

- signaling in damaged cochleae of guinea pigs. Age Related Hearing Impairment, International Congress 2007, Antwerp, Belgium. May.23-25, 2007
17. Nakagawa T, Okano T, Lee KY, Ito J. Local delivery of IGF1 by gelatin hydrogels for hearing loss. 2007 American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery Annual Meeting, Washington DC, USA, Sep. 16-19, 2007.
  18. Hori R, Nakagawa T, Sakamoto T, Okano T, Kikkawa YS, Ono K, Matsunaga Y, Matsushita Y, Shiroya T, Ito J. Effects of prostaglandin E receptor agonists on the inner ear. The 31th MidWinter Meeting of Association for Research in Otolaryngology. Arizona, Phoenix, USA, February 16-21, 2007.
  19. Inaoka T, Kikkawa YS, Nakagawa T, Tabata Y, Tsubouchi H, Ido A, Hori R, Ono K, Ito J. The Potential of Hepatocyte Growth Factor (HGF) for Protection of Cochlear Hair Cells. The 31st Midwinter Meeting of Association for Research in Otolaryngology. Phoenix, Arizona, USA, Feb. 16-21, 2008.
  20. Ono K, Kojima K, Nakagawa T, Matsumoto M, Kawauchi T, Ito J. RNA interference for p27 induces cell cycle reentry of postmitotic cochlear supporting cells. The 31st Midwinter Meeting of Association for Research in Otolaryngology. Phoenix, Arizona, USA, Feb. 16-21, 2008.
  21. Gyo K. Topical hypothermia for idiopathic sudden sensorineural hearing loss. The 9th 2007 Japan-Taiwan Conference in Oto-Rhino-Laryngology, Head and Neck Surgery. 平成 19 年 11 月 9 日～10 日 仙台.
  22. Gyo K, Yoshida T, Fujita K, Takeda S, Hyodo J. Ischemic hearing loss and its underlying mechanisms. 26th Politzer Society Meeting. 平成 19 年 10 月 13 日～16 日 Cleveland, Ohio, USA.
  23. Takeda S, Yoshida T, Hakuba N, Hyodo J, Fujita K, Hata R, Gyo K: Ischemic tolerance in the cochlea. 26<sup>th</sup> Politzer Society. 平成 19 年 10 月 13 日～16 日. Cleveland, Ohio, USA.
  24. 堀 龍介、中川隆之、坂本達則、竹林慎治、小島 憲、山本典生、岡野高之、松本昌宏、嘉田真平、伊藤壽一：ノッチ情報伝達系阻害剤の内耳投与による有毛細胞再生 第 108 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 平成 19 年 5 月 17 日～19 日 金沢.
  25. 稲岡孝敏、中川隆之、伊藤壽一：ハイドロゲルを用いた rhIGF-1 局所投与の音響外傷に対する有効性の検討 17 回日本耳科学会学術講演会、平成 19 年 10 月 18-20 日、福岡.
  26. 堀江理恵、中川隆之、坂本達則、吉川弥生、小野和也、田畑泰彦、伊藤壽一：生体吸収材料を用いた内耳リドカイン徐放に関する研究. in vitro. 2007 年 10 月 18 日. 第 17 回耳科学会. 福岡.
  27. 堀 龍介、中川隆之、坂本達則、伊藤壽一：EP2・EP4 作動薬内耳局所投与による HGF・VEGF への影響 第 17 回日本耳科学会 平成 19 年 10 月 18 日～20 日

- 福岡.
28. 小野和也、小島 憲、中川隆之、松本昌宏、伊藤壽一：哺乳類蝸牛支持細胞における p27kip1RNA 干渉 第 17 回日本耳科学会総会 平成 19 年 10 月 18-21、福岡.
  29. 堀江理恵、中川隆之、坂本達則、吉川弥生、小野和也、田畑泰彦、伊藤壽一：難治性耳鳴治療における内耳リドカイン徐放に関する研究. 2007 年 11 月 8 日. 第 10 回日本組織工学会. 東京.
  30. 兵頭 純、本吉和美、古田口裕、竹田将一郎、羽藤直人、暁 清文：突発性難聴における MRA による AICA 描出に関する検討. 急性高度難聴に関する調査研究 平成 19 年度第 2 回研究報告会. 平成 20 年 2 月 9 日 東京.
  31. 兵頭 純、暁 清文：めまいを伴う突発性難聴の MRA による前下小脳動脈の形態評価. 第 66 回日本めまい平衡医学会総会. 平成 19 年 11 月 14~16 日 大阪.
  32. 兵頭 純、前谷俊樹、暁 清文、白馬伸洋：突発性難聴に対するエダラボンの治療効果の検討. 第 52 回日本聴覚医学会総会. 平成 19 年 10 月 4~5 日 名古屋.
  33. 竹田将一郎、吉田 正、藤田健介、兵頭純、羽藤直人、暁 清文：一過性虚血後の内耳に対する低体温の影響についての検討. 第 52 回日本聴覚医学会総会. 平成 19 年 10 月 4~5 日 名古屋.
  34. 羽藤直人、兵頭 純、暁 清文、篠森裕介、白馬伸洋：突発性難聴に対する内耳低温療法. 第 69 回耳鼻咽喉科臨床学術講演会. 平成 19 年 7 月 6~7 日 東京.
  35. 羽藤直人、菰渕勇人、暁 清文：再生促進を目的とした顔面神経減荷手術 — 生体吸収性ゼラチンハイドロゲルを用いた b-FGF の徐放投与 —. 第 17 回日本耳科学術講演会. 平成 19 年 10 月 18~20 日 福岡.
  36. Nakagawa T. Future stem cell therapy for sensorineural hearing loss. The 1st International Conference on Hearing: Stem Cells Therapeutic Perspectives. Rome, Italy, May 10, 2008.
  37. Nakagawa T. Inner Ear Drug Delivery System: From the Bench to the Clinic. Pharmacophysiological approach. The 25th Barany Society Meeting. Kyoto, Japan, April 2, 2008.
  38. Kada S, Nakagawa T, Ito J. Animal Model for Regeneration of Cochlear Lateral Wall. The 25th Barany society meeting Kyoto, Japan, Mar. 31-Apr. 3, 2008.
  39. Horie R, Sakamoto T, Nakagawa T, Tabata Y, Ito J. Controlled release of lidocaine into the cochlea via biodegradable materials. X X III Barany Society Meeting, Kyoto, Japan, Mar. 31-Apr 4, 2008.
  40. Nakagawa T, Kikkawa YS, Horie RT, Ito J. Hydrogen rescues auditory hair cells from reactive oxygen species. The 32nd Midwinter Meeting of Association for Research in Otolaryngology. Baltimore, MA, USA, Feb. 15, 2009.
  41. Hamaguchi K, Nakagawa T, Hori R, Yamamoto N, Sakamoto T, Ito J. Prostaglandin E receptor agonists

