



成体マウスの聴神経（ラセン神経節ニューロン）の再生に成功 ～聴力改善治療に期待～

概要

九州大学大学院医学系学府博士課程の脇園貴裕大学院生（研究当時）、共同研究員の安井徹郎医学博士（研究当時）、同大学大学院医学研究院の中嶋秀行助教、中島欽一教授らの研究グループは、傷害を受けた成体マウスの内耳において、少数の新しい神経細胞（ニューロン）が出現することを発見し、その数を増殖因子とバルプロ酸の同時投与により著しく増やすことに成功、その結果、一度失われた聴力が回復することを発見しました。

現在、世界には人口の約5%にあたる4億3000万人以上の難聴者が存在し、2050年までに25億人近くが難聴を持つと予測されています（WHO 統計、2021年）。しかしながら、内耳および聴覚神経の傷害は、これらの細胞が哺乳動物では再生しないと考えられてきたことから、補聴器や人工内耳などのデバイスによる対症療法のみで、根本的な治療法はありませんでした。近年、一次聴覚ニューロン（※1）であるラセン神経節ニューロン（※2）が存在するラセン神経節において、傷害時に増殖性を有する神経幹細胞（※3）様細胞の出現が報告されました。しかし、先行する報告では、これらの増殖性細胞はニューロンへと分化せず、全てグリア細胞へと分化してしまうとされ、聴力改善も観察されませんでした。

本研究グループは、内耳傷害を与えたマウスを詳細に解析することで、傷害時に出現するこの増殖性細胞が、実は、非常に少数ながらニューロンへと分化していることを見出しました。また、増殖因子とバルプロ酸（※4）との組み合わせ投与によりこの神経幹細胞様細胞の増殖を促進すると同時に、ニューロンへの分化及びその後の生存率を著明に亢進できることを見出し、傷害後の聴覚機能を改善させることに成功しました。これらの成果は難聴に対する治療法として、将来的な臨床への応用が期待できます。

本研究成果は、2021年11月22日（月）午後12時（米国東部標準時間）に国際学術雑誌『JCI insight』に掲載されました。なお、本研究は日本学術振興会科研費（JP17K16925、JP16H06527、JP16K21734）の支援を受けました。



