

蝸牛神経シナプスと神経髄鞘を標的にした加齢性難聴の新規治療

防衛医科大学校 耳鼻咽喉科学講座

講師 栗岡 隆臣

(共同研究者)

防衛医科大学校 耳鼻咽喉科学講座	教授 荒木 幸仁
北里大学 耳鼻咽喉科頭頸部外科	教授 山下 拓
防衛医科大学校 生化学講座	教授 佐藤 泰司
防衛医科大学校 耳鼻咽喉科学講座	講師 水足 邦雄

はじめに

難聴は認知症の最大リスクとされ大きな社会問題となっているが、感音難聴に対する有効な治療法は確立されていない。急性感音難聴には、ステロイドが標準治療として使用されているが、その治療効果は50%以下と報告されている。我々は、ステロイドの反復投与による治療効果の改善を見出しているが⁽¹⁾、治療効果は十分ではない。加齢性難聴などの慢性感音難聴でも、“語音弁別能の低下”や“耳鳴”を頻繁に合併するため著しくQOLが低下する。

近年、加齢性難聴の病態として“primary neural degeneration”という新しい概念が提唱された。これは1次的に障害されるのは“有毛細胞と蝸牛神経間のシナプス”および“蝸牛神経の髄鞘”であり、有毛細胞や蝸牛神経自体の消失は2次的に起こるというもので、現在ではこの学説が広く受け入れられている。加齢性難聴の“起きはじめ”には神経自発放電の同期障害が起こり、「言葉の聞き取りづらさ」などの症状が引き起こされることや、神経同期障害の原因として神経シナプスや髄鞘の障害が重要な病態であることが報告されている。しかし蝸牛シナプス障害や髄鞘障害が、加齢性難聴の“耳鳴”にどのように関与するのかは未だ不明であり、蝸牛シナプス障害や髄鞘障害の病態解明および治療法の確立は急務である。

近年、動物の“耳鳴”を評価する方法として、gap detection検査が報告されている。本検査は、強大音刺激に対する驚愕反射 (startle response; SR) が、刺激直前に silent gap を挿入することで抑制される原理を用いたものである。耳鳴があると、silent gap が耳鳴で認識しづらくなるため、SRが抑制されにくくなる。本研究では、加齢性聴覚障害の初期におけるシナプス障害と髄鞘障害の変化を観察し、gap detection能に及ぼす影響について検討した。

結 果

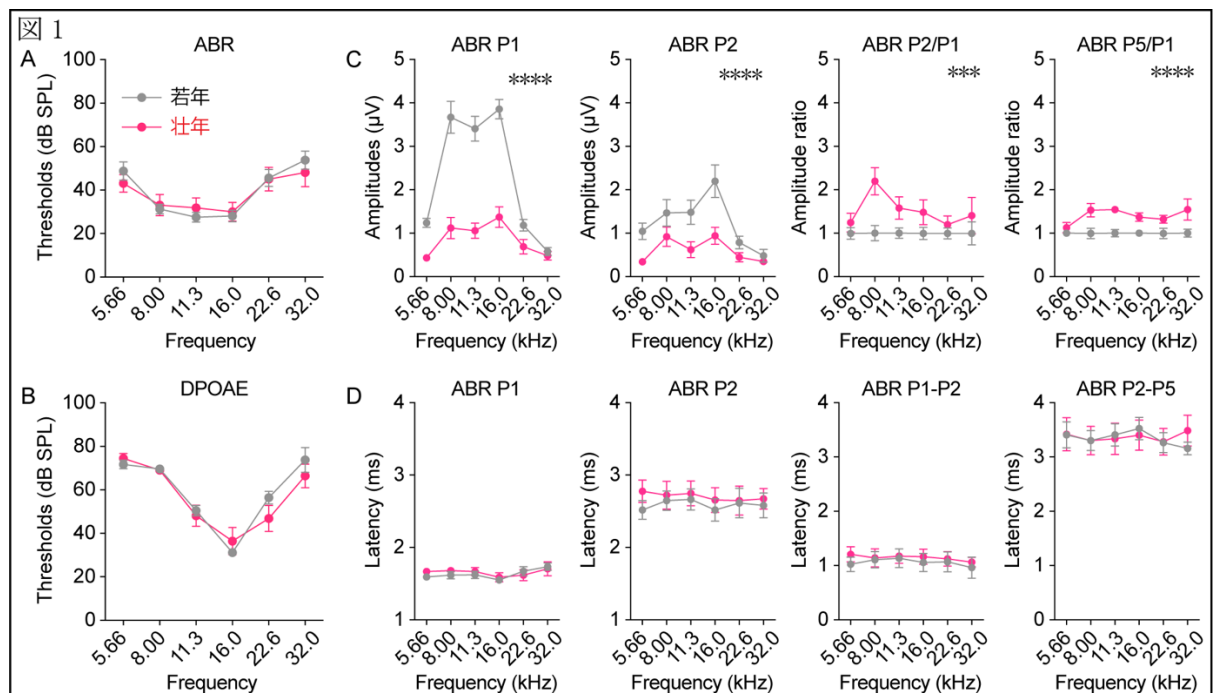
実験動物には、CBA/J系統 (雄) の若年 (5～10週齢) および壮年 (50～55週齢) マウス

