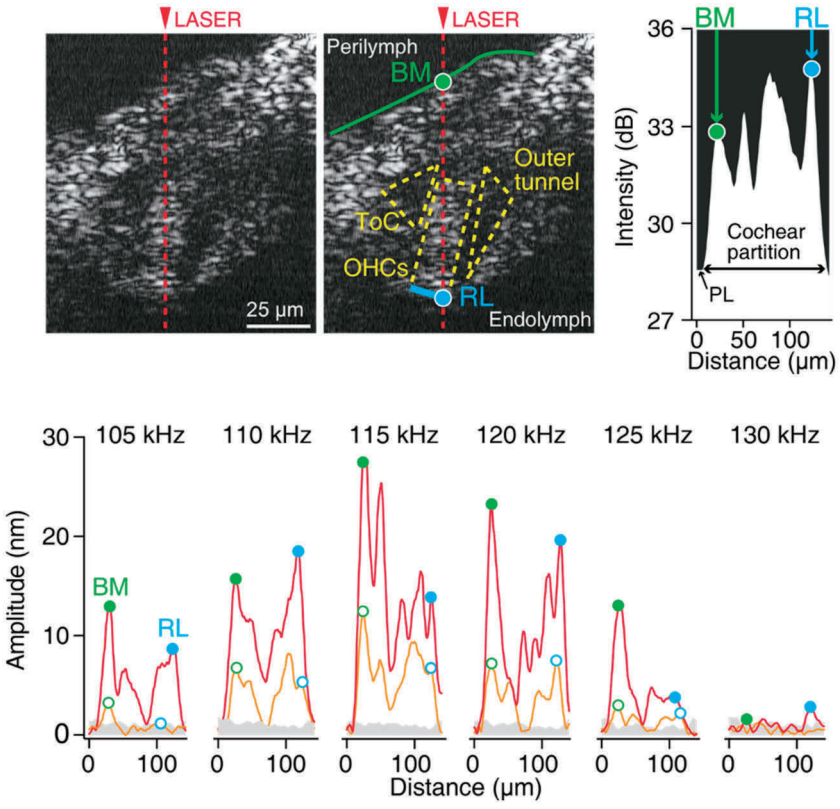
144　蝸牛上皮帯細胞のナノ振動計測による難聴の病態解明	堀井　和広

【目的】超高齢化社会を迎える我が国で益々増加している難聴は、患者数が 1,000 万人を超え、他の感覚疾患や脳卒中の罹患者より段違いに多い。しかし、難聴病因の大部分は不明のため、治療薬や治療法には、30 年以上もの間、殆ど進歩がなく、その開発は喫緊の課題である。原因不明の難聴の多くは蝸牛の異常に起因する。従って、蝸牛の音受容・応答の仕組みを解くことは、聴覚の成立機構の理解のみならず難聴の克服に必須である。本計画では当初難聴モデル動物を作製し、難聴モデルにおける微小振動を解析することを目的としていた。しかしながら予備実験の過程で、蝸牛内で非可聴域超音波を受容する領域を世界で初めて発見することができたため、独自の高性能光干渉断層撮影（OCT）装置を駆使し、超音波刺激による微小振動を解析することで蝸牛において非可聴域超音波を受容する有毛細胞の局在を実証することを目的とした。

【方法】全身麻酔をかけたモルモット蝸牛を対象に、独自の高分解能 OCT 装置を用いて hook region と呼ばれる領域において感覚上皮帯の *in vivo* イメージングと微小振動解析を行った。