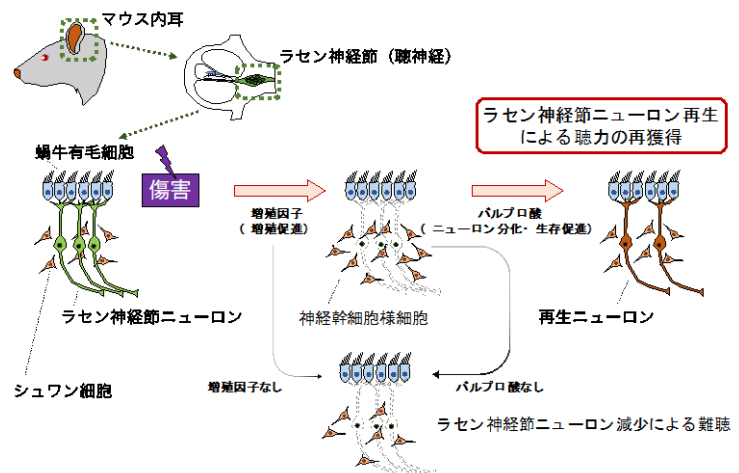
脇園 貴裕



中島 欽一教授

研究者からひとこと：

今回の発見をもとに、難聴で困っている方々のために、根本的で効果的な治療法の開発につなげたいと思っています。



【参考図】 ラセン神経節ニューロン再生による低下聴覚機能の改善

■背景

一次聴覚ニューロンであるラセン神経節ニューロン（SGN）の傷害は難聴の一因とされていますが、これらの細胞は哺乳類では再生しないと考えられており、一度傷害を受けると根本的な治療法はありません。マウスでは、発生過程においてラセン神経節（SG）の神経幹細胞が増殖し、その後 SGN へと分化しますが、成体マウスの SG では増殖性細胞を認めず、新たな SGN は出現しません。ところが近年、SG において傷害時に増殖性を有する神経幹細胞様細胞の出現が報告されました。しかし、これらの増殖性細胞は全てグリア細胞へと分化するとされていました。一方、私たちの研究グループは、傷害を与えたマウス SG を詳細に解析することにより、傷害時に出現する増殖性細胞の一部が、僅かではあるもののニューロンに分化していることを発見しました。そこで、傷害後に出現するこの増殖性細胞に増殖促進因子と分化・生存促進因子を作用させることにより新生ニューロンを増やすことができれば、傷害によって一度失われた聴力が改善できるのではないかと考えました。

■内容

成体マウスの SG は、ほとんどの細胞が静止状態の SGN とニューロンの機能を助けるシュワン細胞で構成されており、どちらも生理学的条件下では増殖性を示しません。発生過程の SG において、胎生 14 日目（E14）には多くの増殖性細胞を認めますが、出生後 7～14 日目（P7～P14）頃に細胞の増殖性は失われ、8 週齢（8w）の成体マウスの SG では増殖性細胞を認めません（図 1）。

ウアバイン（Ouabain）は、強心剤としても使用される薬剤ですが、SGN の細胞死（アポトーシス）を誘導することが報告されており、実際に成体マウスの内耳にウアバイン投与を行うと、SGN が減少する（図 2 上）とともに、先行研究で報告されていた通り、増殖性細胞が出現しました（図 2 下）。先行研究では、この増殖性細胞は全て、Sox2 陽性もしくは Sox10 陽性のシュワン細胞と報告されていましたが、注意深く観察すると、少数ではありますが、増殖後にニューロンとなる細胞を発見しました（図 3）。しかし、傷害後に聴力として機能するためには、ラセン神経節に存在する SGN の数があまりに少なく、私達は傷害後に出現する増殖性細胞の数を増やし、かつニューロンへの分化と生存を促進することにより、新しく産み出されるニューロンの数を増加させることで、聴力が改善できるかどうかを検討しました。

まず、増殖性細胞数の出現が最も多いウアバイン投与後 3 日目に増殖因子（GF）を投与したところ、ウアバイン投与後 7 日目に増殖性細胞の数が著明に増加しました（図 4）。しかしながら、28 日目に観察を行ったところ SGN の細胞数は少ないままであり、GF の投与だけでは最終的な SGN 数を増加させることができませんでした。VPA は、抗てんかん薬として知られますが、実はヒストン脱アセチル化酵素（HDAC）阻害作用があり、神経幹細胞細胞のニューロン分化を誘導するとともに、ニューロンの生存を亢進させることが知られています。そこで次に、GF を投与した後に VPA を投与し、ウアバインによる傷害 28 日目後に SGN 数を観察しました。その結果、GF と VPA の投与により、SGN の細胞数が著しく増加することがわかりました（図 5）。さらに、マウスの聴力を ABR 検査（※5）で測定した結果、通常マウスにウアバイン処置を行うと、処置後 7 日目には完全に聴力を失いますが、GF と VPA で治療を行なったマウスでは、処置後 35 日目に聴力の改善を認めました（図 6）。

■効果・今後の展開

成体哺乳動物の SG ではニューロン新生（※6）は起こらないとされてきたことから、加齢、遺伝性変異、騒音や耳毒性薬物暴露などによって引き起こされる SGN の損傷と、それに伴う永続的な感音性難聴（※7）に対して根本的な治療法はありませんでした。しかし本研究により、SG における潜在的なニューロン新生の可能性と、新生ニューロンを増加させることで聴力を改善する新規手法を提示することができました。また、この新生ニューロンは、SGN 周囲にあるシュワン細胞に由来していることも明らかになりました。今後は、GF および VPA 処置後の長期的な治療効果の検討や、傷害後に細胞増殖が開始する作用機序、およびシュワン細胞がニューロンへと変化するメカニズムについて調査する必要があります。将来的には臨床応用を目指し、難聴で困っている方々への治療につなげたいと考えています。