を使用し、聴性脳幹反応 (ABR) と歪成分耳音響放射 (DPOAE) を計測した。ABRでは聴力閾値とI波～V波の振幅、潜時を計測し、内耳及び聴覚中枢の機能について電気生理学的に評価する。DPOAEは外有毛細胞の機能を評価する検査であり、反応が得られる最小閾値を計測する。次にPre-Pulse Inhibition (PPI) とGap Pre-pulse Inhibition of the Acoustic Startle reflex (GPIAS) をそれぞれ評価した。最後に、内耳、脳幹、脳を採取・固定し、有毛細胞 (Myosin7a染色) と蝸牛シナプス (CtBp2/GluR2染色)、らせん神経節細胞 (TuJ1) について免疫染色を行い、蝸牛有毛細胞、蝸牛シナプス数、らせん神経節細胞数について統計学的解析を行う。さらに電子顕微鏡による蝸牛神経の髓鞘解析も併せて実施する。蝸牛神経核、聴皮質の切片を作成し、興奮性シナプスマーカーであるVGLUT-1と抑制性シナプスマーカーであるGAD-65とParvalbuminの免疫染色を行い、中枢のシナプス障害について検討した。

1) ABR/DPOAE

壮年マウスにおけるDPOAEとABRの反応閾値は若年マウスと同等であり、聴力閾値の上昇は認めなかった (図1A、B)。蝸牛神経機能を反映するとされるABR I波の振幅は、壮年マウスで有意に低下を認め、ABR II波とV波のI波に対する比率も壮年マウスで有意に上昇していた (図1C)。ABR潜時は両群で有意差を認めず、神経伝導速度に変化はなかった (図1D)。

この結果は、加齢性難聴の初期に外有毛細胞の機能障害はなく聴力閾値も変化しないものの、蝸牛神経シナプスが障害されている所見と矛盾しない。蝸牛神経の反応が減少する一方で、II波やV波の振幅が増加していたことから、内耳機能低下に伴い、中枢聴覚経路の代償性神経興奮が起きることが示された (中枢代償)。内耳から中枢における潜時の延長は認められなかったことから、加齢性難聴初期に神経伝導速度低下はきたさないと考えられた。