【結果】Hook region における外有毛細胞の *in vivo* イメージングに成功した。さらに微小振動解析の結果、hook region の感覚上皮帯において外有毛細胞や基底板が 115 kHz で最も大きな振幅を示すことが確認され、それ以外の周波数では振幅は大きく減弱した。すなわち、非可聴域超音波に対して、最も大きく振動が惹起される感覚上皮帯が、hook region にあることが世界で初めて明らかになった。これらの成果は、従来謎とされてきた超音波聴覚のメカニズム解明に繋がるのみならず、超音波聴覚に着目した新たな難聴検査機器の創出など、臨床医学への橋渡し研究へ発展できると期待される。本研究で得られた成果を基盤として、今後超音波聴覚と加齢性難聴や騒音性難聴など様々な難聴との関係を調べることで、難聴の新規病態解明や新規治療戦略の提唱にも寄与していく。

蝸牛 Hook region における感覚上皮帯の断層撮影像と周波数別の微小振動動態



144. 蝸牛上皮帯細胞のナノ振動計測による難聴の病態解明

堀井　和広

岐阜大学 大学院医学系研究科 生命原理学講座 生理学分野

Key words：感覚上皮帯，光干渉断層撮影（OCT），超音波聴覚

緒　言

“聴覚”は、ヒトの生命活動に必須である。ヒトは、3 m 先の蚊の音から真近の飛行機の巨大エンジン音までも知覚できる。また、ピアノを遥かに凌駕する 10 オクターブの広い可聴域を有する一方、0.0025 オクターブの高さの差も弁別する。この類まれな特性は、内耳の「蝸牛」と呼ばれる器官の感覚上皮帯というシート様組織に惹起される微小振動に依拠する。超高齢化社会を迎える我が国で益々増加している難聴は、患者数が 1,000 万人を超え、他の感覚疾患や脳卒中の罹患者より段違いに多い。実際、世界人口の 10%が難聴に罹患しており、近年は若年性難聴が増えている点でも、すでに大きな社会問題である。しかし、難聴病因の大部分は不明のため、治療薬や治療法には、30 年以上もの間、殆ど進歩がなく、その開発は喫緊の課題である。原因不明の難聴の多くは蝸牛の異常に起因する。従って、蝸牛の音受容・応答の仕組みを解くことは、聴覚の成立機構の理解のみならず難聴の克服に必須である。

本計画では当初難聴モデル動物を作製し、難聴モデルにおける微小振動を解析することを目的としていた。しかしながら予備実験の過程で、蝸牛内で非可聴域超音波を受容する領域を世界で初めて発見することができたため、独自の高性能光干渉断層撮影（OCT）装置を駆使し、超音波刺激による微小振動を解析することで蝸牛において非可聴域超音波を受容する有毛細胞の局在を実証することを目的とした。

方法および結果

1. 独自の高解像 OCT を用いた蝸牛 hook region 感覚上皮帯の *in vivo* イメージング

ヒトにおいて受容できる音の周波数は 20 Hz～20 kHz とされている。20 kHz よりも高い周波数の音は「超音波」と呼ばれ、鼓膜を介する一般的な音入力「気導入力」では受容されない。しかし、近年骨伝導ヘッドホンなどとして活用されている側頭骨への振動入力法「骨導入力」を用いれば、ヒトでも超音波を受容できる［1］。「超音波聴覚」と呼ばれるこの生理的現象は、「超音波補聴器」の開発や耳鳴りの治療などに本邦が中心となって応用している［2，3］が、超音波聴覚の生理機構の詳細は、報告以来 70 余年以上にわたって謎であった。近年我々は、超音波聴覚の生理学的機構の解明に取り組み、モルモットを用いた聴覚求心路と有毛細胞機能の電気生理学的測定により、蝸牛に超音波を受容する有毛細胞が存在することを証明しただけでなく、可聴域上限の 2 オクターブ（4 倍）も高い非可聴域超音波まで蝸牛が受容できることを示してきた。そこで、本研究では蝸牛内で超音波を受容する領域を探索した。

