

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 15 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592513

研究課題名(和文)閉経期のホルモン環境変化で生じる中枢性聴覚障害に関する研究

研究課題名(英文)Auditory disturbance in menopause

研究代表者

工藤 基(Kudo, Motoi)

滋賀医科大学・医学部・教授

研究者番号：80108141

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：聴覚障害の解明には動物実験による神経科学的研究が必要である。その一方、更年期医学では精神身体的に症状が多様であるため多面的なアプローチが求められる。1)聴覚副経路である、下丘外側核 視蓋前域・中脳網様体投射ニューロン群の中にもGABA陽性ニューロンが存在する。2)下丘背側核、中心灰白質、橋脚被蓋等の下丘周辺領域が皮質下の聴覚中枢であることを新たに見いだした。耳鳴りだけではなく音驚愕反射等に関して重要な機能を担っている。3)マクロ解剖所見から内腸骨動脈が動脈輪を形成している変異例を見いだした。これは骨盤内外科手術のリスク要因と考えられた。4)超音波イメージングの新しい手法を開発した。

研究成果の概要(英文)：Auditory disturbance such as tinnitus involves all auditory pathways from the brainstem to the cortex. In addition to neuroscience, we have engaged in clinical anatomy and medical device development. 1. GABA positive projection neurons were found not only in the main auditory pathway but also in the sub pathways. 2. The dorsal cortex of the inferior colliculus, the central gray and the pedunculo-pontine tegmental nucleus were newly identified as acoustic startle reflex centers. 3. Ring formation of the internal iliac artery was found in our macro-anatomical study. This can be a risk factor in pelvic surgery. 4. A new technique of ultra sound echo was developed for high resolution imaging. Clinical application is expected.

研究分野：神経解剖学

キーワード：下丘 聴覚系 耳鳴り マクロ解剖学 超音波

1. 研究開始当初の背景

(1) 聴覚障害の解明には、神経科学的研究が必要である。更年期障害での様々な症状の中に耳鳴りや異聴症(快音を不快音に感じる事)などの中枢性聴覚障害がある。そこで我々は卵巢を摘出した閉経モデルラットを作製し、聴覚脳でのセロトニンとドーパミンの経時的变化を形態学的に解析する実験を行った。その研究過程で、聴覚中枢の神経回路網に関して、さらに新しい知見に至る可能性がでてきた。聴覚路では、投射ニューロンの中に GABA 陽性のものが存在する。これは視覚系や体性感覚系ではありえないことで、聴覚系にのみ見られる特徴である。そこで GABA 陽性投射ニューロンを含む細胞群を聴覚系のマーカーとすることに着眼した。

(2) 更年期医学では、症状や経過が多様であるため、特定の領域にしばられることなく、多面的にアプローチする必要がある。すなわち複合集学的研究が求められる。ご遺体を用いたマクロ解剖学で、子宮塞栓術などの臨床に役立つ解剖所見を得る可能性があった。また、超音波エコーは日常的に使用されている診断機器となっているので、その改良に資することを旨とした。研究分担者の本間と瀧は、それぞれが得意な分野での実績を有していることから、集学的研究ができる態勢が整っていた。

2. 研究の目的

(1) 神経科学的研究: GABA 陽性投射ニューロンを含む細胞群を聴覚系のマーカーとして、従来、解析が困難であった、下丘周辺領域の聴覚神経回路網を詳細に調べる。2つの聴覚路のうち、内側膝状体から聴覚皮質に向かう主経路については、先行研究が行われている。本研究では、皮質下で完結する副経路について調べた。

(2) マクロ解剖学: 研究分担者の本間が過去16年にわたって400体を超えるご遺体を解剖してきた。研究対象は、脈管系、筋骨格系、末梢神経系、胸部腹部骨盤内臓系と多岐にわたる。本研究では、腹腔内と骨盤内に絞って、臨床に役立つ新所見を得る事をめざした。

(3) 超音波エコー: 研究分担者の瀧が過去10年にわたって、京都大学と共同研究を続けてきた。超音波エコー診断機器の性能向上を目指す。特に、非侵襲、実時間、簡便性にすぐれた技術の開発を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 神経科学的研究: 神経トレーサーと免疫組織化学法を組み合わせた二重蛍光法により GABA 陽性投射ニューロンを同定する。さらにニッスル染色標本で細胞構築を行った下丘を含む中脳断面上に標識細胞群をマッピングする。投射ニューロンに GABA 陽性の