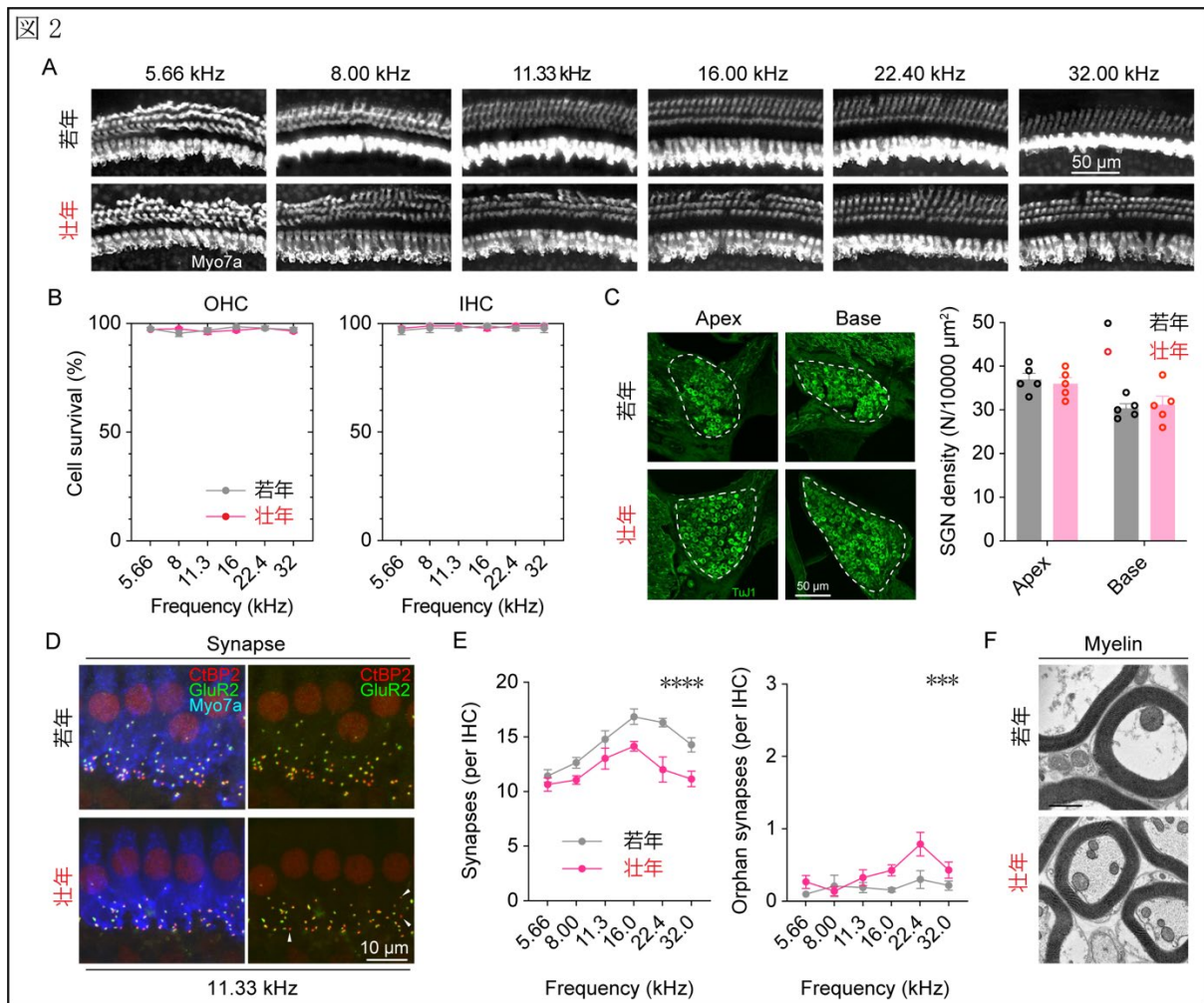


2) 組織学的解析

有毛細胞数およびらせん神経節細胞数は、若年マウスと比較して壮年マウスで有意な減少を認めなかった(図2A、B、C)。

蝸牛神経シナプス数は壮年マウスで有意に減少しており、蝸牛神経シナプス障害をきたしていることが明らかとなり、ABRの振幅低下に矛盾しない結果であった(図2D、E)。

また、蝸牛神経髓鞘について電子顕微鏡による観察を行ったところ、若年マウスと壮年マウスで髓鞘の厚さに有意な変化を認めず、脱髓変性は観察されなかった。本結果は、ABR潜時の結果と矛盾しない結果であった(図2F)。