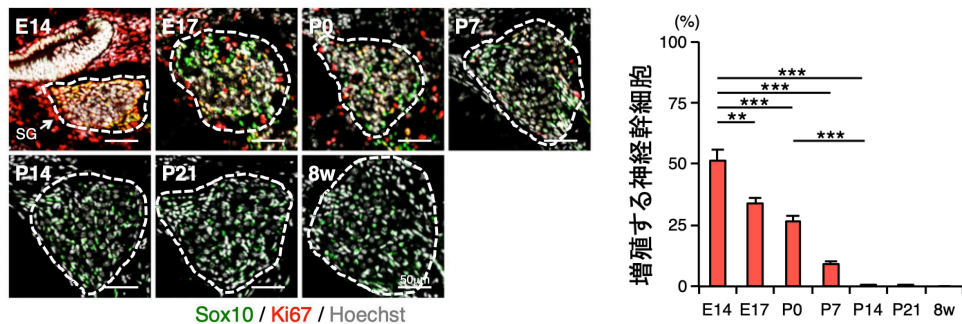


図 1：発生過程のラセン神経節（SG）における増殖性細胞の減少

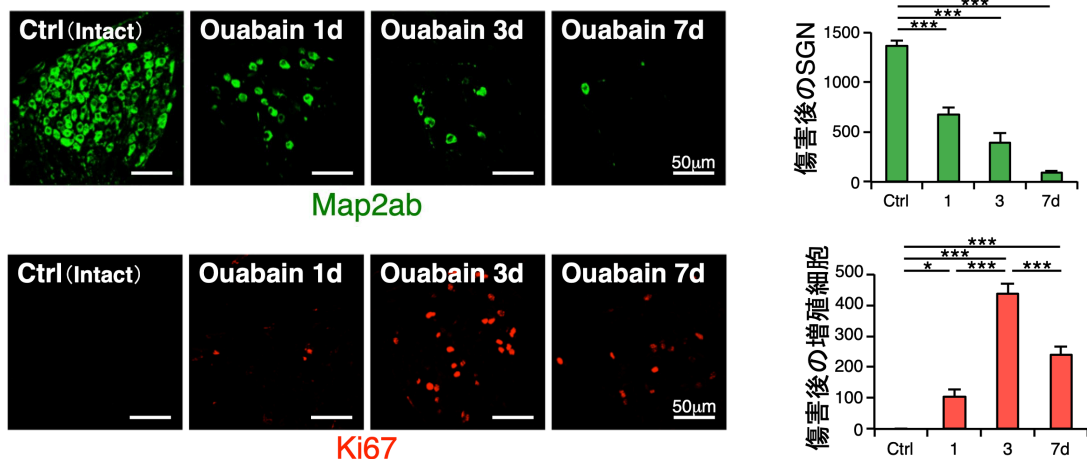


図 2：傷害によるラセン神経節ニューロン（SGN）の減少（上図）
傷害後の神経幹細胞様細胞（増殖細胞）の出現（下図）

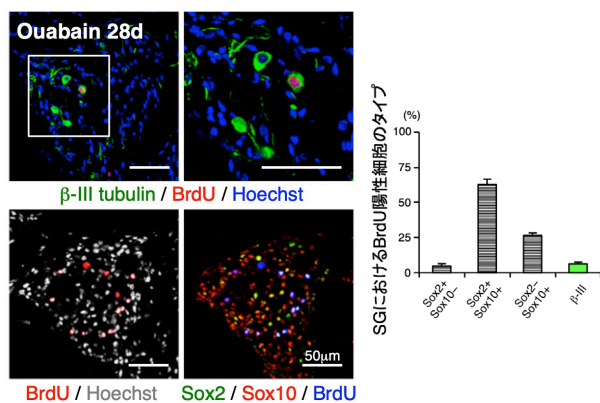


図 3：傷害後のらせん神経節（SG）において、少量の新しいニューロンが出現する

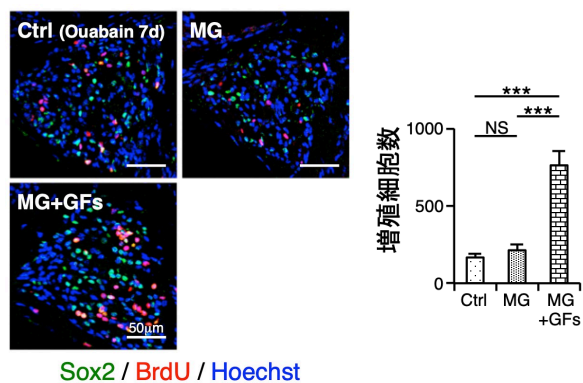


図 4：増殖因子（GF）投与後に、増殖性細胞が増加する

