聴研究の重要なテーマの一つであることには異論はない。

補聴器を体内に埋め込む考えは古くよりあったが<sup>2)</sup>、実際に臨床応用された人工中耳は、世界に先駆けてわが国で開発された。1978年、通産省工業技術院新医療福祉機器開発プロジェクト (人工中耳) として開発されたバイモルフ・圧電セラミクス (piezoelectric ceramic bimorph) を用いた RION 型人工中耳は、1984年からの埋め込み臨床試験を経て、1993年には高度先進医療技術として認可されている<sup>3)</sup>。RION 型人工中耳は、極めて画期的な補聴器として欧米からも注目されたが、この人工中耳が臨床的に頻度のそれほど高くない鼓室硬化症や癒着性中耳炎などで、鼓室形成術を行っても十分な聴力改善が期待できない伝音難聴または混合難聴を適応疾患とした

ことから、一般に広く普及するには至らなかった<sup>4)</sup>。このような疾患の多くでは蝸牛機能は比較的よく保たれており、従来の補聴器でもある程度は満足できる補聴効果が得られることも、RION 型人工中耳が広く普及しなかった一因である。しかし、耳小骨を直接機械的に刺激する人工中耳では、従来の補聴器に比べて音質が優れているなどの利点を明らかにした意味では大きな功績があったといえる。一方、1990年代より欧米を中心に、主に電磁誘導を応用した新しい人工中耳の開発が進み、適応疾患を老人性難聴を初めとする感音難聴として、RION 型人工中耳とは異なった観点からさまざまな試みがなされてきた。

### 新しい人工中耳の構造と原理

従来の補聴器が音響信号を電氣的に増幅して、再度、空気振動である音響信号として出力するのに対して、増幅した音響信号を直接耳小骨に伝達する人工中耳では、通常の補聴器に比べて歪みの少ない優れた音質が得られるものと期待されてきた。実際、通常の補聴器で問題となる高調波歪み、相互歪み、過渡歪みなどの入力音に対する音響的修飾は、人工中耳では大きく減少することが明らかになっている。また、従来の補聴器とは異なり、外耳道を開放したままで使用できるため、補聴器の音響的欠点であるハウリングなどのフィードバック効果がないという利点も期待されている。

人工中耳では、直接耳小骨を振動させるための振動子が不可欠である。RION 型人工中耳ではバイモルフ・圧電セラミクスを用いた振動子が用いられたが、この振動子では十分な出力が得られないために適応症例も限定された。一方、最近開発されている人工中耳では、より大きな出力が可能な電磁誘導を応用した振動子が用いられている。また、現在開発されている人工中耳のほとんどは半埋め込み型であるが、全埋め込み型人工中耳に向けて開発が続けられている。

以下、代表的な人工中耳を紹介する。

#### 1. Symphonix 型人工中耳

Symphonix 型人工中耳は、米国食品医薬品局 (food and drug administration: FDA) から初めて承認された人工中耳であり、チタンケースに納められたユニークな floating mass transducer (図4) をキスタ骨長脚に装着して、キスタ骨を駆動する。チタンケースの周囲には電磁コイルが位置し、電磁コイルの刺激により小型マグネットが振動し、floating mass transducer 全体の振動となる (図5)。本人工中耳では、特に高音域の補聴効果の改善や騒音下での補聴効果の改善などの利点が強調されている<sup>5)</sup>。

Symphonix 型人工中耳の問題点は、floating mass transducer をキスタ骨長脚に装着するための大きな posterior tympanotomy が必要なことであり、長期的には振動を受けるキスタ骨長脚に壊死や接合部のスリップなどが生じ

る可能性である。このような長期的な安定性や安全性に関しては、今後の検討が必要である。

## 2. Otologic型人工中耳

Otologic型人工中耳のトランスデューサは、ステンレス製の容器に収納された電磁モーターである。電磁モーターにより振動する振動子をレーザーで開けたキヌタ骨の小孔に挿入し、接合する。トランスデューサは、受信コイルとFMサーキットよりなる体内パッケージに接続される(図6)。