ものが存在することは聴覚系にのみ見られる特徴であるので GABA 陽性投射ニューロンを含む細胞群を聴覚系のマーカーとした。

逆行性神経トレーサーにはコレラトキシンサブユニット B を、GABA 陽性神経細胞の検出には抗 GABA 抗体をもちいた。同一脳組織標本で、前者は赤色、後者は緑色の蛍光がそれぞれ発色されるようにした。

脳定位固定装置を用いて座標を決め、神経トレーサーの注入が聴覚脳幹の副経路に的中する様にした。具体的には、上丘深層、視蓋前域、中脳網様体である。聴覚主経路である内側膝状体腹側部を避けて注入した。

下丘を含む中脳の連続する前頭断面をクレシール紫で染色してニッスル染色標本を作成した。蛍光顕微鏡で観察して得られた二重染色データをニッスル染色像の上にマッピングする。逆行性に標識された神経細胞は、下丘背側核、中心灰白質、脚橋被蓋核等に見られた。これらの領域は、研究者によって異なる名称で命名されていて位置関係に混乱を生じていた。本研究の目的のひとつはその混乱を解消することにある。結果的に中脳と視床の境界領域を再定義することになる。

(2) マクロ解剖学: 滋賀医科大学に献体されたご遺体の解剖所見の中から、腹腔と骨盤内で変異のあるものをマクロ解剖的手法で検索した。動脈分岐変異を示した2例について、立体的な観察と写真撮影を行った。

(3) 超音波エコー: 周波数平均法と適用型信号処理法を超音波エコーに応用してみた。元来、これらは大気レーダーで用いられている技術である。ヒトの頸動脈の描出を想定して、ブタの大腿動脈を生体材料として使用した。

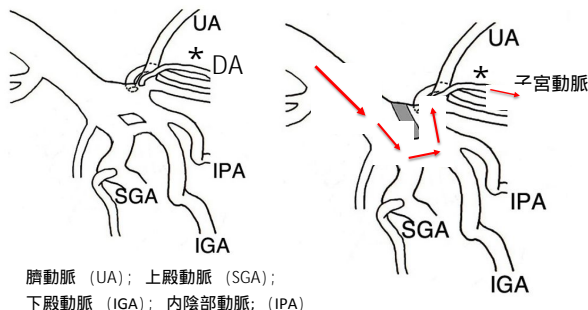
4. 研究成果

(1) 聴覚皮質遠心系はトップダウン形式の情報処理機構に重要である。組み替えシンドビスウイルスを神経トレーサーとして用いた方法で、聴覚皮質遠心線維終末だけをゴルジ様に染める事に成功した。皮質遠心線維終末を下丘中心核、下丘腕核、下丘外側核、上丘深層で観察した。さらに形態データのデジタル処理により作業の効率化と応用を推進する試みをおこなった。日本音響学会聴覚研究会で研究結果を発表した。

(2) 聴覚伝導路は主経路と副経路の2つの独立したシステムから成る。主経路は快音のピッチ知覚に関与するのに対し、副経路はより原始的な聴覚路である。これら2システムがはっきり分かれるのは下丘-内側膝状体レベルである。従来からラットの視蓋前域-中脳網様体(Pt-MRF)を広範囲に損傷すると音驚愕反射が長期にわたって消失することが知られている。我々の先行研究(Kudo等1983)から Pt-MRF は外側核を含む下丘外殻から直

接投射を受ける。下丘外殻から Pt-MRF に投射する経路は、恐怖を覚える音驚愕反射中枢であり、グルタミン酸作動性と言われている (Joudan & Davis 2004)。一方、主経路である中心核から内側膝状体への投射ニューロンは、かなりの数が GABA 作動性であると報告されている。我々は外側核から Pt-MRF への投射に着目しラットを用いて二重蛍光染色を行った。その結果、1)外側核の Pt-MRF 投射ニューロンに GABA 免疫陽性のものが、少数ではあるが、存在した。2)それらの GABA 投射ニューロンは、下丘の外側核と背側核、中心灰白質、脚橋被蓋核等に見られた。3)これらの GABA ニューロンの周辺には、GABA 陰性ニューロンが数多くみられた。それらは、グルタミン酸作動性と推察される。以上の結果を、日本解剖学会と Auditory Research Forum で発表した。

