総 説

(第 59 回日本音声言語医学会シンポジウム：再生医療から見た音声言語医学の未来)

再生医学から見た音声言語医学の未来

——人工内耳と再生医療——

山本 典生 伊藤 壽一

要 約：人工内耳は「最も成功した人工感覚器」とされているが、蝸牛神経を刺激することにより聴覚を再獲得させるので、その効果を十分に享受するためには、ある程度蝸牛神経が残存している必要がある。また、近年人工内耳の適応が低音に残聴のある症例にも拡大され、その効果を十分に得るためには残存している有毛細胞をできるだけ障害せず、また障害した場合でも回復させる方法の重要性が増している。

これらの人工内耳の限界を取り払い適応拡大の効果をより高めるため、従来哺乳類では再生することがないといわれていた蝸牛神経あるいは内耳有毛細胞を再生または保護することが必要である。増殖因子や幹細胞といった再生医療技術を用いてこれらが可能であることがさまざまな動物実験から示されており、増殖因子である IGF-1 は臨床試験によって突発性難聴に対する効果が示された。今後はこれらの研究結果を新しい人工内耳医療に応用する方法を開発することが望まれる。

索引用語：人工内耳、増殖因子、幹細胞

Future of Logopedics and Phoniatics Based on Regenerative Medicine

——Cochlear Implants and Regenerative Medicine——

Norio Yamamoto and Juichi Ito

Abstract: Cochlear implantation improves hearing and speech ability in patients with profound or severe sensorineural hearing loss. However, its effects are limited when there is a primary auditory neuron response deficiency because the effects of cochlear implantation are dependent on the function of the cochlear nerve. Recently, cochlear implantation indications have been expanded, and even patients with residual hearing in the low-frequency range have received cochlear implantation. In this case, the preservation or regeneration of hair cells is necessary.

To overcome the limitations of cochlear implantation and to achieve more effective outcome in cases of the expanded indication, it is necessary to preserve or regenerate spiral ganglion cells, i.e. primary auditory neurons, and hair cells, both of which never regenerate naturally in mammals. Previous experiments using animals showed that these were

accomplished using growth factors or stem cells, which are the important tools of regenerative medicine. Even in clinical trials on human beings to treat idiopathic sudden sensorineural hearing loss, one of the growth factors, insulin-like growth factor 1 (IGF-1), was shown to be more effective than steroid therapy, indicating that this growth factor is useful for cochlear implantation.

It is necessary to apply these results to cochlear implantation in the future.

Key words: cochlear implant, growth factor, stem cell

はじめに

1982年に現在の多チャンネル型の人工内耳が発売されて以来、世界中で2012年までに30万人以上の両側高度感音難聴患者が人工内耳手術を受けて（米国国立聴覚コミュニケーション障害研究所ホームページ <http://www.nidcd.nih.gov/health/hearing/pages/coch.aspx> より）、言葉聞き取りの向上などの聴覚の獲得のメリットを享受している。先天性高度感音難聴に対しても人工内耳手術が施行されるようになってからは、人工内耳の装用によって高度感音難聴児の聴覚の獲得のみならず言語の獲得も期待できる状況となっており、人工内耳は最も成功した人工感覚器といわれている。

現在の人工内耳は蝸牛内に挿入した電極で蝸牛軸近くに存在する蝸牛神経の細胞体（ラセン神経節細胞）を刺激することによって聴覚を再獲得させるデバイスであるため、その効果を十分に享受するためには蝸牛神経がある程度残存している必要がある。このため、蝸牛神経低形成例などのように蝸牛神経細胞の数が少ないと考えられる症例では人工内耳の効果を十分に得ることができない。また、近年人工内耳手術の適応拡大が行われており、低音部分に残聴のある症例に対して低侵襲の電極を用いて低侵襲な手技の手術を行い、低音を音響刺激で高音を人工内耳でカバーすることで補聴器以上の効果を得る残存聴力活用型人工内耳が欧州を中心に開始され¹⁾、日本でも2014年夏より保険適応となった。残存聴力活用型人工内耳は低音の残聴を音響刺激で活用することが成功の要点であるので、その効果を十分得るためには残存している有毛細胞を手術操作でできるだけ傷害せず、また傷害した場合でも回復させることが必要となってくる。