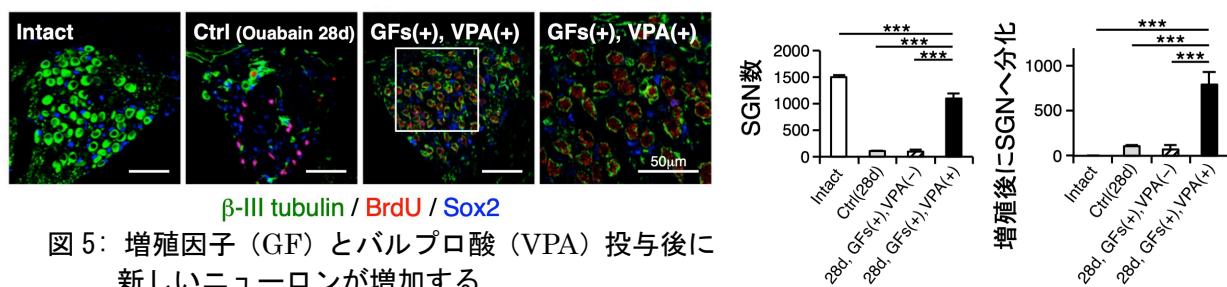


図 5：増殖因子（GF）とバルプロ酸（VPA）投与後に新しいニューロンが増加する

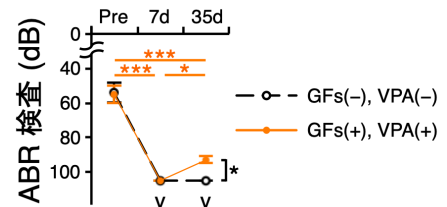
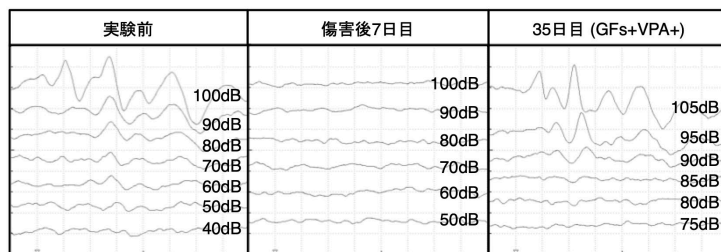


図 6: 増殖因子 (GF) とバルプロ酸 (VPA) 投与によって、一度失われた聴力が改善する

【図の説明】

図 1: 発生過程の SG における増殖性細胞の推移を観察した。胎生 14 日目 (E14) では多くの増殖性細胞を認めるが、出生後 7~14 日目 (P7~P14) 頃に増殖性細胞はいなくなる。成体マウス (8 週齢) の SG には、増殖性細胞を認めない。

