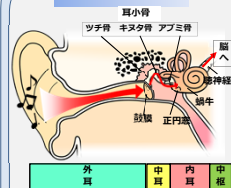


内耳発生メカニズムの解明と再生医療への応用

私たちが音や言葉を聞くとき、耳の奥に存在し「かたつむり」の形をした内耳・蝸牛の機能は欠くことができません。しかし、内耳は一度障害されてしまうと肝臓や皮膚と異なり再生しません。音を奪われた方々に再び音を取り戻していただくために、私たちは内耳が出来上がってくる過程（発生）のメカニズムを解明し、通常再生しない内耳を再生することを目指しています

音を感じる仕組み

外界から脳へ



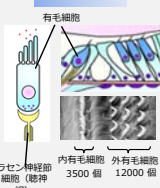
外耳を通して鼓膜に達した音は、中耳の3つの耳小骨を介して**内耳の蝸牛**に伝わります。蝸牛で音の振動は神経の電気信号に変換され、音の情報が聴神経から脳へと伝わり、初めて音として認識されます。

内耳・蝸牛の構造



蝸牛はラセン構造をとった管腔から成り、その中には液体が満ちています。蝸牛の断面を見ると、管腔は3つの空間からなることが分かります。それぞれ、前庭階、中央階、鼓室階と呼ばれていて、このうち中央階に音を神経に伝えるのに最も重要な「**感覚上皮**」が存在します。音が蝸牛内を伝わるとき、鼓室階の中の液体が振動し、基底膜、さらに感覚上皮に歪みが生じます。

有毛細胞



感覚上皮に歪みが生じると、感覚上皮内の「有毛細胞」の「毛」が倒れ細胞が変分極し、神経伝達物質を放出する結果、ラセン神経細胞は活動電位を発生します。

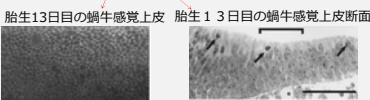
有毛細胞の脆弱性と再生への道筋

内耳障害による疾患の代表**突発性難聴**の罹患者数は日本で年間35000人（100万人あたり275人）と決して稀ではありません。現時点では、有効な治療法はなく、元の聴力に戻る確率が30-40%と聴力予後が不良とされています。一度障害された内耳の有毛細胞は自然には再生されないことがこの原因となっています。一方、自然に再生しない細胞でも、それが生まれ続ける過程である**発生段階**に重要な役割を果たす遺伝子を操作すれば、今話題のIPS細胞などを用いて**再生が可能**になるといわれています（下記、網膜色素細胞のIPS細胞からの誘導参照）。そうすれば、ゆくゆくは突発性難聴などの内耳が障害される難聴の治療が可能になるかもしれません。

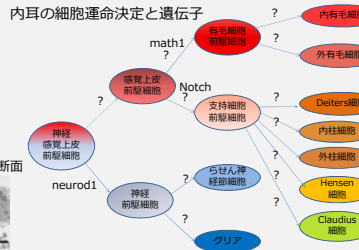
内耳の感覚上皮発生における遺伝子の網羅的な解析の研究について

研究の背景

マウス内耳の発生



マウスでは胎生12日目ごろ（マウスは胎生20日目で出生します）に蝸牛の大きな形が形成され始めます。胎生13日目では、まだ感覚上皮は発生途中であり、構成する細胞の形にはまだ特徴が現れておらず、見かけ上は同じ細胞に見えます。しかし、この時点で個々の細胞はすでに異なった遺伝子を発現している異なった細胞と考えられます。内耳は感覚上皮のなかでも多種類の異なる形の細胞が存在しますが、その元の細胞は1種類です（感覚上皮前駆細胞）。つまり、1種類の細胞から多種類の細胞が生み出される訳ですが（**運命決定**）、



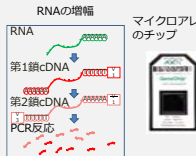
それを司るのがさまざまな**遺伝子**です。しかし、そのような**遺伝子のほとんどは内耳では同定されていません**。このため、IPS細胞などから有毛細胞を作り出す効率も、網膜などの他の臓器に比べて非常に低いのが現状です。そこで、私たちは、まだ個々の細胞の形は同じですが、発現する遺伝子が異なると思われる胎生13日目のマウス蝸牛感覚上皮の1つ1つの細胞に発現する遺伝子を探ることで、感覚上皮の発生に重要な遺伝子を同定したいと考えました。



網膜も内耳と同様通常は**再生しません**。しかし、発生に関わる遺伝子がよく同定されているため、**IPS細胞を用いた再生**の手法が確立され、先ごろ網膜疾患に対する**臨床試験**も開始されました。

