

細胞工学的手法による難聴動物の単離ラセン神経節細胞の興奮抑制機序解明

著者	川瀬 哲明
URL	http://hdl.handle.net/10097/41488

細胞工学的手法による
難聴動物の単離ラセン神経節細胞の興奮抑制機序解明
(09671731)

平成9～平成10年度科学研究費補助金（基盤研究（C）（2））
研究成果報告書

平成11年3月19日
研究代表者 川瀬 哲明
(東北大学医学部附属病院・講師)

細胞工学的手法による

難聴動物の単離ラセン神経節細胞の興奮抑制機序解明

(09671731)

平成9～平成10年度科学研究費補助金（基盤研究（C）（2））

研究成果報告書

平成11年3月19日

研究代表者 川瀬 哲明

（東北大学医学部附属病院・講師）

東北大学図書



00010176340

附属図書館

はじめに

近年、高度難聴に対する治療として、人工内耳手術が盛んに行われるようになってきた。本治療では、蝸牛内に挿入された電極により、蝸牛神経が直接電氣的に刺激されることになるため、難聴耳の蝸牛における、聴神経一次ニューロンの病理は、人工内耳治療の適応を考える上で極めて重要となる。一般に、言語獲得後に聾となった症例では、良好な術後成績が得られることが知られているが、なかには期待した程の効果が得られない症例も存在し、難聴耳の一次ニューロンの病理が、量的な側面はもとより、残存神経の電気刺激に対する興奮性などの質的な側面からも解明される必要性がある。

従来、難聴耳の蝸牛神経病理については、残存ニューロンの量的側面に関する検討は多数あり、ヒト側頭骨や内耳障害動物における組織学的研究により、難聴耳の蝸牛においては聴神経一次ニューロンの数に減少が見られることは報告されてきたが、その細胞の機能について検討されることはなかった。

そこで、本プロジェクトでは、難聴モデル動物の単離ラセン神経節細胞を対象に、共焦点レーザー蛍光顕微鏡を用いて、a) 蛍光指示薬を用いた細胞活性、並びに、b) 電気刺激、陽イオン負荷などの脱分極刺激に対する細胞の興奮性の測定、評価を行い、難聴耳における一次ニューロンの機能的病理を細胞工学的を検討、病的蝸牛における、蝸牛神経の機能的病理が解明された。

本研究で細胞工学的に解明された機能的病理に関する知見は、人工内耳治療を、基礎的側面からサポートをするだけでなく、"人工内耳適応耳の残存ニューロンの機能をできるだけ良好に保つにはどうしたら良いか" など、今後の取り組むべき研究テーマへの、極めて重要な基礎的データとなるものであるが、これら成果は文部省科学研究費(基盤C2 課題番号 09671731) に負うところが大きく、本報告として集約した。

研究組織

研究代表者

川瀬哲明 (4 1) (東北大学医学部附属病院・講師)

難聴動物の作成、細胞単離、細胞活性の測定、総括

研究分担者

池田勝久 (4 3) 東北大学医学部・講師

細胞興奮性の測定

橋本 省 (4 7) 東北大学医学部・助教授

細胞の形態学的検討

研究経費

平成9年度 2,000 千円

平成10年度 1,000 千円

計 3,000 千円

研究成果

論文発表

Kawase T, Hidaka H and Takasaka T: Frequency summation observed in the human acoustic reflex. *Hear Res* 108: 37-45, 1997.

Kawase T, Hidaka H, Ikeda K, Hashimoto S and Takasaka T: Acoustic reflex threshold and loudness in patients with unilateral hearing loss. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 255: 7-11, 1998.

Kawase T, Hidaka H, Ogura M and Takasaka T: The acoustic reflex for filtered broadband stimuli - a lesser contribution of the lower frequency neurons - . *Tohoku J Exp Med* 185, 131-137, 1998

Alam SA, Ikeda K, Kawase T, Kikuchi T, Katori Y, Watanabe K and Takasaka T: Acute effects of combined administration of kanamycin and furosemide on the stria vascularis studied by distortion product otoacoustic emission and transmission electron microscopy. *Tohoku J Exp Ed* 186, 79-86, 1998.

Ogura M, Kawase T, Ikeda K, Oshima T, Takasaka T, Furuta S and Takahashi S. Profound hearing loss due to cochlear nerve pathology: diagnosis with combination of OAE and MRI. *Laryngoscope* (in press)

学会発表

Obara Y, Kawase T, Ikeda K and Takasaka T. Cytosolic Ca²⁺ response induced by depolarization in the isolated spiral ganglion cells of the kanamycin-intoxicated guinea-pig. VIIth Korea-Japan joint meeting of Otorhinolaryngology-head and neck surgery: 60, 1998.