- stimulate production of vascular endothelial growth factor in the mouse cochlea. The 32nd Midwinter Meeting of Association for Research in Otolaryngology. Baltimore, Maryland, USA, Feb. 14-19, 2009
42. Horie R, Sakamoto T, Nakagawa T, Ito J. Efficacy of Stealth Nano-Particles Encapsulating Betamethasone for Attenuation of Noise Induced Hearing Loss in Mice. The 32st Midwinter Meeting of Association for Research in Otolaryngology. Baltimore, Maryland, USA, Feb. 14-19, 2009.
  43. Sekiya T, Matsumoto M, Kojima K, Ono K, Kikkawa YS, Nakagawa T, Viberg A, Canlon B, Ito J. Quantitative Evaluation of the Cochlea and Cochlear Nucleus after Auditory Nerve Compression. The 32nd MidWinter Meeting of Association for Research in Otolaryngology. Baltimore, Maryland, USA, February 14-19, 2009.
  44. Kada S, Nakagawa T, Ito J. Functional Regeneration of the Spiral Ligament by Cell Transplantation in Mice. The 32nd Midwinter Meeting of Association for Research in Otolaryngology. Baltimore, Maryland, USA, Feb. 14-19, 2009.
  45. Nakagawa T, Kada S, Ito J. The potential of cell therapy for hearing loss caused by degeneration of the spiral ligament. The 45th Workshop on Inner Ear Biology. Ferrara, Italy, September 21-24, 2008.
  46. Horie R, Sakamoto T, Nakagawa T, Tabata Y, Ito J. Attenuation of tinnitus: A Novel strategy using inner ear drug delivery system. The 45th Inner Ear Biology. Ferrara, Italy, Sep. 21-24, 2008.
  47. Ogita H, Nakagawa T, Inaoka T, Sakamoto T, Ito J. Transplantation of Bone-Marrow Stromal Cell-Derived Neural Progenitors for Regeneration of The Spiral Ganglion Neurons. The 45th Inner Ear Biology Workshop. Ferrara, Italia, Sep. 21-24, 2008.
  48. Yamamoto N, Ito J, Kelley MW. Nonmuscle Myosin II Regulates Cochlear Elongation through Regulation of Cell Size and Convergent Extension. 45th Inner Ear Biology Workshop, Ferrara, Italy. September 21st-24th, 2008.
  49. Tatsunori SAKAMOTO, Koji NISHIMURA, Takatoshi INAOKA, Takayuki NAKAGAWA, Juichi ITO. Inner Ear Regeneration by Induced Pluripotent Stem (iPS) Cells. 45th Inner Ear Biology Workshop. Ferrara, Italy. 2008.9.21-2008.9.24
  50. Nakagawa T, Ono K, Kojima K, Matsumoto M, Kawauchi T, Ito J. RNA interference of p27<sup>kip1</sup> induces proliferation of post-mitotic supporting cells in mouse auditory epithelia. Cell replacement in the inner ear. Bethesda, MD, USA, June 13-15, 2008.
  51. Sakamoto T, Nakagawa T, Horie R, Ito J, Tabata Y, Ishihara T, Higaki M. Inner Ear Therapies Against Hearing Impairment and Tinnitus Using Inner Ear Drug Delivery Systems. the

- Conference on Cell Replacement in the Inner Ear. Bethesda, MD /USA. Jun. 12-15 2008
52. Nakagawa T, Hiraumi H, Sakamoto T, Kikkawa Y, Lee KY, Okano T, Hori R, Ono K, Tabata Y, Hato N, Gyo K, Ito J. Novel therapy for hearing loss: Delivery of insulin-like growth factor-1 to the cochlea by gelatin hydrogels. The 12th Japan-Korea Joint Meeting of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Nara, Japan, April 3-5, 2008.
  53. Hyodo J, Motoyoshi K, Furutagucgi Y, Hato N, Gyo K: Evaluation of the anterior inferior cerebellar artery configuration by MRA for idiopathic sudden hearing loss with vertigo. XXV Bárány Society Meeting. 2008年3月31日~4月3日、京都.
  54. Gyo K: Occlusion of the ear canal and its effects on hearing tests. The 12th JAPAN-KOREA Joint Meeting of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery. 2008年4月3日~5日、奈良.
  55. Fujita K, Hakuba N, Hyodo J, Gyo K: Ginsenoside Rb1 protects against inner ear damage after transient ischemia. The 12th JAPAN-KOREA Joint Meeting of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery. 2008年4月3日~5日、奈良.
  56. 堀江理恵、中川隆之、坂本達則、田畑泰彦、岡村 昇、伊藤壽一: 生体吸収材料を用いたリドカイン徐放に関する研究 第7回日本再生医療学会、平成19年3月13日~14日、名古屋
  57. 中川隆之: 薬物の経正円窓投与 内耳疾患の治療をめざして—基礎研究の最新線. 第109回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会、2008年5月16日、大阪
  58. 堀 龍介、中川隆之、坂本達則、伊藤壽一: PGE受容体作動薬内耳局所投与による内耳保護効果 第109回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会、平成20年5月15日~17日、大阪.
  59. 扇田秀章、中川隆之、坂本達則、稲岡孝敏、小島 憲、伊藤壽一: 骨髄間質細胞を用いたラセン神経節再生について. 第109回日本耳鼻咽喉科学会学術総会、平成20年5月15日~17日、大阪.
  60. 吉川弥生、中川隆之、伊藤壽一: 活性酸素理論に基づく内耳性難聴の病態モデル作成. 第109回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会. 平成20年5月17日~19日 大阪.
  61. 平海晴一、三浦 誠、金丸眞一、坂本達則、伊藤壽一: 既往疾患の突発難聴に対する影響. 第70回耳鼻咽喉科臨床学会総会・学術講演会、平成20年6月27~28日、長崎市.
  62. 中川隆之、小野和也、小島 憲、松本昌宏、伊藤壽一: p27RNA 干渉によるマウス蝸牛感覚上皮支持細胞の細胞分裂誘導 第18回日本耳科学会、平成20年10月16日~18日、神戸.
  63. 坂本達則、堀江理恵、中川隆之、伊藤壽一. ステルス・ナノ・ステロイドによる音響外傷治療. 第18回日本耳科学会. 平成20年10月16日~18日、神戸.
  64. Horie R, Nakagawa T, Sakamoto T, Tabata Y, Ito J. Attenuation of tinnitus: Novel strategy using inner ear drug delivery system. 第18回耳

- 科学会、平成 19 年 10 月 16 日～18 日、神戸。
65. 扇田秀章、中川隆之、稲岡孝敏、坂本達則、伊藤壽一：Regeneration of spiral ganglion neurons through transplantation of bone marrow stromal cells、第 18 回日本耳科学会学術総会、平成 20 年 10 月 16 日～18 日、神戸。
66. 瀧口清海、堀 龍介、中川隆之、山本典生、伊藤壽一：PGE 受容体作動薬内耳局所投与による内耳保護効果とその機序の検討 第 18 回日本耳科学会、平成 20 年 10 月 16 日～18 日、神戸
67. 吉川弥生、中川隆之、伊藤壽一：蝸牛感覚上皮における水素ガスの活性酸素除去効果。第 18 回日本耳科学会総会・学術講演会、平成 20 年 10 月 16 日～18 日、神戸。
68. 嘉田真平、中川隆之、瀧口清海、伊藤壽一：The Recovery of Endocochlear Potentials by the Transplantation of Bone Marrow Stromal Cells in Mice. 第 18 回日本耳科学会 (English Session)、平成 20 年 10 月 16 日～18 日、神戸。
69. 羽藤直人：b-FGF の徐放投与による再生促進を目的とした顔面神経減荷手術 第 7 回日本再生医療学会総会 平成 20 年 3 月 13 日～14 日、名古屋。
70. 前谷俊樹、兵頭 純、暁 清文：内耳障害に対するフリーラジカルスカベンジャーの効果 第 109 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 平成 20 年 5 月 15 日～17 日、大阪。
71. 菰刈勇人、羽藤直人、高橋宏尚、脇坂浩之、寺岡正人、澤井尚樹、暁 清文：顔面神経麻痺モデルを用いた bFGF 徐放による神経再生促進効果 第 109 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会、平成 20 年 5 月 15 日～17 日、大阪。
72. 羽藤直人、菰刈勇人、澤井尚樹、寺岡正人、暁 清文：b-FGF の徐放投与による再生促進を目的とした顔面神経減荷手術 第 70 回耳鼻咽喉科臨床学会学術講演会 平成 20 年 6 月 27 日～28 日、長崎。
73. 高木大樹、羽藤直人、兵頭 純、暁 清文：内耳低温療法を用いた突発性難聴の治療検討 第 53 回日本聴覚医学会総会・学術講演会、平成 20 年 10 月 2 日～3 日、東京。
74. 竹田将一郎、白馬伸洋、兵頭 純、羽藤直人、暁 清文：一過性虚血後の内耳に対する低体温の保護効果：第 18 回日本耳科学会総会学術講演会、2008 年 10 月 16 日～18 日、神戸。
75. 堀江理恵、坂本達則、中川隆之、岡村 昇、田畑泰彦、伊藤壽一。耳鳴治療薬の開発と内耳ドラッグデリバリーシステム (DDS) を用いた新戦略。第 8 回再生医療学会、平成 21 年 3 月 5 日～6 日、東京。
- G. 知的所有権の取得状況
- 1) 特許取得  
なし
- 2) 実用新案登録  
なし
- 3) その他  
なし