従来は、蝸牛神経を含む神経や内耳有毛細胞は、皮膚や肝臓と異なりヒトを含む哺乳類では生後に再生することはないとされていた。しかし、神経をはじめとする組織幹細胞や21世紀に入ってからさまざまな

多能性幹細胞の発見、成長因子などのさまざまな再生に必要な因子の発見などにより、再生医療が格段の進歩を遂げて、従来再生できないとされていた臓器の再生が可能となりつつある。人工内耳は本来、有毛細胞が再生しないとされたがゆえに、それを補うべく開発された医療であり、再生医療とは相いれないものにとらえがちであるが、人工内耳の限界を取り払いまたその適応の拡大をより容易にするために再生医療技術を応用することで、人工内耳の効果を従来のものよりも高めることができるのではないかと考えてわれわれは研究を進めてきた。本稿では、再生医療技術の人工内耳医療への応用についてわれわれのこれまでの成果も含めて紹介したい。

再生医療技術のツール

再生医療は、「生きた細胞を組み込んだ機器等を患者の体内に移植等すること、または内在性幹細胞を細胞増殖分化因子により活性化/分化させることにより、損傷した臓器や組織の自己再生能力を活性化することで失われた機能を回復させる医療」（多能性幹細胞安全情報サイト <http://www.nihs.go.jp/cgtp/cgtp/sec2/sispsc/html/saisei.html>）と定義されている。つまり、幹細胞、増殖分化因子などが再生医療技術を支える重要なツールといえる。

幹細胞は未分化で増殖能および自己複製能を有しており、さまざまな種類の細胞に変化する細胞である²⁾。各組織を構成する細胞すべての種類になりうる細胞を組織幹細胞と呼び、血液、皮膚、腸管など生後においても通常の状態でも再生しうる臓器ではその存在が1960年代、70年代から証明されてきた。80年代から90年代にかけては、生後哺乳類では再生能力がないとされてきた神経にも組織幹細胞が存在することが証明され³⁾、再生医学への幹細胞の応用が考慮されるようになった。組織幹細胞よりもさらに多様な細胞になる能力を有する幹細胞として研究が進められたのが多能性幹細胞である。特定の遺伝子を欠失させたノック

クアウトマウスの作成に利用されていた胚性幹細胞 (ES 細胞) が 1998 年にヒトでも樹立され⁴⁾, 成体の体内のすべての細胞になる能力を有する ES 細胞は再生医療の有力なツールとして注目された。21 世紀に入り, ヒトへの臨床応用が加速され, 2010 年にはアメリカ合衆国において複数の民間企業が脊髄損傷や網膜黄斑変性⁵⁾ に対してヒト ES 細胞を用いた臨床試験を開始した。ただし, ES 細胞は受精卵を材料として作成されるため, ヒトへの臨床応用には倫理的問題が宗教などによっては生じることがある。ES 細胞と同様の能力をもつ多能性幹細胞として 2006 年に Yamanaka らがマウスを用いて作成した人工多能性細胞 (iPS 細胞)⁶⁾ は, 成熟した体細胞に 4 つの因子を発現させることで作成できる多能性幹細胞で, あらゆる体細胞からの作成が可能である。つまり, 豊富に供給されてかつ再生能力のある自己の皮膚や血液の細胞を用いて多能性幹細胞を作成できるため, 他者の受精卵が唯一のソースである ES 細胞のような倫理的問題や免疫学的問題を回避可能である。2007 年にはヒトでの iPS 細胞の樹立が報告され^{7,8)}, iPS 細胞の臨床応用が現実的なものとなり, 2014 年に日本において iPS 細胞を用いた加齢性黄斑変性症患者からの iPS 細胞の樹立と投与が行われた。

