

研究概要報告書

資料 - 5

(1/2)

研究題名	音響外傷性難聴の改善に関する基礎的研究	報告書作成者	橋野 恵里
研究従事者	橋野 恵里, リチャード サルビ		
研究目的	<p>ごく最近, 鳥類の聴器有毛細胞が音響負荷による損失の後に速やかに再生することが明らかにされた. 高等動物における聴覚受容細胞再生の例はそれまで報告されておらず, その再生メカニズムを明らかにすることは音響外傷性難聴の改善に光明をもたらすことが期待される. 本研究の目的は次の2点である. 1) 再生した有毛細胞の細胞起源ならびに細胞再生のタイミングを特定する. 2) 有毛細胞の損失とその後の再生に伴う聴神経線維再生の可能性を検討する.</p>		
研究内容	<p>bromodeoxyuridine (BrdU) は増殖中の細胞の単鎖DNA に取り込まれるので, 増殖した細胞のマーカーとして有用な物質である. 10-15 日齢のヒヨコを用い, 音響負荷 (1.5 kHz 純音, 115 dB SPL, 48時間) 中もしくは音響負荷後様々な時間帯にBrdUを投与し, その後免疫組織化学的方法で蝸牛内のBrdUを取り込んだ細胞 (増殖した細胞) を視覚化し, 次のような結果を得た. 1) 音響負荷開始24-32 時間後にすでに損失した感覚細胞の後に新たな細胞の増殖が開始した. 2) 増殖した細胞の数は48時間におよぶ音響負荷の終了直前にピークに達し, 負荷終了後に減少した. 3) 損失した有毛細胞直下の支持細胞がBrdUでラベルされた. これらの結果は音響外傷後に再生した有毛細胞は支持細胞の細胞分裂によって産生されたことを示している. またこのような細胞増殖のプロセスは単一のmitotic waveを含んでいること, さらに細胞増殖のプロセスが引き続く外傷性刺激によって抑制されないことを示唆している.</p> <p>GAP-43は成長付随タンパク質 (growth-associated protein) と呼ばれ, 神経細胞の成長や再生の際に発現し, 特に軸索の成長円錐に局在することが知られている. このタンパク質に対するモノクローナル抗体を用いて免疫組織化学を行うこと</p>		

研究概要報告書

(2/2)

研究題名	音響外傷性難聴の改善に関する基礎的研究	報告書作成者	橋野 恵里
研究従事者	橋野 恵里, リチャード サルビ		
研究目的			
研究内容	<p>によって神経細胞の成長や再生の過程を知ることが出来る。10-15 日齢のヒヨコに音響負荷を行った後、聴神経線維におけるGAP-43の時空間的発現パターンを調べた。GAP-43は有毛細胞損失の5日後に蝸牛神経節細胞の細胞体ならびにその近傍の神経線維に初めて現れた。10日後にGAP-43は細胞体からは消失し、細胞体から遥かに離れた中枢性神経線維にじゅず状に分布しているのが認められた。このようなGAP-43の最初の誘導のタイミング、ならびに空間的分布は神経細胞再生の際に認められるGAP-43の発現パターンと類似している。したがって、有毛細胞損失によっていったん入力を断たれた蝸牛神経節細胞が軸索をリトラクトした後、新たな有毛細胞の再生に伴う感覚入力の復活に反応し、蝸牛神経核の標的細胞に向かって新たに軸索を伸ばした可能性が高い。また、軸索の成長は有毛細胞の再生プロセスと同期していることを示している。</p>		