研究成果の刊行に関する一覧表

著書

著者氏名	タイトル名	書籍名・編者名など	頁	出版社名	出版地	出版年
中川隆之、 伊藤壽一	12. BDNF 2) 内耳	細胞増殖因子と再生医療 松本邦夫, 田畑泰彦編	346-350	メジカル レビュー社	大阪	2006
中川隆之	内耳再生の ストラテジー	メディカルバイオ	56-61	オーム社	東京	2007
暁 清文	虚血性内耳病 変の発生機序 と臨床	虚血性内耳病変の発生 機序と臨床	2-131	愛媛大学	愛媛	2007
中川隆之、 伊藤壽一	第2章 生体シグナル 因子の利用 1. 細胞増殖因子	臨床再生誘導治療 2009 患者までとどいている再 生誘導治療 田畑泰彦編	予定	メディカル ドゥ	大阪	2009

## 論文

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	出版年・巻号・頁
Iwai K, Nakagawa T, Endo T, Matsuoka Y, Kita T, Kim TS, Tabata Y, Ito J.	Cochlear protection by local IGF-1 application using biodegradable hydrogel.	Laryngoscope	116: 526-533, 2006.
Suzuki T, Nomoto Y, Nakagawa T, Kuwahata N, Ogawa H, Suzuki Y, Ito J, Omori K.	Age-dependent degeneration of the stria vascularis in human cochleae.	Laryngoscope	116: 1846-1850, 2006.
Okano T, Nakagawa T, Kita T, Endo T, Ito J.	Cell-gene delivery of brain-derived neurotrophic factor to the mouse inner ear.	Mol Ther	14: 866-871, 2006.
田畑泰彦	Tissue Engineeringの最前線-生体組織の再生誘導治療を実現する医工学技術	医学のあゆみ	217: 463-467, 2006.
Hato N, Kohno H, Okada M, Hakuba N, Gyo K, Iwakura T, Tateno M.	A new tool for testing ossicular mobility during middle ear surgery: preliminary report of four cases.	Otol Neurotol	27:592-595, 2006.
中川隆之	DDSを用いた内耳疾患の治療.	炎症と免疫	15: 60-65, 2007.
坂本達則, 中川隆之, 伊藤壽一	DDSを用いた感覚器領域における再生医療	再生医療	16: 27-31, 2007.
Nakagawa T, Ito J.	Drug delivery systems for the treatment of sensorineural hearing loss.	Acta Otolaryngol	Suppl. 557: 30-35, 2007.
Fujita K, Hakuba N, Hata R, Morizane I, Yoshida T, Shudou M, Sakanaka M, Gyo K.	Ginsenoside Rb1 protects against damage to the spiral ganglion cells after cochlear ischemia.	Neurosci Lett	415:113-117, 2007

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	出版年・巻号・頁
Yoshida T, Hakuba N, Morizane I, Fujita K, Cao F, Zhu P, Uchida N, Kameda K, Sakanaka M, Gyo K, Hata R.	Hematopoietic stem cells prevent hair cell death after transient cochlear ischemia through paracrine effects. 45:923-930, 2007.	Neuroscience	45:923-930, 2007.
Hori R, Nakagawa T, Sakamoto T, Matsuoka Y, Takebayashi S, Ito J.	Pharmacological inhibition of Notch signaling in the mature guinea pig cochlea.	Neuroreport.	18:1911-1914, 2007
Lee KY, Nakagawa T, Okano T, Hori R, Ono K, Tabata Y, Lee SH, Ito J.	Novel therapy for hearing loss: Delivery of insulin-like growth factor-1 to the cochlea using gelatin hydrogel.	Otol Neurotol	28: 976-981, 2007
伊藤壽一、中川隆之、山本典生	内耳障害への再生医学的アプローチ	最新医学	62: 130-169, 2007.
中川隆之、吉川弥生、伊藤壽一	内耳性難聴：新しい治療法開発への展望	実験医学	5: 3052-3057, 2007.
Nakagawa T, Ito J.	Local drug delivery to inner ear for treatment of hearing loss.	Current Drug Therapy	3: 143-147, 2008.
Fujiwara T, Hato N, Nakagawa T, Tabata Y, Yoshida T, Komobuchi H, Takeda S, Hyodo J, Hakuba N, Gyo K.	Insulin-like growth factor 1 treatment via hydrogels rescues cochlear hair cells from ischemic injury.	Neuroreport	19:1585-1588, 2008.
中川隆之	内耳疾患の治療をめざして—基礎研究の最前線 薬物の経正円窓投与	日耳鼻	111:655-663, 2008.



発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	出版年・巻号・頁
Hato N, Sawai N, Teraoka T, Wakisaka H, Takahashi H, Hinohira Y, Gyo K.	Valacyclovir for the treatment of Bell's palsy.	Expert Opin. Pharmacother	9:14:2531-2536, 2008.
Hato N, Murakami S, Gyo K.	Steroid and antiviral treatment for Bell's palsy.	Lancet	371:1818-1820, 2008.
Takeda S, Hakuba N, Yoshida T, Fujita K, Hato N, Hata R, Hyodo J, Gyo K.	Postischemic mild hypothermia alleviates hearing loss because of transient ischemia.	Neuroreport	19:13:1325-1328, 2008.
Okano T, Nakagawa T, Kita T, Kada S, Yoshimoto M, Nakahata T, Ito J.	Bone marrow-derived cells expressing Iba1 are constitutively present as resident tissue macrophages in the mouse cochlea.	J Neurosci Res	86: 1758-1767, 2008.
Hiraumi H, Nakagawa T, Ito J.	Efficiency of a transtympanic approach to the round window membrane using a microendoscope.	Eur Arch Otorhinolaryngol.	266:367-71, 2009.
Hori R, Nakagawa T, Sugimoto Y, Sakamoto T, Yamamoto N, Hamaguchi K, Ito J.	Prostaglandin E receptor subtype EP4 agonist protects auditory hair cells against noise-induced trauma.	Neuroscience	in-press.
Kada S, Nakagawa T, Ito J.	A mouse model for degeneration of the spiral ligament.	J Assoc Res Otolaryngol	2009 Feb 11. [Epub ahead of print]

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	出版年・巻号・頁
Kikkawa YS, Nakagawa T, Horie RT, Ito J.	Hydrogen protects auditory hair cells from free radicals.	Neuroreport	in-press.
Inaoka T, Nakagawa T, Kikkawa YS, Tabata Y, Ono K, Yoshida M, Tsubouchi H, Ido A, Ito J.	Local application of hepatocyte growth factor using gelatin hydrogels attenuates noise-induced hearing loss in guinea pigs.	Acta Otolaryngol	2009 Feb 13:1-5. [Epub ahead of print]