蝸牛では、入り口に近い場所に可聴域の上限の音が、頂上部に近い場所で可聴域の下限の音が受容されることが知られている［4，5］。このことから、実験動物の可聴域を超える超音波が、蝸牛内のどこで受容されているのか、という問いに対して、蝸牛の最も入り口に位置する hook region と呼ばれる感覚上皮帯について、モルモットを対象に調査を進めた。全身麻酔下のモルモットにおいて蝸牛を露出させ、正円窓下に hook region の上皮帯を確認した上で、上皮帯の *in vivo* イメージングを行った。基底回転の最も基底側（図 1A）と hook region（図 1B）の二箇所で撮像した。基底回転の部位は、過去の研究においてモルモットの可聴域の限界付近である約

24 kHz の音を受容することが知られている［6］。測定の結果、基底回転の上皮帯の厚さは 96±9 μm（平均値±標準偏差）、幅は 141±18 μm、一方で、hook region の上皮帯は厚さが 97±4 μm、幅が 114±9 μm であった。それぞれを比較すると、上皮帯の厚さには有意な差はみられなかったものの、基底板の幅は hook region で有意に小さかった（P 値＝0.0005、t 検定）。

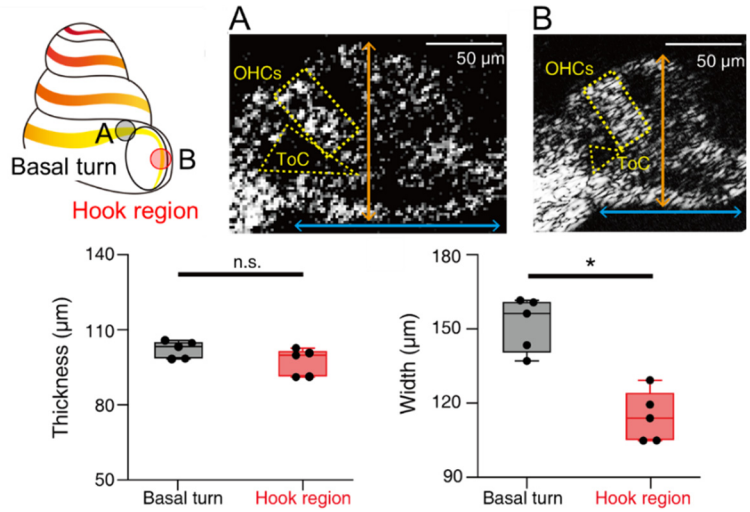


図 1. モルモット蝸牛基底回転および Hook region の感覚上皮帯の形態の比較
基底回転（A）、hook region（B）の断層撮影像（スケールバー：50 μm）。断層撮影像から上皮帯の厚さと基底板の幅について基底回転とhook regionで比較した結果、基底板の幅がhook regionで有意に狭い（P値＝0.0005、t検定）ことが明らかとなった。

2. OCT を用いた hook region 感覚上皮帯の非可聴域超音波による微小振動解析

次に、基底板（Basilar membrane：BM）と外有毛細胞頂上部（Reticular lamina：RL）の両部位における微小振動を測定した。モルモットの可聴域上限とされる 40 kHz を遥かに超える 100～130 kHz の超音波刺激を側頭骨を介して与えた。その結果、BM と RL ともに 115 kHz で大きな振幅となることが確認され、それ以外の周波数では振幅は大きく減弱した（図 2）。すなわち、非可聴域超音波に対して、最も大きく振動が惹起される感覚上皮帯が、Hook region にあることが世界で初めて明らかになった。