一方, 細胞から目的の組織や臓器を誘導するための因子として, 1960 年から 70 年代に外分泌腺や内分泌腺から抽出された成長因子^{9,10)} が, さまざまな細胞の生存, 増殖, 分化を制御しうることが知られている。これらの成長因子のうち, 塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) はその繊維芽細胞, 血管内皮細胞, 表皮細胞に対する増殖作用から, 褥瘡・皮膚潰瘍の治療に応用されている。また, 造血幹細胞と血液系の諸細胞の前駆細胞の研究から同定されたエリスロポイエチンや顆粒球コロニー刺激因子¹¹⁾ はそれぞれ貧血や好中球減少症の治療に用いられている。このように, まだ臨床試験が始まったばかりの多能性幹細胞を用いた医療と異なり, 成長因子などの液性因子を用いた治療はすでに臨床現場に導入されて十分な実績を積んでいる。

蝸牛における再生医療の対象

内耳蝸牛における再生医療の対象となる組織としては, Schuknecht が加齢性難聴で障害される組織として指摘したコルチ器 (内外有毛細胞を含む), 血管条 (あるいは fibrocyte も加えた蝸牛側壁), ラセン神経節などが挙げられる¹²⁾。このうち, ラセン神経節細胞の再生は, 先述した人工内耳医療の限界を取り払うために

必要であり, またコルチ器, 特に有毛細胞の保護あるいは再生は残存聴力活用型人工内耳の効果をより高めるために必要であると考えられる (図 1)。

ラセン神経節細胞の再生と人工内耳

残存しているラセン神経節細胞数と人工内耳の成績とは相関がなく^{13,14)}, 通常の 10% のラセン神経節細胞数があれば人工内耳の成績は満足できるものであるとの報告もあるが¹³⁾, 近年の両側人工内耳装用者の左右の単語認識率とラセン神経節細胞数との関係を解析した報告によれば, この 2 つは相関するとされている¹⁵⁾。また術前に画像で両側蝸牛神経形成不全が認められる場合, 人工内耳の成績は不良とされている¹⁶⁾。さらに, 人工内耳のコード化法として, よりラセン神経節細胞の機能が必要となると予測される current steering¹⁷⁾ も実用化されてきているため, 人工内耳を行う際にラセン神経節細胞数をできるだけ確保する重要性は増してきているといえる。

ラセン神経節細胞とその神経終末は有毛細胞から分泌される成長因子の一種である神経栄養因子, 脳由来神経栄養因子 (BDNF) や Neurotrophin 3 (NT-3) によって維持されている。このため, これらの神経栄養因子を分泌する有毛細胞が障害された場合でも, BDNF や NT-3 を補うことでラセン神経節細胞を維持し末梢側の軸索の再生が認められ, 動物モデルでは神経機能の回復に役立つことが証明されている^{18,19)}。神経栄養因子を蝸牛に供給する方法としては, 徐放性ゲルを用いる方法¹⁸⁾, ウイルスベクターを用いて遺伝子を強制発現させる方法²⁰⁻²³⁾, 神経栄養因子を遺伝子工学的に発現させた細胞を移植する方法²⁴⁾, 神経幹細胞を移植する方法²⁵⁾, 人工内耳電極に神経栄養因子をコーティングする方法²⁶⁾, 人工内耳電極に設けた薬剤投与用のチャンネルを通して投与する方法²⁷⁾ などが試みられている。

一方, 消失したあるいはもともと欠失しているラセン神経節細胞を補う方法として幹細胞の移植が考慮される。胎仔²⁸⁾ や成体²⁹⁾ の神経幹細胞を移植した場合は細胞の生着のみが認められ, 神経への分化が認められなかったが, ES 細胞を用いて移植前に神経への分化誘導を行うと, 移植細胞が神経突起を伸ばし³⁰⁻³²⁾ かつ神経機能の改善も確認をすることができた³¹⁾。Chen らはヒト ES 細胞を耳朧前駆細胞に分化させた後にモルモットに移植し, 移植細胞の神経への分化と蝸牛神経機能の回復を electrically evoked auditory brain stem response (EABR) を用いて示した³³⁾。ヒ