## 12. BDNF

## 内 耳

中川隆之 NAKAGAWA Takayuki

京都大学大学院医学研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科

伊藤壽一 ITO Juichi

京都大学大学院医学研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科

**I** 背景（疾患など）

感音難聴は65歳以上人口の約6割に認められ、75歳以上人口の実に1/4が日常生活に支障をきたすレベルの難聴を有することが知られている。さらに、先天的難聴は1,000人に1人に認められる最も頻度の高い先天的機能障害である。また、厚生労働省で研究の対象である突発性難聴やメニエール病といった難治疾患も、人口10万人あたり約30人の発症が認められている。これらの難治疾患を含め、感音難聴症例では、ほとんどが音刺激を受容する蝸牛の障害によるものである。現在、有効性が認められている治療法として、ステロイドの全身投与が存在するが、急性期のみが対象となり、有効性も必ずしも満足できるものではない。さらに、ステロイド投与が無効であった場合の二次的な治療法として、高気圧酸素療法などが施行されているが、有効性はきわめて限られているのが現状である。これらの背景から、耳鼻咽喉科領域において、感音難聴治療法の開発は急務とされている。

蝸牛は、渦巻き状の形態をした管腔構造をしており、この管は鼓室階、中央階、前庭階と呼ばれる液体で満たされた3つの空間に分離されている（図1）。音刺激を受容し、神経信号に変換する有毛細胞は、中央階に存在する。有毛細胞が受容した刺激を中枢に伝えるラセン神経節は、渦巻きの軸の部分に存在し、有毛細胞とシナプス結合をもつ。蝸牛では、中央階と呼ばれる空間に満たされている液体（内リンパ液）のみが高カリウムであり、他の空間とのカリウム濃度勾配が内リンパ電位を生成する。内リンパ電位は、有毛細胞の脱分極に不可欠であり、内リンパ電位の形成に不可欠な組織が、蝸牛の側壁に存在する血管条とラセン靭帯である。

これまでの研究成果から、感音難聴の病態には、いくつかの病態が存在することがわかって

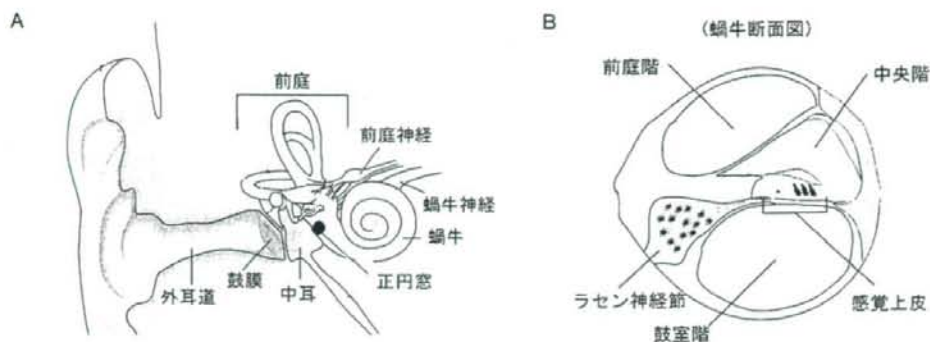


図1 内耳の局在と蝸牛断面図

A: 内耳(蝸牛, 前庭)は, 中耳のさらに深部の骨に存在する。正円窓で膜を介して, 中耳と内耳は交通する。  
 B: 蝸牛断面図; 蝸牛は前庭階, 中央階, 鼓室階の3つに分かれる。ラセン神経節は軸に相当する部分に存在する。

いる。有毛細胞障害型, ラセン神経節障害型, 血管条およびラセン靭帯障害型と, これらが混在するタイプが存在する。それぞれに特徴的な聴力障害のパターンを示すことが明らかにされており, 臨床的にある程度障害部位を推測することが可能である。近年, これらの蝸牛の重要な細胞, 組織の再生の可能性が呈示されているが, 機能回復を伴う再生医療の臨床応用にはいまだ時間を要するのが現状である。したがって, 臨床への応用の観点からは, 蝸牛の細胞を不可逆的な変化, すなわち細胞死から保護する方法を開発することが急務といえる。これまでに, 本稿で取り上げる脳由来神経栄養因子 (brain-derived neurotrophic factor: BDNF) などの神経栄養因子, 活性酸素除去剤などの有効性が基礎的に明らかにされている<sup>1) 2)</sup>。これらの薬物は, 全身投与により蝸牛で効果を発揮することは困難であり, 内耳への局所投与にて, その有効性が認められている。したがって, 臨床で使用できる安全かつ確実に内耳に薬物を投与する方法が確立されれば, 新しい感音難聴治療が臨床に供される可能性がある。

我々は, このような背景から, 京都大学再生医科学研究所・生体組織工学研究部門 (生体材料学分野: 主任教授 田畑泰彦) が薬物徐放システムとして開発したブタ・コラーゲン由来ゼラチンハイドロゲル (以下ハイドロゲル)<sup>3)</sup> に着目し, 本システムを内耳薬物投与システムとして応用するための基礎研究を行った。治療目的の標的は, 蝸牛の一次神経節細胞であるラセン神経節細胞の保護とした。その根拠として, ラセン神経節細胞は有毛細胞に比較して, 変性や喪失に至る過程が緩やかであるため, 実際に保護する機会が臨床的にも想定できること, ラセン神経節細胞が人工内耳の有効性に不可欠なことがあげられる。ここで, 人工内耳について, 簡単に説明する。人工内耳は, 現在, 高度感音難聴に対する唯一の治療法であり, 音響を電気刺激に変換し, 直接ラセン神経節細胞を刺激することにより, 聴覚を得る方法である。すなわち, ラセン神経節細胞がある程度残存していなければ, 人工内耳を埋め込んでも聴覚を獲得することはできない。投与薬物としてはBDNFを選択した。この背景としては, すでにBDNFのラセン神経節細胞保護作用が知られていること<sup>1) 2)</sup>, BDNFが他分野での臨床治験に用いられていることがあげられる。

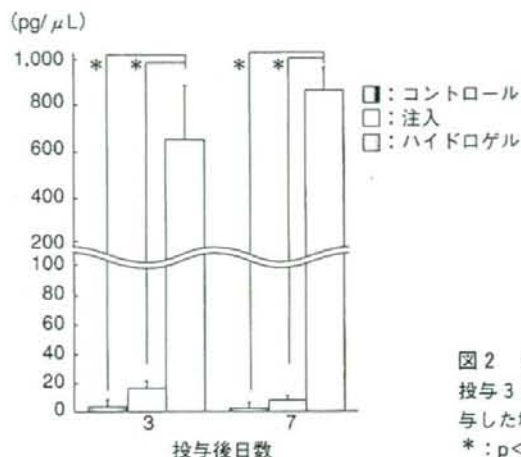


図2 蝸牛外リンパ液中BDNF濃度

投与3日後、7日後ともに、ハイドロゲルを用いてBDNFを投与した場合に有意に高いBDNF濃度が認められた。

\* :  $p < 0.01$

(文献4より引用)

## II 研究の結果

まず、ハイドロゲルにより、蝸牛内にBDNFを適切に投与することができるのかを確認した。BDNFを浸透させたハイドロゲルをモルモット中耳の正円窓膜上に留置し、蝸牛外リンパ液中のBDNF濃度を経時的にELISA法を用いて計測した。正円窓は、蝸牛の中耳への2つの開窓部の一つであり、この部分だけが骨で覆われておらず、3層構造をなす膜となっている。内耳への薬物投与経路として、最も広く用いられている方法が正円窓膜上への薬物投与である。臨床的に、正円窓にアプローチすることは、さほど困難ではなく、少々工夫すれば、経鼓膜的にハイドロゲルを注入することも可能である。投与3、7日後に蝸牛外リンパ液を採取した。対照として、無処置蝸牛から採取したサンプル、同様量のBDNFを正円窓から注入した後に採取したサンプルを使用した。結果、ハイドロゲルを用いた群では、直接注入した場合に比して、3日後で約40倍、7日後では約100倍の濃度のBDNFが外リンパ液中に認められた<sup>4)</sup>(図2)。すなわち、ハイドロゲルは、経正円窓膜的にBDNFを蝸牛内に持続的に投与することができるシステムであることが確認された。この結果は、ハイドロゲルによるBDNFの蝸牛内投与の有効性を示すだけでなく、他の栄養因子や細胞増殖因子などのペプチドを蝸牛内に投与するシステムとして応用可能であることを示唆するものといえる。