研究の方法

- 胎生13日目のマウス蝸牛 感覚上皮採取
- 酵素を用いて**細胞を1つずつ**単離します
- 細胞を1つずつ**採取します
- 細胞を溶かしてRNAを抽出します
- 採取したRNAは少量なのでPCRの原理を用いて増幅します
- サンプルの質を定量的PCRを用いて確認します
- サンプルの遺伝子を**マイクロアレイ**で網羅的に解析します



定量的PCRによるサンプルの質の確認 (66細胞を採取)



感覚上皮細胞に共通して発現するSox2遺伝子およびすべての細胞に発現する遺伝子(ハウスキープ遺伝子)を発現している細胞を確認できました。

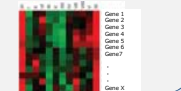
研究の結果

感覚上皮細胞マーカー(Sox2)陽性	ハウスキープ遺伝子陽性の割合	すべてのマーカー遺伝子陽性の割合
18/66	46/66 (69.7%)	16/66 (24.2%)

Sox2およびハウスキープ遺伝子が発現している細胞を16サンプル確保できました。16サンプルに対して、マイクロアレイによる網羅的な解析を行うことで、遺伝子の発現パターンを解析する予定としています。

マイクロアレイの結果 一部のサンプルをマイクロアレイにかけた結果、感覚細胞マーカー陽性細胞において、転写因子に加え、細胞周期や細胞死に関与する遺伝子が複数発現している可能性が示されました。

今後、マイクロアレイで調べるサンプル数を増やして詳しく調べていきます。



喉頭の再生医療

厚労省医療技術実用化総合研究事業

声帯癒痕患者に対するヒト組み換えHGF；肝細胞増殖因子の声帯内投与に関する第I/II相試験-医師主導治験

声のでる仕組み

声は声帯と呼ばれる一対の粘膜が振動することで発生します



医師主導治験

企業ではなく医師が責任者となって行う臨床試験で、今回の医師主導治験では肝細胞増殖因子（新薬）の声帯癒痕に対する効果と安全性を検証します

目的：声帯癒痕(満症を含む)を有する患者を対象として、HGFの声帯粘膜内投与による声帯再生治療に関する安全性を確認するとともに、有効性評価指標および評価時期を探索する。

デザイン：オープン試験

第I/II相試験

対象：声帯癒痕（満を含む）

プロトコル治療：肝細胞増殖因子の薬液を声帯に直接注射します 計4回行い、半年間経過を観察します

声帯癒痕

声帯が外傷を受けておこります 声の酷使、誤用、声帯の手術、放射線治療などに起こります 声帯が硬くなり、振動しなくなるため重度の音声障害をきたします 有効な治療法がありません



肝細胞増殖因子 (HGF)

強力な抗線維作用を有し、肺、腎臓、肝臓などの再生効果が報告されており、 我々は、声帯の粘膜に投与すると、ヒアルロン酸が増え、声帯粘膜の振動が改善することを確認しました

最終目標

今回の治験をもとに、次の段階の治験を行い、薬事承認を目指します

経口的ロボット支援手術

厚労省医療技術実用化総合研究事業

咽喉頭癌に対する経口的ロボット支援手術の安全性・有効性に関する多施設臨床試験

ロボット手術といっても、ロボット（ダビンチ手術システム）が自動的に手術をするわけではありません。これまで口の中から内視鏡を使用していた手術と同様、口の中からダビンチの内視鏡とロボットアームを挿入し、医師が操作ボックスの中で内視鏡画像を見ながら操作して手術を行います。耳鼻咽喉科領域においては、欧米では早期の咽喉がんや喉頭がんの標準治療の一つとして行われてようになってきています。放射線治療に比べて副作用も少なく、治療期間も短縮できると言われています。日本では導入されて間もない治療方法であるため、日本でも安全に行うことができるか？という検証を行うために、日本の中で3大学（京都大学、鳥取大学、東京医科大学）が協力して臨床試験を開始しています。



ダビンチのロボットアームと内視鏡です。 下図のように医師が手術操作を行い、上図のロボットアームを用いて手術を行います。

患者さんの口から内視鏡とロボットアームを挿入しているところです。口から挿入することで、皮膚には切開線は残りません。

どのようなメリットがあるのでしょうか？

- これまでの内視鏡と比較して、細かい手術操作で確実な手術操作を行うことができます。
- 3Dでの立体画像を任意に拡大できるため、より安全な手術を行うことができます。

どのような患者さんが適応になるのでしょうか？

- 早期の咽喉がん、喉頭がんと診断されていること
 - 本臨床試験で同意をいただけること
- (本臨床試験の適応については、最終的には病院で検査を行い決定させていただきます)

詳細は当科ホームページにも掲載しています。

<http://www.kuhp.kyoto-u.ac.jp/~ent/>