3) PPI/GPIAS

若年マウスと壮年マウスにおいて、それぞれ75dB, 95dB, 115dBの驚愕音に対するSRの大きさを計測したところ、若年マウスと壮年マウスにおいて有意差は認めなかった。ただし刺激音が75dBと比較して115dBとした場合、SRの反応が有意に大きく観察された(図3A)。

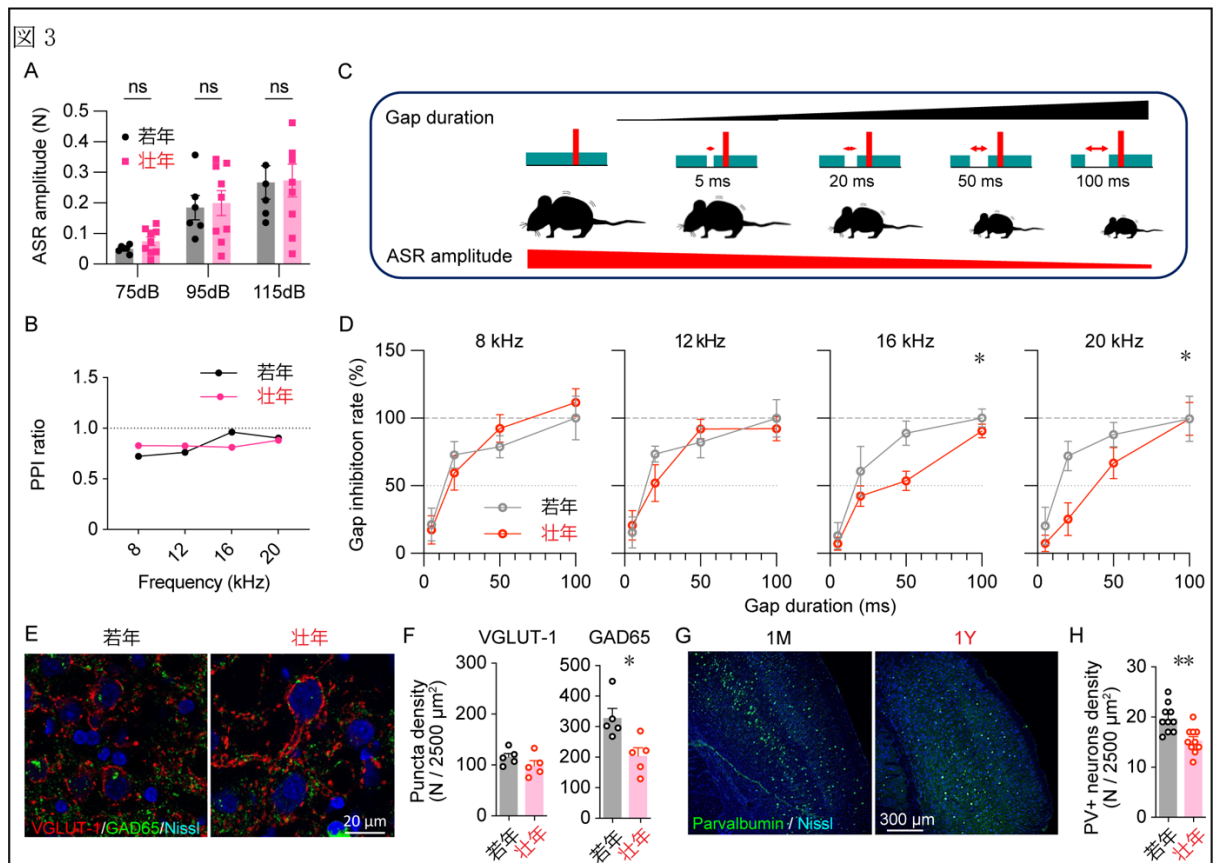
続いて、PPIを計測したところ、両マウスでPPIの結果は同等となり、75dBのprepulseは良好に認識できることを確認した(図3B)。