次に、ハイドロゲルを用いて投与したBDNFが実際にその生物学的な効果を発起するのかを、ラセン神経節障害動物モデルを用いて検証した。ラセン神経節細胞の障害は、種々の要因で惹起することができるが、実験的には、薬物による直接的な障害モデルと有毛細胞喪失に伴う二次的障害モデルがよく用いられている。本実験では、比較的臨床に即していることから、モルモットの二次的障害モデルを使用した。耳毒性薬物であるカナマイシンとエタクリン酸を全身投与し、投与7~14日後に聴力の評価を行い、聾となっている動物のみを使用し、ラセン神経節細胞の変性が出現しはじめる耳毒性処置18日後からBDNFの局所投与を行い、生食を投与したコントロー

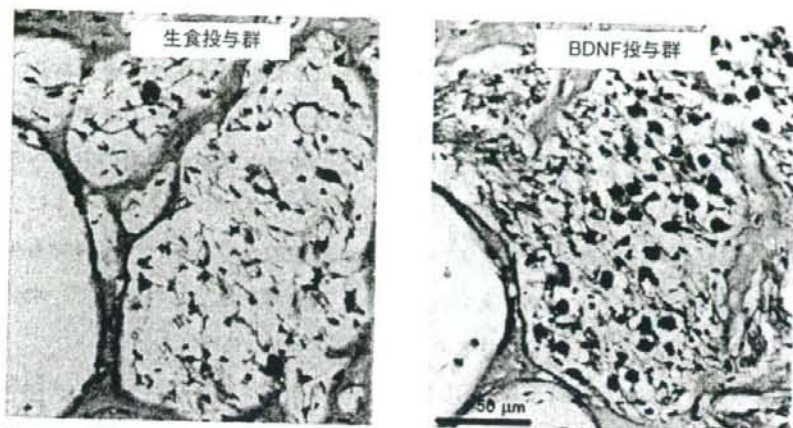


図3 ラセン神経節組織図 (HE染色)

生食を投与したコントロールでは、著明なラセン神経節細胞の変性を認めるが、BDNFをハイドロゲルにて投与するとラセン神経節細胞が温存されている。

ルと機能および組織を比較した。ラセン神経節の機能評価には、電気刺激聴性脳幹反応を用いた。この方法は、人工内耳と同様に直接蝸牛を電気刺激し、脳幹の反応を脳液で測定する方法であり、人工内耳の有効性を反映する方法である。結果、ハイドロゲルによるBDNF投与により、電気刺激聴性脳幹反応の閾値上昇は有意に抑制されることが明らかとなった<sup>4)</sup>。また、ラセン神経節細胞密度を解析したところ、BDNF投与した蝸牛では、有意に高い細胞密度が認められた(図3)。すなわち、ハイドロゲルによって蝸牛内に投与されたBDNFは、電気生理学的、組織学的にラセン神経節細胞を保護する生物学的活性を維持していたこととなる。

### III 治療の意義や利点・課題・展望

有毛細胞喪失により聾となった症例では、ラセン神経節細胞の生存促進は人工内耳による聴覚獲得という観点から、非常に重要な意義をもつ。近年、BDNFは単に神経細胞などの保護だけでなく、神経伝達にも重要な役割を果たしていることが示唆されている。したがって、BDNFは、人工内耳の有効性を維持するのみではなく、さらに良好な反応をもたらす可能性があるといえる。老人性難聴は、今後の高齢化社会を考慮した場合、重要な社会的問題の一つとなることが予想される。ヒト側頭骨病理の解析から、ラセン神経節細胞の喪失が老人性難聴の病因の一つであることが示唆されている<sup>5)</sup>。また、老化モデル動物の解析でも、加齢による聴覚障害とラセン神経節細胞の減少の関係が指摘されている。したがって、老人性難聴の進行防止においても、BDNFによるラセン神経節細胞保護が有効である可能性がある。今後、老人性難聴モデル動物での有効性の検証が待たれる。

本治療法の最大の利点は、低侵襲性と安全性の高さである。現在までに臨床的に使用されて

きた方法は、二つに大別できる。一つは、埋め込み型ポンプを用いる方法で、投与量の調節性に優れるが、通常の中耳手術に近い手術侵襲を要してデバイスを埋め込む必要があり、広く普及するに至らず、現在、臨床的に使用できるポンプは存在しない。いくつかのモデルの有効性が検討されている段階である。反復経鼓膜注入はシンプルな方法であるが、薬物の内耳への到達性が安定しないことに加えて、頻回の投与を要するという問題点がある。ハイドロゲルによる投与では、1回の注入で約2週間の徐放が期待できることから、継続的な投与を行う場合でも少ない投与回数で対応できる。当然ながら、デバイスの埋め込みは不要である。したがって、現在、臨床供給可能な方法の中では最も優れた投与方法と考えられる。

今後の展望であるが、ヒト臨床試験にBDNFが使用可能となれば、直ちにヒト臨床試験を行うことができる。また、近年、BDNFのさまざまな生物学的な効果が明らかにされつつあり、ラセン神経節細胞以外の蝸牛の組織に対する保護効果についても基礎的に追加研究する必要がある。これらの中には内耳障害治療に応用可能なものも多々あり、さらなる研究展開が期待できる。

#### ●文献

- 1) Shinohara T, Bredberg G, Ulfendahl M, et al: Neurotrophic factor intervention restores auditory function in deafened animals. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 1657-1660, 2002
- 2) Nakaizumi T, Kawamoto K, Minoda R, et al: Adenovirus-mediated expression of brain-derived neurotrophic factor protects spiral ganglion neurons from ototoxic damage. *Audiol Neurootol* 9: 135-143, 2004
- 3) Tabata Y, Miyao M, Ozeki M, et al: Controlled release of vascular endothelial growth factor by use of collagen hydrogels. *J Biomater Sci Polym Ed* 11: 915-930, 2000
- 4) Endo T, Nakagawa T, Kita T, et al: A novel strategy for treatment of inner ears using a biodegradable gel. *Laryngoscope* (in print)
- 5) Schuknecht HF: Pathology of the ear. Cambridge, MA, Harvard university press, 1974

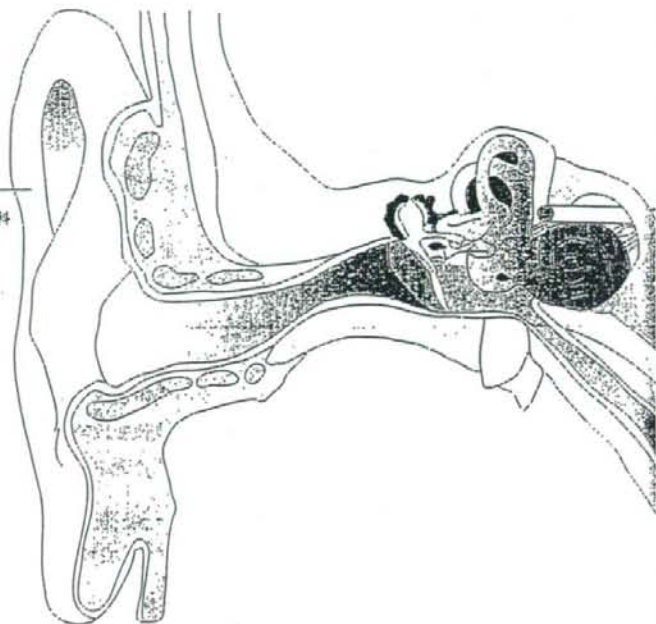
#### ●参考：海外の研究施設

- ・蝸牛におけるBDNFの役割. ドイツ・チュービンゲン大学 聴覚研究所
- ・内耳遺伝子および薬物導入による蝸牛保護. 米国ミシガン大学 クレスギ聴覚研究所

# 内耳再生の ストラテジー

● 中川隆之 京都大学大学院医学研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科

内耳は、聴覚と平衡感を司る感覚器であり、側頭骨内に存在する骨で囲まれた器官である。哺乳類の場合、内耳の感覚細胞である有毛細胞や1次ニューロンであるラセン神経節細胞は、再生能力に乏しい。このため一度これらの細胞が障害を受けると感音障害が残る。発生学や分子生物学的な知見を利用して、これらの細胞を再生させようという試みが進められている。