(3) 内腸骨動脈に動脈輪が形成されている極めてまれな変異例を、88 才男性遺体に発見した。内腸骨動脈は anterior trunk (AT) と posterior trunk (PT) とに分かれる。PT からの上殿動脈は神経叢の L5 と S1 の間を通過していた。AT からは臍動脈の起始部で閉鎖動脈、精管動脈、下膀胱動脈が分かれ、下殿動脈は内陰部動脈と共同幹で起始して S2 と S2 の間を通過していた。内陰部動脈は神経叢を貫かない。本例の特徴は、上殿動脈から分かれた交通動脈が存在して、内陰部動脈起始部よりもやや遠位で下殿動脈に接続し、動脈輪が形成されていたことである。すなわち動脈輪は、上方は AT (A 部分)、前方は下殿動脈と内陰部動脈との共同幹 (B)、下方は交通動脈 (C)、後方は PT (D) によって形成される。動脈輪が囲む穴を通過する構造物は認めなかった。Adachi (1928) は内腸骨動脈の分岐様式を上殿動脈、下殿動脈、内陰部動脈の 3 本の起始の仕方に基づいて 5 型に分けている。今回の動脈輪の A 部分が消失したものを考えると Adachi の 3 型、同様に B では 4a 型、C では 1a 型、D では 4b 型に相当する。このような対応から動脈輪は、発生期において内腸骨動脈が完成する直前の動脈形態が遺残したものと推測した。



臍動脈 (UA); 上殿動脈 (SGA);
下殿動脈 (IGA); 内陰部動脈 (IPA)

男性の精管動脈 (DA) は、女性では子宮動脈に相当する。臨床的意義：動脈輪は内腸骨動脈や子宮動脈などへのカテーテル塞栓術で、迂回路となる。この結果を日本解剖学会と

スポンの欧州臨床解剖学会で発表した。欧文論文として、Surg Radiol Anat, 2013 に掲載した。

(4) 周波数領域干渉計法と適応型信号処理法の 1 つである Capon 法を用いた信号処理法を用いた。ブタの大腿動脈を用いて、商用の超音波診断装置 (Hitachi EUB-8500) を用いて撮像して得られた生のデータに本法を適用した。リアルタイムで高分解能の超音波イメージを得る事に成功した。ミュンヘンの欧州循環器学会 Euro Soc Cardiol Congress, 2012 で発表した。欧文論文として 2 編を、IEEE 2013 および 2014 に掲載した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 7 件)

1. 工藤 基、聴覚 A. 感覚の基礎知識 感覚とその異常、Clinical Neuroscience, 33(5) : 507-508, 2015 査読無
2. Taki H, Taki K, Yamakawa M, Shiina T, Kudo M, Sato T : Stabilization Technique for Real-Time High-Resolution Vascular Ultrasound Using Frequency Domain Interferometry. IEEE Xplore, 5085-5088, 2014, 10. DOI: 1109/EMBC.2014.694476 査読有
3. Taki H, Sakamoto H, Taki K, Yamakawa M, Shiina T, Kudo M, Sato T : Real-time high-resolution vascular ultrasound using frequency domain interferometry with the ROI-division process. IEEE EMBS, 1398-1401, 2013, DOI: 10.1109/EMBC.2013.6609771 査読有
4. Honma S, Matsuda W, Kudo M : Right hepatic artery traveling anteriorly to the common bile duct. Anat Sci Int, 88:2 93-96, 2013. DOI: 10.1007/s12565-012-0134-1 査読有
5. Honma S, Aimi Y, Kudo M : Ring formation of the internal iliac artery. Surg Radiol Anat, 35(2) : 169-171, 2013. DOI: 10.1007/s00276-012-1020-1 査読有
6. 瀧 宏文, 阪本卓也, 山川 誠, 椎名 毅, 佐藤 亨, 瀧 公介, 工藤 基 : 周波数領域干渉計法を用いた超音波イメージング法における適切な周波数平均幅、超音波 TECHNO, 25 (1) : 91-94, 2013 査読無
7. Taki H, Taki K, Sakamoto T, Yamakawa M, Shiina T, Kudo M, Sato T: High range resolution ultrasonographic vascular imaging using frequency domain interferometry with the capon method. IEEE Trans Med Imag 31(2):417-429 2012. DOI: 10.1109/TMI.2011.2170847 査読有