図1 人工内耳医療における再生医療の概念

ラセン神経節細胞には神経栄養因子や幹細胞が用いられ、内有毛細胞、外有毛細胞を含むコルチ器には増殖因子が用いられる。

トES細胞がラセン神経節細胞の再生に有用であることが示されたことは、臨床応用に向けての大きな一歩であり、今後iPS細胞を用いた同様の研究が進んでいくと思われる。

有毛細胞の保護・再生と人工内耳

低音部に残聴がある高度感音難聴患者に対して低侵襲手術を行い、残存聴力活用型人工内耳を埋め込むことにより、補聴器のみを用いた聞き取りを上回る聞き取りを得ることができるが、残存聴力活用型人工内耳の効用を得るためには術後の聴力低下を予防することが必要である。しかし、正円窓アプローチや柔らかい電極の使用などの低侵襲手術を行い、ステロイドを術中・術後に用いても、残存聴力活用型人工内耳の効用は得られるが、周波数によっては20 dB程度の閾値上昇が起きてしまうことが報告されている³⁴⁾。より残存聴力活用型人工内耳の効果を高めるためには、哺乳

類では生後に傷害されると再生することがないといわれている蝸牛有毛細胞を再生あるいは傷害から保護することが必要となる。哺乳類の蝸牛有毛細胞やその周囲に存在する支持細胞は、生後増殖能力がないため再生能力を失っているとされているため³⁵⁾、細胞増殖を促す成長因子を蝸牛有毛細胞の再生に用いることが試みられている。われわれは数ある成長因子のなかでも、新生仔ラット卵形囊の分離培養において増殖を誘導し³⁶⁾、かつ蝸牛の発生期においても重要な役割を果たす^{37, 38)} インスリン様成長因子1 (IGF-1) に注目しさまざまな検討を行った³⁹⁾。

IGF-1を音響外傷^{40, 41)}あるいは虚血⁴²⁾による内耳障害の哺乳類モデル動物に投与したところ、有毛細胞保護効果と聴力悪化防止効果を認めた。新生仔マウス蝸牛の器官培養を用いてそのメカニズムを検討したところ、細胞死を防ぐ保護効果的なものと支持細胞の増殖を誘導して有毛細胞数を保つ再生的なものがあるこ

とが示された⁴³⁾。IGF-1を用いたステロイド全身投与不応の突発性難聴に対する臨床試験は、過去の類似対照である高気圧酸素療法と同等の効果があることが確認され⁴⁴⁾、またステロイド鼓室内投与とのランダム化比較試験では純音聴力回復の経過においてステロイド鼓室内投与に対して有意に有効であると示された⁴⁵⁾。IGF-1の内耳投与の臨床試験において、内耳に対する毒性が指摘されず、むしろステロイドに対する優位性が示されたことから、IGF-1が残存聴力活用型人工内耳において有効な薬剤である可能性が考えられる。

結 語

人工内耳は自然には再生しないとされていた有毛細胞の機能を補うべく開発された医療であるが、幹細胞や成長因子を利用した再生医療を応用することによりその限界を取り払いさらにその適応拡大を推し進めることができる可能性がさまざまな研究によって示されている。これら再生医療技術の人工内耳の臨床現場への応用を今後進めていくことがこれからの人工内耳医療の一つの課題であると考えられる。