## 内耳の解剖とその生理機能

内耳は、その複雑な形態から解剖学用語で「迷路」とよばれる。骨で囲まれた空間を骨迷路、その内部にある膜で囲まれた空間を膜迷路という。膜迷路は、リンパ液で満たされており、膜様の構造物で内リンパ腔と外リンパ腔に隔られている。

聴覚を司る蝸牛と平衡感を担当する前庭は、それぞれ特徴的な構造をもった感覚上皮を有し、それらには特有の感覚細胞である有毛細胞

が存在する。有毛細胞は、音響刺激などの機械的刺激を神経刺激に変換し、おのおのの1次神経節細胞に刺激を伝達する。このシグナルは第8脳神経を介して脳幹に伝えられる。脳幹で2次ニューロンに刺激が伝えられ、中枢に伝達され

図1

内耳障害のメカニズム  
図は蝸牛の断面。内耳障害には主に①-③の原因が考えられる。

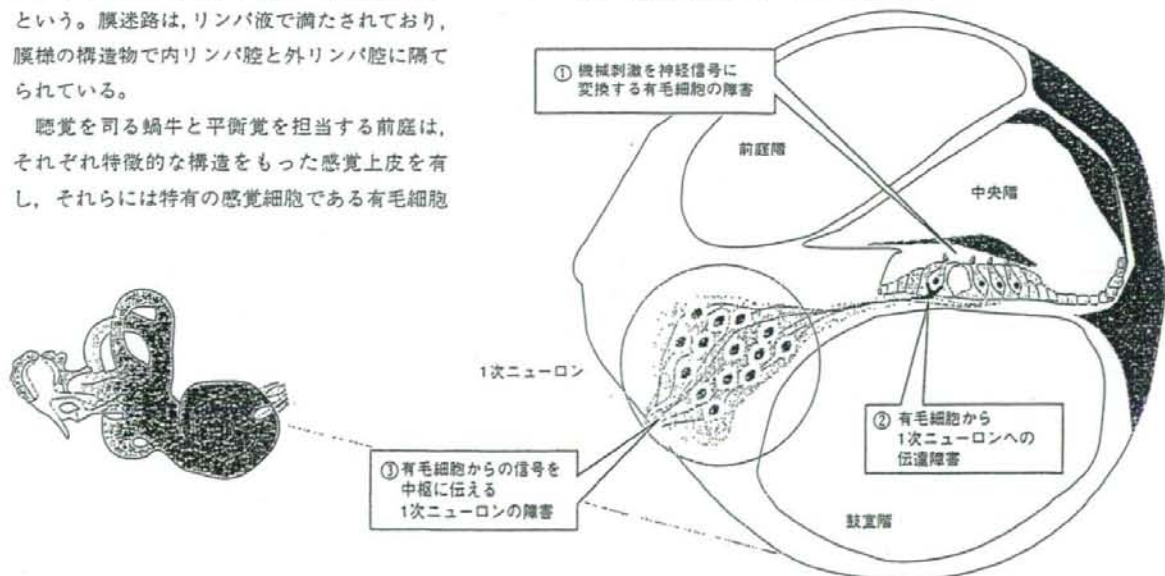
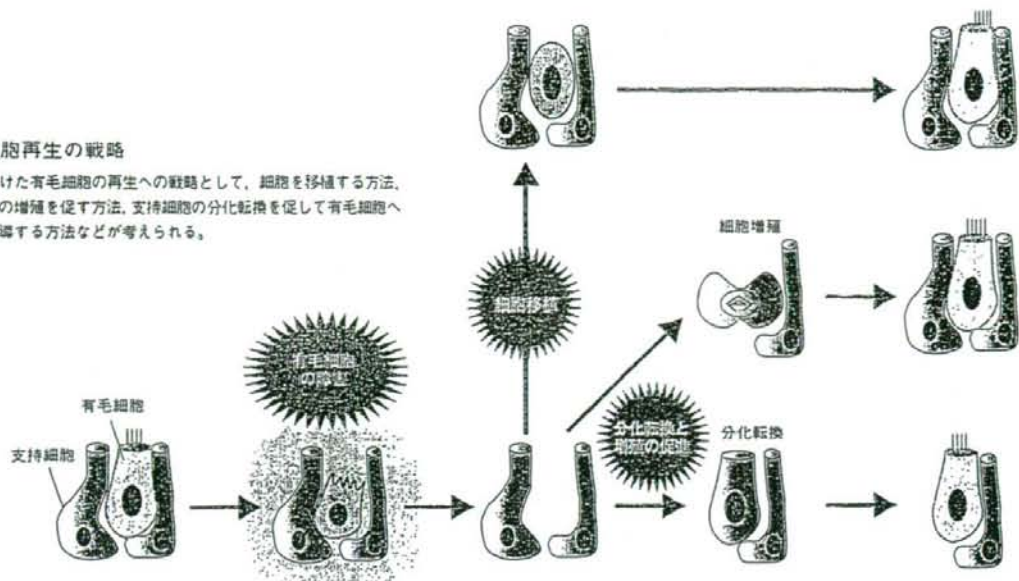




図2

## 有毛細胞再生の戦略

障害を受けた有毛細胞の再生への戦略として、細胞を移植する方法、支持細胞の増殖を促す方法、支持細胞の分化転換を促して有毛細胞へと分化誘導する方法などが考えられる。



る。蝸牛における1次ニューロンは、ラセン神経節細胞とよばれ、蝸牛の軸にあたる部分にらせん状に配列している。

## 内耳障害と再生の標的

感音難聴に代表される内耳障害は、音響刺激などの機械的刺激を神経信号に変換する有毛細胞障害、有毛細胞から1次ニューロンへの伝達障害、有毛細胞からの信号を中枢に伝える1次ニューロンの障害が主因と考えられている(図1)。鳥類では、有毛細胞が再生し、機能も回復することが知られているが<sup>[12]</sup>、哺乳類では、有毛細胞やラセン神経節細胞は、再生しない、あるいは、ごく限られた再生能力しかもたないとされている。

有毛細胞から1次ニューロンへの伝達障害としては、強大音響暴露後の一時的な聴覚障害のメカニズムがよく知られている<sup>[1]</sup>。これは可逆性であるが、ほかの障害機構は一般的に不可逆である。平衡感を司る前庭系では、末梢性の障害は中枢で代償されて、機能障害の多くは回復するが、聴覚系では恒久的な感音難聴が残る。このような背景から、内耳における再生研究は、蝸牛有毛細胞、ラセン神経節細胞(1次ニューロン)を中心に展開してきた。

## 内臓性細胞による再生

鳥類では、有毛細胞消失後、隣接する支持細胞が分裂、増殖し、一部が有毛細胞へと分化することによって、有毛細胞が再生されることが報告されている<sup>[13]</sup>。哺乳類でも鳥類と同様に支持細胞の分裂を誘導し、有毛細胞を再生しようという試みがなされている。また、残存している支持細胞を分化転換させて有毛細胞を再生させる方法も研究されている。この方法は、発生段階における有毛細胞への分化運命決定機構の知見を応用している。以上は、内耳に内在する細胞を用いて、有毛細胞を再生しようとするものであるが、外部から再生能力がある細胞を内耳に移植し、再生を誘導するという方法も研究されている(図2)。