ABSTRACT OF RESEARCH PROJECT GRANT-IN-AID
FOR SCIENTIFIC RESEARCH (1998)

1. RESEARCH INSTITUTE NUMBER: 11301
2. RESEARCH INSTITUTE: Tohoku University
3. CATEGORY: Grant-in-Aid for Scientific Research (B) (2)
4. TERM OF PROJECTS (1997~1998)
5. PROJECT NUMBER: 09671731
6. TITLE OF PROJECT: Cell Biotechnology and Molecular Biology of the Isolated Spiral Ganglion Cells in the Ear with Profound Hearing Loss

7. HEAD INVESTIGATOR:

50169728 Tetsuaki Kawase,

Tohoku University School of Medicine, Department of Otolaryngology, Lecturer

8. INVESTIGATOR:

70159614 Katsuhisa Ikeda

Tohoku University School of Medicine, Department of Otolaryngology, Lecturer

20156285 Sho Hashimoto

Tohoku University School of Medicine, Department of Otolaryngology, Associate Professor

9. SUMMARY OF RESEARCH RESULTS:

Intracellular Ca^{2+} plays an important role in the cellular functions of various tissues. In the spiral ganglion cells, neurotransmitter release is known to be dependent on cytosolic Ca^{2+} responses through voltage-dependent Ca^{2+} channels. We examined cytosolic Ca^{2+} responses induced by depolarization in the isolated spiral ganglion cells of the kanamycin-intoxicated guinea-pig to evaluate the activity of the Ca^{2+} channel in pathological conditions.

Albino guinea-pigs (weight 250-250g) received intramuscular injections of 400 mg/kg kanamycin 5 times per week for 3 weeks. Guinea pigs without treatment were used as controls. Control guinea-pigs showed normal ABR responses. On the other hand, kanamycin-intoxicated guinea pigs showed no detectable responses below 65 dB SPL evoked by click. Spiral ganglion cells of the guinea-pig cochlea were mechanically isolated. Dynamic changes in intracellular Ca^{2+} concentration were estimated with Fluo-3/Fura-Red ratiometric method using a LASER-scanning microscope. Activation of the Ca^{2+} channel was obtained by high K^{+} -induced depolarization.

High K^{+} -induced depolarization elevated the cytosolic Ca^{2+} concentration of the ganglion cells. Some of the cells showed oscillatory increases in the cytosolic Ca^{2+} level. Furthermore, the cytosolic Ca^{2+} response induced by depolarization was decreased in damaged spiral ganglion cells compared with that in control cells.

10. KEY WORDS

spiral ganglion, Ca^{2+} , hearing loss, LIVE and DEAD Viability / Cytotoxicity Assay, Fluo-3 and Fura-Red, LASER-scanning microscope

11. REFERENCES

Kawase T, Hidaka H and Takasaka T: Frequency summation observed in the human acoustic reflex. *Hear Res* 108: 37-45, 1997.

Kawase T, Hidaka H, Ikeda K, Hashimoto S and Takasaka T: Acoustic reflex threshold and loudness in patients with unilateral hearing loss. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 255: 7-11, 1998.

Kawase T, Hidaka H, Ogura M and Takasaka T: The acoustic reflex for filtered Broadband stimuli - a lesser contribution of the lower frequency neurons - . *Tohoku J Exp Med* 185, 131-137, 1998

Alam SA, Ikeda K, Kawase T, Kikuchi T, Katori Y, Watanabe K and Takasaka T: Acute effects of combined administration of kanamycin and furosemide on the stria vascularis studied by distortion product otoacoustic emission and transmission electron microscopy. *Tohoku J Exp Ed* 186, 79-86, 1998

Obara Y, Kawase T, Ikeda K and Takasaka T. Cytosolic Ca²⁺ response induced by depolarization in the isolated spiral ganglion cells of the kanamycin-intoxicated guinea-pig. VIIth Korea-Japan joint meeting of Otorhinolaryngology-head and neck surgery: 60, 1998.

Ogura M, Kawase T, Ikeda K, Oshima T, Takasaka T, Furuta S and Takahashi S. Profound hearing loss due to cochlear nerve pathology: diagnosis with combination of OAE and MRI. *Laryngoscope* (in press)

本報告書収録の学術雑誌等発表論文は本ファイルに登録していません。なお、このうち東北大学在籍の研究者の論文で、かつ、出版社等から著作権の許諾が得られた論文は、個別に **TOUR** に登録しております。