利益相反自己申告：申告すべきものなし。

文 献

- 1) von Ilberg C, Kiefer J, Tillein J, et al: Electric-acoustic stimulation of the auditory system. New technology for severe hearing loss. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*, 61: 334-340, 1999.
- 2) Potten CS and Loeffler M: Stem cells: attributes, cycles, spirals, pitfalls and uncertainties. Lessons for and from the crypt. *Development*, 110: 1001-1020, 1990.
- 3) Gage FH and Temple S: Neural stem cells: generating and regenerating the brain. *Neuron*, 80: 588-601, 2013.
- 4) Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al: Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, 282: 1145-1147, 1998.
- 5) Schwartz SD, Hubschman JP, Heilwell G, et al: Embryonic stem cell trials for macular degeneration: a preliminary report. *Lancet*, 379: 713-720, 2012.
- 6) Takahashi K and Yamanaka S: Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 126: 663-676, 2006.
- 7) Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al: Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*, 131: 861-872, 2007.
- 8) Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, et al: Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science*, 318: 1917-1920, 2007.
- 9) Armelin HA: Pituitary extracts and steroid hormones in the control of 3T3 cell growth. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 70: 2702-2706, 1973.
- 10) Cohen S: Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *J Biol Chem*, 237: 1555-1562, 1962.
- 11) Dexter TM and Spooner E: Growth and differentiation in the hemopoietic system. *Annu Rev Cell Biol*, 3: 423-441, 1987.
- 12) Schuknecht HF and Gacek MR: Cochlear pathology in presbycusis. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 102: 1-16, 1993.
- 13) Fayad JN and Linthicum FH Jr.: Multichannel cochlear implants: relation of histopathology to performance. *Laryngoscope*, 116: 1310-1320, 2006.
- 14) Khan AM, Handzel O, Burgess BJ, et al: Is word recognition correlated with the number of surviving spiral ganglion cells and electrode insertion depth in human subjects with cochlear implants? *Laryngoscope*, 115: 672-677, 2005.
- 15) Seyyedi M, Viana LM and Nadol JB Jr.: Within-subject comparison of word recognition and spiral ganglion cell count in bilateral cochlear implant recipients. *Otol Neurotol*, 35: 1446-1450, 2014.
- 16) Kutz JW Jr, Lee KH, Isaacson B, et al: Cochlear implantation in children with cochlear nerve absence or deficiency. *Otol Neurotol*, 32: 956-961, 2011.
- 17) Bonham BH and Litvak LM: Current focusing and steering: modeling, physiology, and psychophysics. *Hear Res*, 242: 141-153, 2008.
- 18) Endo T, Nakagawa T, Kita T, et al: Novel strategy for treatment of inner ears using a biodegradable gel. *Laryngoscope*, 115: 2016-2020, 2005.
- 19) Miller JM, Le Prell CG, Prieskorn DM, et al: Delayed neurotrophin treatment following deafness rescues spiral ganglion cells from death and promotes regrowth of auditory nerve peripheral processes: effects of brain-derived neurotrophic factor and fibroblast growth factor. *J Neurosci Res*, 85: 1959-1969, 2007.
- 20) Kanzaki S, Stover T, Kawamoto K, et al: Glial cell line-derived neurotrophic factor and chronic electrical stimulation prevent VIII cranial nerve degeneration following denervation. *J Comp Neurol*, 454: 350-360, 2002.
- 21) Shibata SB, Cortez SR, Beyer LA, et al: Transgenic BDNF induces nerve fiber regrowth into the auditory epithelium in deaf cochleae. *Exp Neurol*, 223: 464-472, 2010.
- 22) Wise AK, Hume CR, Flynn BO, et al: Effects of localized neurotrophin gene expression on spiral ganglion neuron resprouting in the deafened cochlea. *Mol Ther*, 18: 1111-1122, 2010.
- 23) Yagi M, Kanzaki S, Kawamoto K, et al: Spiral ganglion neurons are protected from degeneration by GDNF gene therapy. *J Assoc Res Otolaryngol*, 1: 315-325, 2000.
- 24) Okano T, Nakagawa T, Kita T, et al: Cell-gene delivery of brain-derived neurotrophic factor to the mouse inner ear.