## ① p27とskp2による細胞増殖と分化制御機構

哺乳類における支持細胞増殖誘導の手段としては、増殖活性を高める方法と増殖を停止させている機構を解除する方法が考えられる。内耳の発生段階における細胞増殖制御機構の分子生物学的な知見から、後者の方向性、すなわち増殖を停止させるシグナルを解除する方法が有効と考えられている。

支持細胞の増殖停止機構として、細胞周期を抑制するサイクリン依存性キナーゼ阻害タンパク質であるp27の役割がもっとも注目されている。蝸牛感覚上皮でp27は、発生後期から支持細胞に選択的に発現している<sup>(4)</sup>。またp27ノックアウトマウスでは、生後も支持細胞の増殖が継続することが示されている<sup>(5)</sup>。したがって、生後の蝸牛感覚上皮においても支持細胞のp27の発現を抑制することができれば、支持細胞が再び分裂、増殖する可能性がある。

p27の発現制御メカニズムとしては、p27遺伝子からの転写、翻訳レベルとp27タンパク質の細胞内での分解レベルの二つがある(図3)。後者のメカニズムにかかわるのが、Fボックスタンパク質の一つであるskp2である。skp2はp27のユビキチン化に関与し、skp2などの働きでユビキチンを付加されたp27はプロテアソームにて分解される。

発生段階に応じてマウス内耳感覚上皮でのskp2の発現変化を組織学的に解析すると、マウス内耳感覚上皮予定領域での細胞増殖が盛んな胎生期12日目までは、内耳感覚上皮予定領域で強い発現がみとめられ、p27が内耳感覚上皮予定領域に発現すると同時にskp2の発現は消失する<sup>(6)</sup>。つまり、内耳感覚上皮でのp27の発現制御にskp2が関与していると考えられる。一方、内耳感覚上皮で有毛細胞、支持細胞への分化運命が決定されるタイミングにおいては、p27の発現は支持細胞だけに限定され、有毛細胞では消失する。この有毛細胞でのp27の発現の消失にskp2は関与していない<sup>(6)</sup>。すなわち、有毛細胞では、遺伝子からの転写レベルよりも上流でp27の発現が制御されている。

最近、転写レベルでのp27発現制御が、とくに有毛細胞への分化調節で重要な役割を果たすことが報告されている<sup>(7)</sup>。成熟した内耳感覚上皮支持細胞でのp27発現抑制には、skp2過剰発現によるタンパク質分解の促進もしくはRNA干渉による翻訳の抑制が有効な手段と推察される。しかし、細胞周期にリエントリーすること

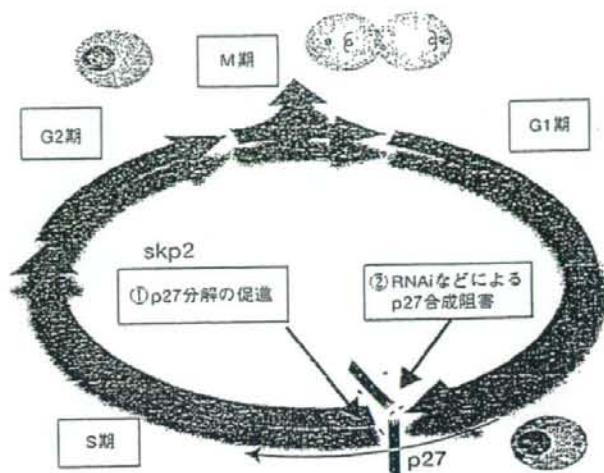


図3

蝸牛支持細胞増殖誘導方法

支持細胞の細胞周期を停止させているp27の発現を抑制する方法として、①p27タンパク質を分解するskp2の発現を亢進させる、②RNAiなどを用いてp27を翻訳レベルで阻害する、という二つの方法が考えられる。

は、細胞死の誘導につながる可能性もあり、今後の検討が注目される。また、内耳感覚上皮の細胞増殖制御については、Rb/E2F系<sup>\*1</sup>も重要な役割を果たすことが報告されており<sup>(8,10)</sup>、成熟した蝸牛感覚上皮での再生実験への応用が期待される。

②Notch情報伝達系による細胞分化運命決定機構

残存する支持細胞を分化転換し有毛細胞を再生させる方法は、発生段階における有毛細胞と支持細胞への分化運命決定機構についての分子生物学的な知見を応用している。なかでも、内耳有毛細胞の分化におけるNotch情報伝達系の応用が試みられている。Notch情報伝達系は、内耳感覚上皮における有毛細胞と支持細胞の分化運命決定機構に関与している<sup>(11,12)</sup>。

内耳感覚上皮においてNotch情報伝達系が活性化すると、抑制性bHLH (basic helix-loop-helix) 型転写因子HESが発現する。HESは有毛細胞への分化に関与するbHLH型転写因子Atoh1の発現を抑制し、これによって有毛細胞への分化が阻害されて、支持細胞へと分化する(図4)。

ウイルスベクターを用いてAtoh1を成熟後の蝸牛感覚上皮で過剰発現させた場合(図4)、支持細胞から有毛細胞への分化転換がおこること

\*1

Rb, E2Fは両方とも細胞周期の制御にかかわる分子。Rbは非リン酸化時に標的分子と結合して、その働きを阻害する。またS期、M期の前にリン酸化されて、標的分子と解離する。E2FはRbの標的となる転写因子の一つで、G1期、G2期はRbと結合し、S期、M期では応答配列と結合し、遺伝子の発現を制御する。

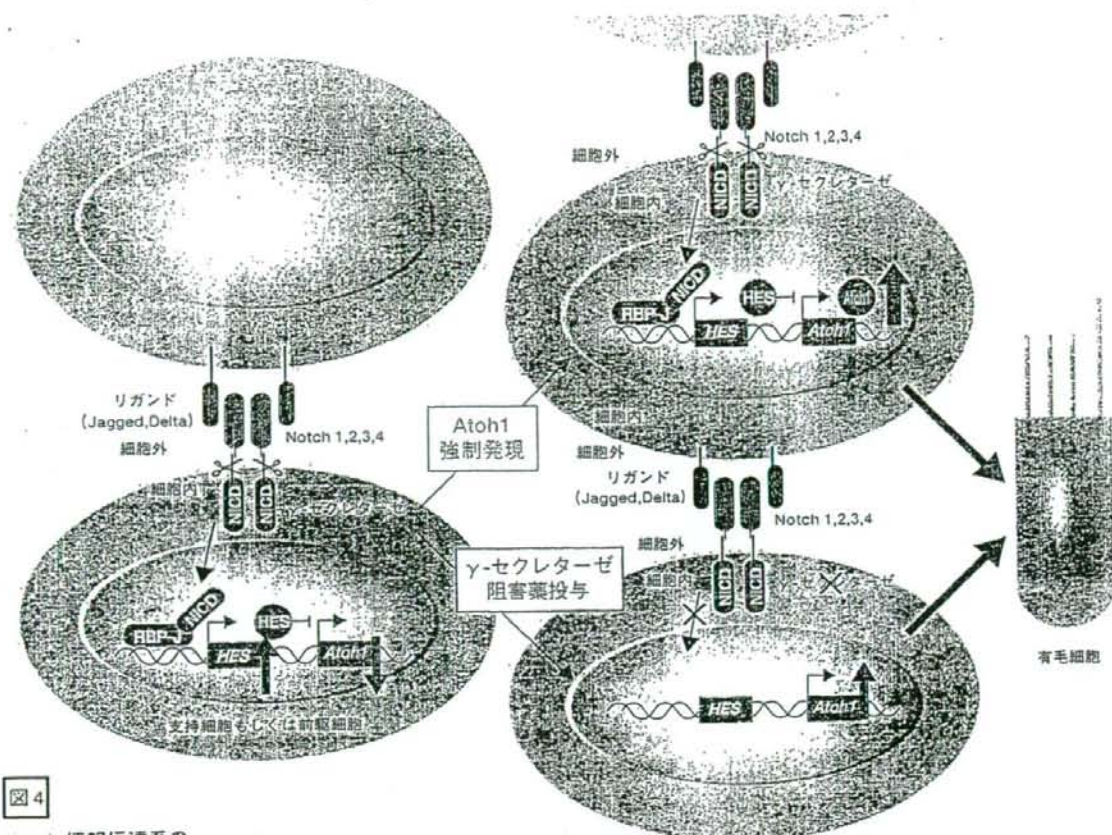


図 4

### Notch 情報伝達系のコントロールによる有毛細胞再生

Notch 情報伝達系に関連する転写因子である Atoh1 の強制発現、あるいは  $\gamma$ -セクレターゼ阻害薬による Notch 情報伝達系抑制、これら二つの方法で支持細胞から有毛細胞への分化転換を誘導できる。