次にgap detection 能を測定するために、silent gap durationを5msから100msの幅で変化させて、それぞれの周波数でgap inhibition rateを算出したところ、いずれの動物群、周波数でもgap幅が大きくなるほどgap detectionが良好になる傾向を認めた。若年マウスと壮年マウスを比較したときに、gap幅が20msから50msにおいて、壮年マウスで抑制率が低下する結果となった。特に16kHzや20kHzの高周波数領域でgap detection能が低下する結果であり、蝸牛神経シナプス障害の周波数領域に合致する結果であった(図3C、D)。

最後に、Gap detection能に関連する中枢聴覚領域の組織学的変化について観察するため、蝸牛神経核と聴皮質における興奮性シナプスマーカーと抑制シナプスマーカーの発現を検討した。蝸牛神経核では興奮性シナプスマーカーであるVGLUT-1の発現に有意な差は認めなかったが、抑制性シナプスマーカーであるGAD65の発現は有意に低下していた(図3E、F)。

さらに聴皮質でも抑制性シナプスマーカーであるParvalbuminの発現が有意に低下していた(図3G、H)。

これら抑制性シナプスマーカーの減少は、ABRのP2/P1及びP5/P1の増加による中枢の代償性興奮に矛盾しない結果であった。



考 察

超高齢社会を迎えた本邦において、加齢性難聴や耳鳴の病態解明に向けた基礎研究は極めて重要である。生きた状態で加齢性難聴の始まりを捉えることはこれまで困難であった。今

回、聴性行動反応を利用したgap detection検査により、加齢性難聴の始まりである蝸牛シナプス障害を捉えることに成功した。

蝸牛シナプス障害は、CBA/Jマウスにおいて4ヶ月齢から徐々に進行することがこれまでに報告されており、今回の我々の壮年マウスで観察された蝸牛シナプス障害の結果と矛盾しない結果であった。蝸牛シナプス障害は、反応閾値の高い神経線維群の選択的障害によると考えられている。シナプス障害では閾値は変化しないものの、閾値上の神経興奮総量が減少するため、言葉の聞き取りや雑音下での語音弁別能に影響する。75dBという閾値上のbackground noiseにおいてsilent gapを提示した時の、神経興奮の変化量が縮小することが一因かもしれない。また、閾値上で興奮する神経線維数が減少するため、雑音下信号検知能の低下や蝸牛神経興奮量減少による中枢代償なども関与していることが想定される。蝸牛シナプス障害により中枢への興奮性入力が増加すると、蝸牛神経や聴皮質において抑制性シナプス障害をきたし、相対的な興奮過剰状態による中枢代償が起き、この中枢の異常興奮がsilent gapを分かりづらくさせている可能性がある。また、この中枢代償は耳鳴にも関与していることが報告されており、耳鳴によってsilent gapが認識しづらくなっていることも関係しているかもしれない。そのほか、認知機能などもgap detection能に影響する可能性があり、今後の検討課題である。細胞死をきたす前の加齢性難聴初期の状態であれば、蝸牛神経シナプスの再生治療や中枢神経活動の亢進を抑制する治療が、加齢性難聴の初期に有効である可能性がある。

要 約

聴力閾値の上昇が見られない壮年期マウスにおいて、蝸牛シナプス障害、central gainおよびgap detection能の低下を認め、加齢性聴覚障害の初期病態・症状であると考えられた。蝸牛シナプス障害を実臨床で同定する簡便な検査手法は確立されていないため、gap detection能の評価により、これまで同定できなかった加齢性難聴の始まりを同定できる可能性が示唆された。

文 献

1. Kengo Yamamoto, Takaomi Kurioka, Motofumi Ohki, Hajime Sano, Taku Yamashita. Is repetitive systemic corticosteroid therapy effective for idiopathic sudden sensorineural hearing loss? a retrospective study. *Front. Neurol.* 14:1167128. doi: 10.3389/fneur.2023.1167128, 2023