※ Sox10: シュワン細胞マーカー、Ki67: 増殖マーカー、Hoechst: 細胞核染色

図 2: ウアバインで SG に傷害を与えると、SGN が減少し (上図)、増殖性細胞が出現する (下図)。

※ Map2ab: 成熟ニューロンマーカー、Ki67: 増殖マーカー

図 3: ウアバインによる SG 傷害後 28 日目に観察すると、増殖過程を経た少量の SGN を認める。

※ BrdU: 増殖マーカーであり、傷害後 3~7 日目に投与して増殖細胞に取り込ませた。

β-III tubulin: ニューロンマーカー、Sox2・Sox10: シュワン細胞マーカー

図 4: ウアバイン投与後 3 日目に再手術を行い、増殖因子 (GF) を投与し、7 日目に観察すると、増殖性細胞が著明に増加している。

※ GF: EGF と bFGF の 2 種類をマトリゲル (MG) に混和して使用。MG はゲル状で、GF の早期流出を防ぐために併用した。

図 5: GF と VPA の併用治療により、傷害後 28 日目に多くの新生ニューロンが認められた。BrdU は 3~7 日目に投与、GF は 3 日目に再手術で投与、VPA は 7~13 日目に投与した。

※ β-III tubulin: ニューロンマーカー、Sox2: シュワン細胞マーカー、BrdU: 増殖マーカー

図 6: 実験前に聴力を確認し、ウアバイン処置後に GF と VPA で治療をした群と治療をしていない群とで ABR を比較した。GF と VPA で治療をした群では、ウアバイン投与後 7 日目に一旦聴力を失うが、35 日目までに不完全ながらも聴力が回復する。

※ auditory brainstem response (ABR) 検査: 聴性脳幹反応検査

【用語解説】

(※1) 一次聴覚ニューロン

一次ニューロンは、末梢で受容された感覚刺激を次のシナプスまで伝える神経であり、聴覚路ではラセン神経節ニューロンがこれに当たる。

(※2) ラセン神経節ニューロン (SGN)

双極性の神経細胞で、末梢では感覚上皮細胞である有毛細胞とシナプスを形成して、有毛細胞からの刺激を受容し、中枢側では脳幹の蝸牛神経核に伝達する。

(※3) 神経幹細胞

増殖によって自分自身を複製する能力(自己複製能)と、脳を構成する主要な細胞種であるニューロン・アストロサイト・オリゴデンドロサイトへと分化する能力(多分化能)を併せもつ細胞。

(※4) バルプロ酸 (VPA)

抗てんかん薬として、世界中で頻用されている薬剤である。その作用機序としては GABA の不活性化抑制が広く知られているが、その他にヒストン脱アセチル化酵素阻害作用など様々な作用を有する。

(※5) ABR 検査

内耳神経と脳幹に波形起源を有する反応を頭表から記録する聴力評価方法。睡眠や注意などによる被検者の意識レベルの影響を受けにくく、他覚的聴力検査として実臨床の場でも用いられている検査方法。

(※6) ニューロン新生

神経幹細胞などから増殖・分化を経て、新たなニューロンが生み出される現象。

(※7) 感音性難聴

内耳あるいは後迷路（聴神経）の損傷によって起こる難聴。

【論文情報】

タイトル : Growth factors with valproic acid restore injury-impaired hearing by promoting neuronal regeneration

著者名 : Takahiro Wakizono, Hideyuki Nakashima, Tetsuro Yasui, Teppei Noda, Kei Aoyagi, Kanako Okada, Yasuhiro Yamada, Takashi Nakagawa, and Kinichi Nakashima

掲載誌 : JCI insight, 2021

【お問い合わせ先】

<研究に関するお問合せ先>

大学院 医学研究院 教授 中島 欽一

Tel: 092-642-6195 Fax: 092-642-6561

Mail: kin1@scb.med.kyushu-u.ac.jp

<報道に関するお問合せ先>

九州大学 広報室

Tel: 092-802-2130 Fax: 092-802-2139

Mail: koho@jimu.kyushu-u.ac.jp