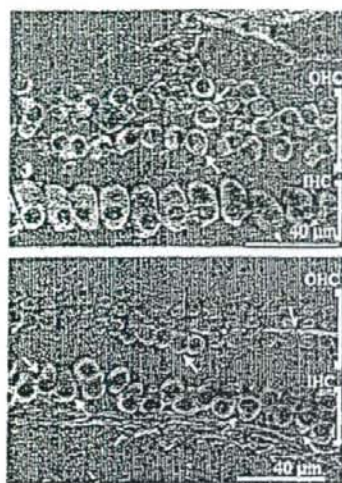
が報告され<sup>(13)</sup>、さらに機能回復が期待できることが示唆され<sup>(14)</sup>、有毛細胞再生への有望なストラテジーとして脚光をあびている。 $\gamma$ -セクレターゼ阻害薬による Notch 情報伝達系の抑制でも(図4)、相対的な Atoh1 発現の上昇がみとめられ、同様の結果が得られることが器官培養系の実験で示されている<sup>(15)</sup>。薬物による伝達系の抑制は、遺伝子導入に比べてより臨床に近い手法であり、今後の研究発展による臨床応用が期待できる。最近の報告では、*in vivo* でも効果は限られるものの、薬物による Notch 情報伝達系の抑制によって有毛細胞の新生が誘導されることが観察されている<sup>(16)</sup>。

### 細胞移植による再生

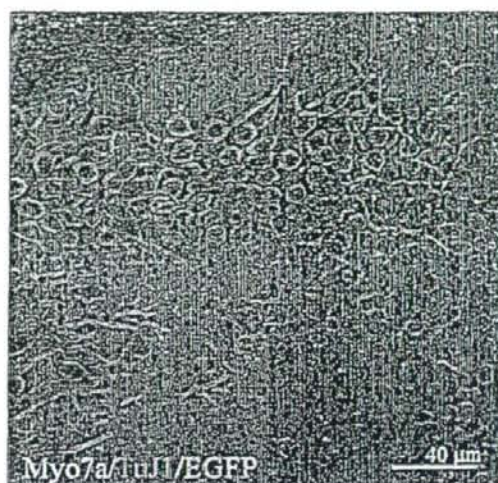
種々の幹細胞の発見とその能力が明らかにされるにしたがい、細胞移植が内耳再生でも応用され始めた。最初の内耳への細胞移植実験は、内耳と同じ外胚葉系の幹細胞である神経幹細胞

を用いたものである<sup>(17)</sup>。有毛細胞障害を惹起した内耳に神経幹細胞を移植すると、内耳組織内に移植細胞の侵入を示唆する所見がみとめられた。また、ごく限られてはいるが、前庭感覚上皮内に侵入した移植細胞の一部が内耳有毛細胞のマーカであるミオシン7aを発現している所見がみとめられた<sup>(18)</sup>。この結果は、神経幹細胞は障害を受けた内耳感覚上皮には侵入することが可能であり、有毛細胞に分化する可能性があることを示すものとして内外の注目を集めた。

しかしながら、機能面を論ずるレベルまで、ミオシン7a陽性の移植細胞数を増やすことは困難であった。ほかの細胞、内耳組織由来の細胞<sup>(19)</sup>や胚性幹細胞由来の細胞移植<sup>(20)</sup>でも、感覚上皮内に移植細胞が侵入し、有毛細胞様の細胞に分化することが報告されているが、機能再生をみとめた報告はない。いかに、有毛細胞や支持細胞といった感覚上皮特有の細胞に効率



蝸牛



前庭

図5

ES細胞由来神経細胞を用いた1次ニューロンへの分化誘導

ES細胞由来神経細胞(EGFPにより緑色に標識)は蝸牛および前庭感覚上皮と共培養すると、有毛細胞(Myo 7a:ミオシン 7aにより青色で標識)に向かって神経突起(TuJ1により赤色で標識)を伸長する。OHC:蝸牛外有毛細胞、IHC:蝸牛内有毛細胞を示す。

よく分化する細胞を開発するか、また、移植した細胞をいかにして感覚上皮内へと誘導するかが、解決すべき問題点として残されている。

内耳障害に対する再生医学研究で、内耳有毛細胞が主役であることに異論はないが、聴覚刺激を中枢に送るラセン神経節細胞も重要なターゲットの一つである。現在高度難聴に対する唯一の治療法は人工内耳であるが、人工内耳を埋め込んでもラセン神経節細胞に障害がある場合、良好な聞き取りは得られない。細胞移植によって、ラセン神経節細胞が再生すれば、人工内耳での聞き取りも向上すると期待される。このような臨床的背景に加え、神経細胞は種々の細胞から比較的分化誘導しやすいことから、細胞移植によるラセン神経節細胞再生実験は数多くおこなわれている。神経幹細胞の移植では、移植細胞の蝸牛軸や内耳道での生着および神経細胞への分化が報告されている<sup>(21,22)</sup>。しかし分化効率は低く、さらに機能的な解析はなされていない。背側神経節細胞由来の細胞株の移植実験もおこなわれていたが、組織学的な解析にとどまっている<sup>(24)</sup>。

高率に神経細胞に分化する移植細胞が望ましいとの発想から、胚性幹細胞(ES細胞)が注目された。ES細胞では、高率に神経細胞へと分

化誘導する方法が確立されており、*in vitro*、*in vivo*での移植実験がいくつかおこなわれている。いずれの実験系でも移植細胞由来の神経細胞の局在が、元々ラセン神経節細胞あるいは蝸牛神経が存在する部位で確認されている<sup>(25,26)</sup>。機能的な側面としては、*in vitro*での解析であるが、内耳有毛細胞との間にシナプスを形成する能力があることを示す所見も得られている<sup>(27,28)</sup>(図5)。もっとも注目すべき点としては、*in vivo*の移植実験で機能回復を示唆する所見がみとめられているという点である。

SDIA法<sup>(29)</sup>を用いて神経細胞へ分化誘導したマウスES細胞を、ラセン神経節変性をあらかじめ誘導したモルモットに移植し、4週間後に、電気刺激聴性脳幹反応にて機能評価したところ、コントロールとしたシャムオベ(偽手術)群よりも有意に機能が回復していることがみとめられた(図6)。組織学的にも、移植細胞由来神経細胞の蝸牛軸での局在が確認されている<sup>(30)</sup>。その後の追加実験で、ES細胞由来の神経細胞を移植した動物では、経時的に電気刺激聴性脳幹反応の閾値が改善するのに対して、シャムオベをおこなった動物では明らかな改善傾向がみとめられないことを確認しており、ES細胞由来神経細胞移植は蝸牛機能再生に寄与すると考

\* 2  
stromal cell-derived inducing activity  
マウス骨髄細胞由来のストローマ細胞であるPA6細胞とES細胞を共存培養し、高い効率で神経細胞分化を誘導する方法。