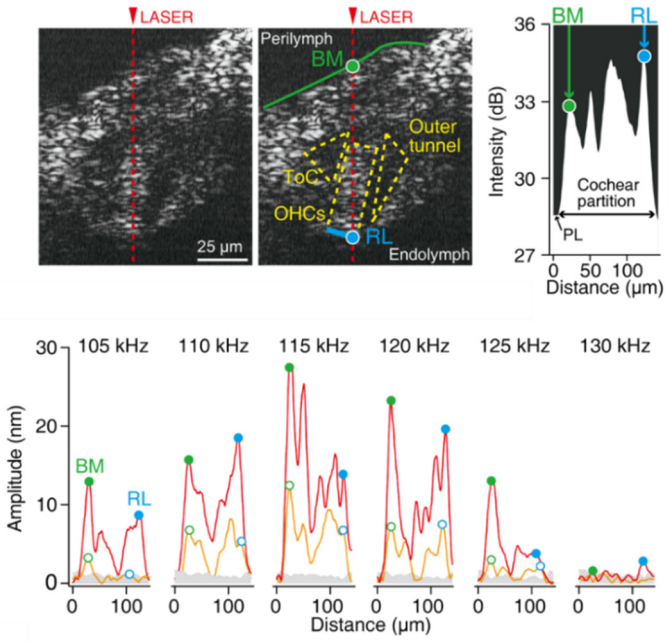


図 2. 蝸牛 Hook region における上皮帯の断層撮影像と周波数別の微小振動動態
105～130 kHzの超音波刺激による上皮帯振動を示した（赤：100 dB、オレンジ：90 dB）。

考　察

本研究の hook region における上皮帯の *in vivo* イメージングの結果から、基底板の幅は基底回転に比べ hook region で有意に小さいことが明らかとなった。物理的な特性から、物体の幅が小さいほど高い周波数の振動に共鳴することが予想される。したがって、hook region の上皮帯が基底回転の部位より高い周波数で振動し、モルモットの可聴域を超える超音波を受容する可能性が示唆される。さらに微小振動解析の結果から hook region の上皮帯は 110～120 kHz の超音波に対して、刺激と一致した周波数で振動していた。これらの結果から hook region の上皮帯が超音波と一致した周波数で振動することで、超音波聴覚が蝸牛を介した機構により成立する可能性が示唆された。これらの成果は、従来謎とされてきた超音波聴覚のメカニズム解明につながるのみならず、超音波聴覚に着目した新たな難聴検査機器の創出など、臨床医学への橋渡し研究へ発展できると期待される。本研究で得られた成果を基盤として、今後超音波聴覚と加齢性難聴や騒音性難聴など様々な難聴との関係を調べることで、難聴の新規病態解明や新規治療戦略の提唱にも寄与していく。

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、岐阜大学大学院医学系研究科生理学分野の任書晃、安部力、森元伊織、小川博史、長瀬典子である。本研究をご支援頂いた上原記念生命科学財団の皆様、並びに共同研究の遂行にご協力頂いた岐阜大学大学院医学研究科生理学分野の教室員の皆様に厚く御礼申し上げます。

文　献

1）　Pumphery RJ. Upper limit of frequency for human hearing. Nature 1950: 166 (4222): 571. doi: 10.1038/166571b0.

2) Nishimura T, Okayasu T, Uratani Y, Fukuda F, Saito O, Hosoi H. Peripheral perception mechanism of ultrasonic hearing. Hear Res 2011: 277 (1-2): 176-183. doi: 10.1016/j.heares.2011.01.004.
3) Koizumi T, Nishimura T, Yamashita A, Yamanaka T, Imamura T, Hosoi H. Residual inhibition of tinnitus induced by 30-kHz bone-conducted ultrasound. Hear Res 2014: 310: 48-53. doi: 10.1016/j.heares.2014.01.011.
4) Bekesy Gv. Experiments in hearing. McGraw-Hill Book Company 1960.
5) Ulfendahl M. Mechanical responses of the mammalian cochlea. Prog Neurobiol 1997: 53 (3): 331-380. doi: 10.1016/s0301-0082(97)00040-3.
6) Nin F, Choi S, Ota T, Qi Z, Hibino H. Optimization of spectral-domain optical coherence tomography with a supercontinuum source for in vivo motion detection of low reflective outer hair cells in guinea pig cochleae. Optical Review 2021: 28, 239-254. doi.org/10.1007/s10043-021-00654-8