〔学会発表〕(計 10 件)

1. Kudo M, Inoguchi F, Kimura T, Taki K: Rostral pole of the inferior colliculus is a distinct entity: morphological evidence in cat, mole and rat. The 37th annual Midwinter Meeting ARO, San Diego, CA, USA 2014
2. Kudo M, Inoguchi F, Taki K, Kimura T, Okano J, Aimi Y, Udagawa J: Parcellation of the inferior colliculus in cat, mole and rat: the rostral pole exists as a separate entity, Auditory Research Forum, Doshisha Biwako Retreat Center, Kitakomatsu, Otsu, Japan 2013 12/14-15
3. 瀧 公介, 井之口 文月, 相見 良成, 木村 智子, 工藤 基: 大脳皮質聴覚関連領野から下丘に至る下行性投射の解析. 第119回日本解剖学会, 自治医科大学 2014 3/27-29
4. Kudo M, Honma S, Aimi Y, Taki K, Udagawa J: Ring formation of the internal iliac artery: a risk for pelvic bleeding control European Joint Congress of Clinical Anatomy 2013 6/26-29 Lisbon, Portugal
5. 井之口 文月, 瀧 公介, 相見良成, 玉川 俊広, 木村 智子, 西村 美紀, 本間 智, 工藤 基: 下丘外側皮質から視蓋前域-中脳網様体への投射. 第 36 回日本神経科学大会 2013 6/20-23, 国立京都国際会館 京都
6. 井之口 文月, 瀧 公介, 木村 智子, 西村 美紀, 玉川 俊広, 本間 智, 松田 和郎, 工藤 基: 聴覚伝導路は2つのシステムからなる: 下丘外側核から視蓋前域 中脳網様体への投射. 第 118 回日本解剖学会, 2013 3/27-29 かがわ国際会議場 高松
7. 本間 智, 井之口 文月, 木村 智子, 西村 美紀, 瀧 公介, 松田 和郎, 岡野 純子, 相見 良成, 宇田川 潤, 工藤 基: 内腸骨動脈における動脈輪形成例. 第 118 回日本解剖学会, 2013 3/27-29 かがわ国際会議場 高松
8. Inoguchi F, Kimura T, Nishimura M, Tamagawa T, Taki K, Kudo M: Dual system of ascending auditory pathways: projection from external nucleus of inferior colliculus to pretectum and midbrain reticular formation. Auditory Research Forum, Doshisha Biwako Retreat Center, Kitakomatsu, Otsu, Japan 2012 12/8
9. Taki H, Sakamoto T, Taki K, Yamakawa M, Shiina T, Kudo M, Sato T: High-resolution vascular ultrasound imaging for accurate measurement of carotid intima-media thickness. Euro Soc Cardiol Congress, 2012 8/25-29 Munich, Germany
10. 瀧 公介, 工藤 基, 相見 良成, 本間 智, 井之口 文月, 木村 智子, 西村 美紀: ラット聴覚脳幹における皮質遠心線維終末のゴルジ様染色像の解析、日本音響学会聴覚研究会、2012 5/25-26 同志社大学田辺キャンパス 京田辺

〔図書〕(計 1 件)

1. 工藤 基, 西村書店、マーテイン神経解剖学テキストとアトラス第4版、分担執筆、第8章 聴覚系、2015、印刷中

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.shiga-med.ac.jp/~hqanat2/kenkyu.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

工藤 基 (Kudo Motoi)

滋賀医科大学・医学部・教授

研究者番号: 80108141

(2) 研究分担者

宇田川 潤 (Udagawa Jun)

滋賀医科大学・医学部・教授

研究者番号: 10284027

松田 和郎 (Matsuda Wakoto)

京都大学・学際融合教育研究推進センタ

ー・講師

研究者番号: 80444446

瀧 公介 (Taki Kousuke)

滋賀医科大学・医学部・助教

研究者番号: 20359772

本間 智 (Honma Satoru)

金沢医科大学・医学部・教授

研究者番号: 40285581

(3) 研究協力者

瀧 宏文 (Taki Hirofumi)

東北大学・工学研究科・助教

研究者番号: 40467460