- Mol Ther, 14: 866-871, 2006.
- 25) Iguchi F, Nakagawa T, Tateya I, et al: Trophic support of mouse inner ear by neural stem cell transplantation. *Neuroreport*, 14: 77-80, 2003.
 - 26) Richardson RT, Wise AK, Thompson BC, et al: Polypyrrole-coated electrodes for the delivery of charge and neurotrophins to cochlear neurons. *Biomaterials*, 30: 2614-2624, 2009.
 - 27) Paasche G, Gibson P, Averbek T, et al: Technical report: modification of a cochlear implant electrode for drug delivery to the inner ear. *Otol Neurotol*, 24: 222-227, 2003.
 - 28) Tamura T, Nakagawa T, Iguchi F, et al: Transplantation of neural stem cells into the modiolus of mouse cochlea injured by cisplatin. *Acta Otolaryngol Suppl*, 551: 65-68, 2004.
 - 29) Hu Z, Wei D, Johansson CB, et al: Survival and neural differentiation of adult neural stem cells transplanted into the mature inner ear. *Exp Cell Res*, 302: 40-47, 2005.
 - 30) Corrales CE, Pan L, Li H, et al: Engraftment and differentiation of embryonic stem cell-derived neural progenitor cells in the cochlear nerve trunk: growth of processes into the organ of Corti. *J Neurobiol*, 66: 1489-1500, 2006.
 - 31) Okano T, Nakagawa T, Endo T, et al: Engraftment of embryonic stem cell-derived neurons into the cochlear modiolus. *Neuroreport*, 16: 1919-1922, 2005.
 - 32) Sekiya T, Kojima K, Matsumoto M, et al: Cell transplantation to the auditory nerve and cochlear duct. *Exp Neurol*, 198: 12-24, 2006.
 - 33) Chen W, Jongkamonwiwat N, Abbas L, et al: Restoration of auditory evoked responses by human ES-cell-derived otic progenitors. *Nature*, 490: 278-282, 2012.
 - 34) Usami S, Moteki H, Tsukada K, et al: Hearing preservation and clinical outcome of 32 consecutive electric acoustic stimulation (EAS) surgeries. *Acta Otolaryngol*, 134: 717-727, 2014.
 - 35) Ruben RJ: Development of the inner ear of the mouse: a radioautographic study of terminal mitoses. *Acta Otolaryngol Suppl*, 220: 221-244, 1967.
 - 36) Zheng JL, Helbig C and Gao WQ: Induction of cell proliferation by fibroblast and insulin-like growth factors in pure rat inner ear epithelial cell cultures. *J Neurosci*, 17: 216-226, 1997.
 - 37) Camarero G, Avendano C, Fernandez-Moreno C, et al: Delayed inner ear maturation and neuronal loss in postnatal Igf-1-deficient mice. *J Neurosci*, 21: 7630-7641, 2001.
 - 38) Okano T, Xuan S and Kelley MW: Insulin-like growth factor signaling regulates the timing of sensory cell differentiation in the mouse cochlea. *J Neurosci*, 31: 18104-18118, 2011.
 - 39) Yamamoto N, Nakagawa T and Ito J: Application of insulin-like growth factor-1 in the treatment of inner ear disorders. *Front Pharmacol*, 5: 208, 2014.
 - 40) Iwai K, Nakagawa T, Endo T, et al: Cochlear protection by local insulin-like growth factor-1 application using biodegradable hydrogel. *Laryngoscope*, 116: 529-533, 2006.
 - 41) Lee KY, Nakagawa T, Okano T, et al: Novel therapy for hearing loss: delivery of insulin-like growth factor 1 to the cochlea using gelatin hydrogel. *Otol Neurotol*, 28: 976-981, 2007.
 - 42) Fujiwara T, Hato N, Nakagawa T, et al: Insulin-like growth factor 1 treatment via hydrogels rescues cochlear hair cells from ischemic injury. *Neuroreport*, 19: 1585-1588, 2008.
 - 43) Hayashi Y, Yamamoto N, Nakagawa T, et al: Insulin-like growth factor 1 inhibits hair cell apoptosis and promotes the cell cycle of supporting cells by activating different downstream cascades after pharmacological hair cell injury in neonatal mice. *Mol Cell Neurosci*, 56: 29-38, 2013.
 - 44) Nakagawa T, Sakamoto T, Hiraumi H, et al: Topical insulin-like growth factor 1 treatment using gelatin hydrogels for glucocorticoid-resistant sudden sensorineural hearing loss: a prospective clinical trial. *BMC Med*, 8: 76, 2010.
 - 45) Nakagawa T, Kumakawa K, Usami S, et al: A randomized controlled clinical trial of topical insulin-like growth factor-1 therapy for sudden deafness refractory to systemic corticosteroid treatment. *BMC Med*, 12: 219, 2014.
- 別刷請求先：〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54
京都大学大学院医学研究科耳鼻咽喉科・
頭頸部外科
山本典生