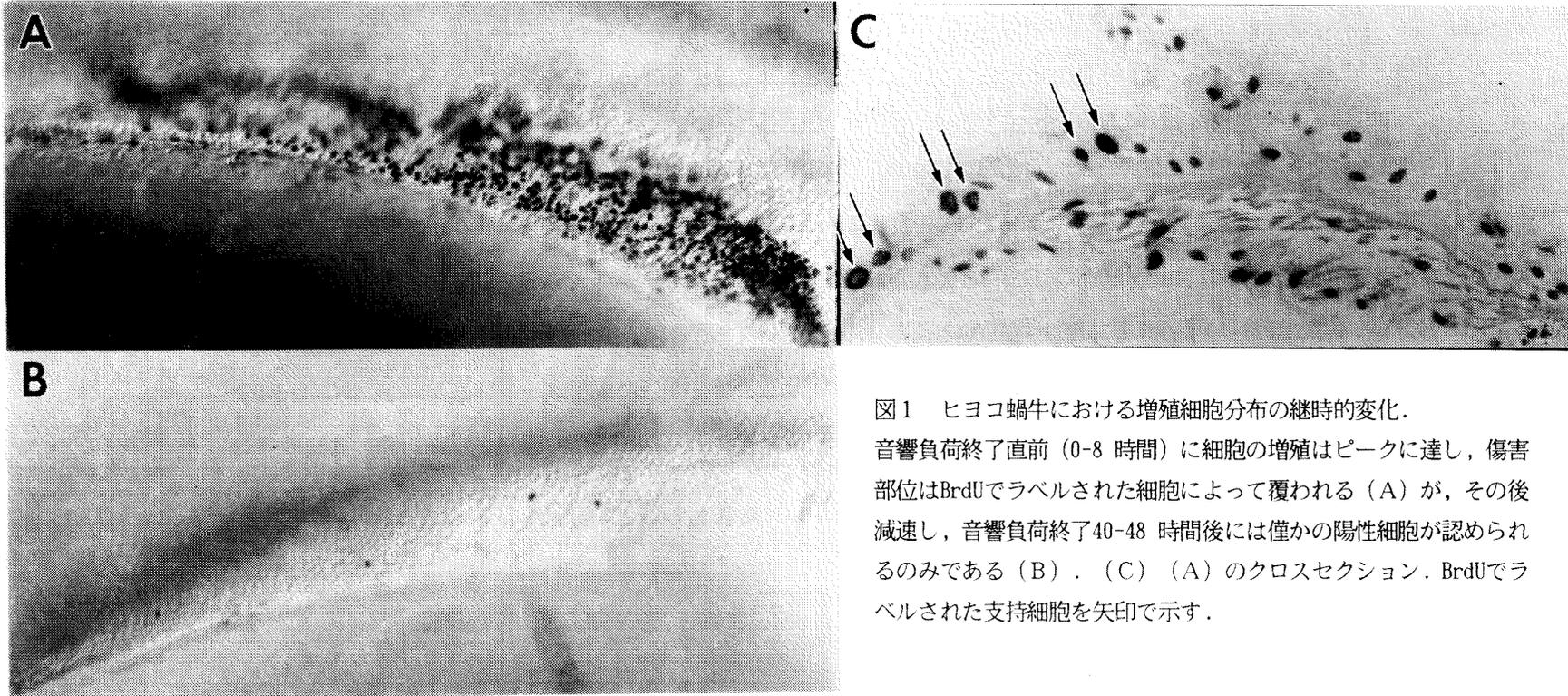


図1 ヒヨコ蝸牛における増殖細胞分布の継時的変化.
音響負荷終了直前(0-8時間)に細胞の増殖はピークに達し、傷害部位はBrdUでラベルされた細胞によって覆われる(A)が、その後減速し、音響負荷終了40-48時間後には僅かの陽性細胞が認められるのみである(B)。(C)(A)のクロスセクション。BrdUでラベルされた支持細胞を矢印で示す。

(注: フローチャート図, ブロック図, 構成図, 写真, データ表, グラフ等 研究内容の補足説明に御使用下さい)

様式-10

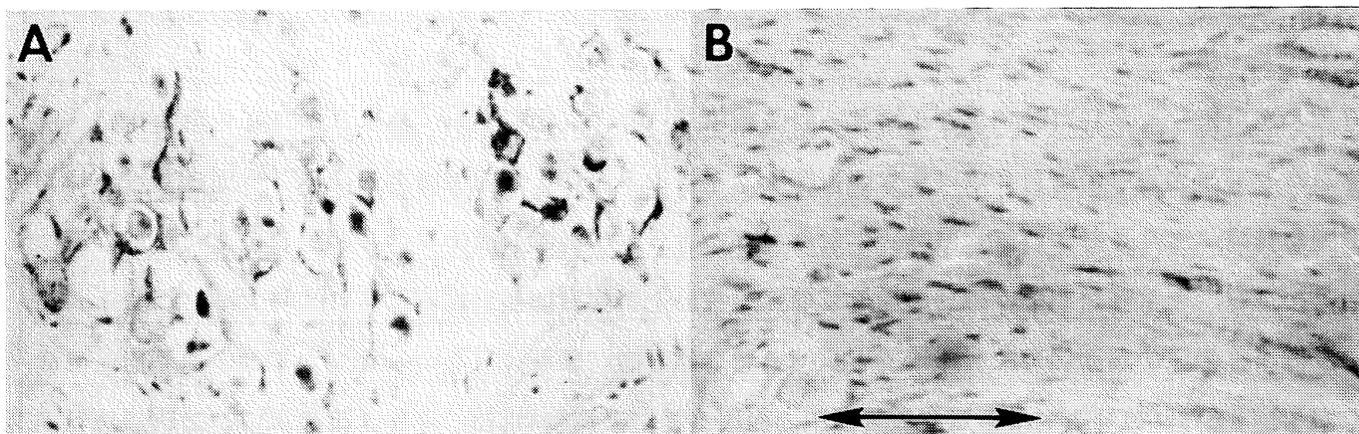


図2 ヒヨコ蝸牛神経節細胞の抗GAP-43抗体による染色像.

- (A) 音響負荷5日後. GAP-43陽性反応は細胞体ならびにその近傍の神経線維に認められる.
- (B) 音響負荷10日後. 神経節細胞の中樞性軸索が不連続的に染色されているのが認められる (矢印).

(注: フローチャート図, ブロック図, 構成図, 写真, データ表, グラフ等 研究内容の補足説明に御使用下さい)

様式-10