側頭骨外側に埋め込まれる体内パッケージに体外部より経皮的に信号が送信される機構は人工内耳と同様であり、体外部は側頭部に装着するボタン型プロセッサである(図7)。ボタン型プロセッサは目立たないように徐々に小型化されてきている。

Otologic型人工中耳のトランスデューサの出力は1,000dyneであり、これは鼓膜面における140dB SPLの音圧に相当する。周波数特性は10kHzまではほぼ一定であり、10kHz以上で減衰するが、通常の音声信号の周波数特性から考えて十分な周波数特性といえる。出力は80dBまでのダイナミックレンジではほぼ線形であるとされている。このように、出力の点から補聴効果でも最も期待されている人工中耳であるが、キヌタ骨への接合状態により補聴効果が異なるなどの問題点も指摘されており、接合状態を術中にモニタリングする方法が考案されている。

他の機種と同様に、全埋め込み型の開発が進行している。

## 人工中耳の適応と問題点

人工中耳の適応症例の選択規準は、今後の臨床試験や臨床導入後の補聴効果により再検討されるべきであるが、ここでは現時点での一般的な選択規準は以下の通りである。

①18歳以上(年齢の上限はなし)。

②気骨導差が10dB以下(500~4kHz)でTympanogram type Aを示す両側感音難聴。

③人工内耳の適応となる高度難聴ではないこと。

④従来の補聴器にて満足する補聴効果が得られないこと。

⑤聴神経腫瘍などの後迷路性疾患がないこと。

⑥全身麻酔下の埋め込み手術に支障となる全身疾患がない症例。

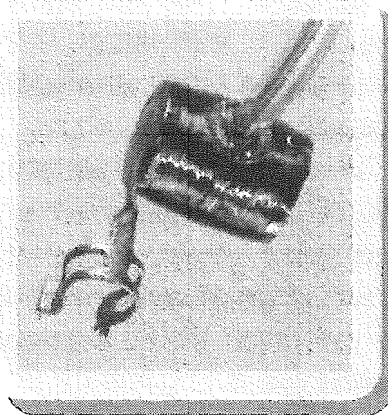


図4 floating mass transducer

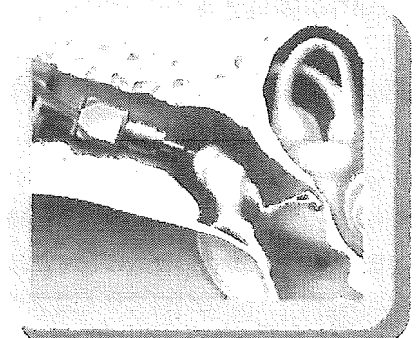


図6 Otologic型人工中耳の概観

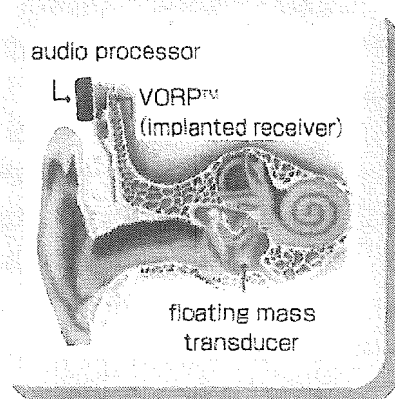


図5 Symphonix型人工中耳の概観

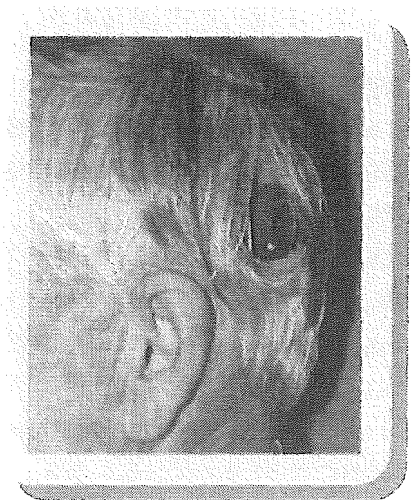


図7 側頭部にマグネットで装着されたボタン型プロセッサ