



Endocochlear potential in focal lesions of the guinea pig cochlea

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-29 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 関, 蓉 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1155

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 302号	学位授与年月日	平成12年 3月27日
氏 名	吴 蓉		
論文題目	Endocochlear potential in focal lesions of the guinea pig cochlea (モルモット蝸牛限局障害における蝸牛内電位)		

博士(医学) 吳 著

論文題目

Endocochlear potential in focal lesions of the guinea pig cochlea

(モルモット蝸牛限局障害における蝸牛内電位)

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

急性感音難聴の原因として内耳循環障害が可能性の高い病態として推定されている。従来、蝸牛血流障害の病態解明のために、動物をつかってさまざまな手法で蝸牛循環障害がつけられてきた。しかし、外科的侵襲や熱の影響などを加えることなく任意の部位に障害をつくることはできなかった。光増感反応を利用しローズベンガル液を静注し、緑色光を血管に照射して血栓を作る方法は、蝸牛の任意の部位に限局性障害を作りうる。この研究では、そうした限局性障害による蝸牛の形態と機能の経時的な変化を検討した。

〔材料ならびに方法〕

体重250gから350gのプライエル反射良好な白色モルモット66匹をもちい、腹腔内ペントバルビタール(35mg/kg)投与による全身麻酔下に筋弛緩剤succinylcholine chloride(15mg/kg)を投与して気管切開し、room airでレスピレータによる呼吸管理をおこなった。中耳骨包を腹側より開放し、頸静脈にカテーテルを留置、2%Rose bengalを頸静脈より注入した直後に、緑色光を直径1mmにしぼって蝸牛第二回転の中央階に10分間照射した。Micromanipulatorを使用して150mM KClを満たしたガラス微小電極を中央階に刺入して蝸牛内電位(endocochlear potential, EP)を測定した。電極からの塩化銀線はアンプ(NIHON KOHDEN, MEZ-8300)に接続、アース電極は頸筋につないだ。8匹のモルモットでは、障害作製にひきつづいてEPを連続して測定した。他の58匹では障害作成後創を一たん閉じ、1時間、1.5時間、2時間、2.5時間、3時間、4時間、3日、1週間、2週間、3週間後にあらためてEPを測定した。すべての動物でEP測定後、走査型電子顕微鏡(SEM) (Hitachi S-800)でラセン器とEP測定部分の観察をおこなった。

〔結果〕

正常の動物のEPは 81.4 ± 0.8 mV。緑色光照射のみあるいはローズベンガル液注入のみのコントロールの動物のEPは 80.1 ± 3.1 mVで正常動物と比べて有意差は認められなかった。照射から1時間まで連続的に測ったEPは、光増感反応障害作成前のEP電位は 84.1 ± 1.2 mV、障害作成後しだいに低下がみられ、25分後には 29.8 ± 5.5 mVとなり、有意なEPの減少が認められた。25分後からEPは次第に回復し、1時間後のEPは 56.3 ± 5.0 mVだった。照射後1時間から4時間のEPは約50mVだったが、3日後のEPはさらに下がり 21.7 ± 2.3 mVと最低値を記録した。1週間後のEPは 32.6 ± 2.0 mV、2週間後は 69.7 ± 4.6 mV(うち6匹ではEPが80mVを越えていた)、3週間後のEPは 68.1 ± 5.1 mVで、2週間後、3週間後のEPはコントロール群と比べて有意差は認められなかった。いずれの測定においても安定したEPを記録したあと、レスピータを2分間以上止めて、anoxiaを負荷し、全例でマイナスEPを記録した。その低下や回復のパターンは時期により若干異なり病態の差異を示唆しているが、今後検討を必要とすると思われる。コントロールの走査電顕像は、蝸牛には全く変化はみられなかった。照射後1時間から4時間までのSEM像は、血管条辺縁細胞

の変性、崩壊が強くみられたが、ラセン器にはまだ変化がみられなかった。照射後3日は、血管条と有毛細胞にひどい限局障害がみられた。照射後1週間、2週間、3週間の走査電顕像は、血管条の障害部位は癒痕化し、それに対応するラセン器の外有毛細胞、内有毛細胞は完全に消失していた。全例でガラス電極の刺さっていた部位を確認した。

〔結論ならびに考察〕

光増感反応による限局障害のため、EPは障害部位で低下したが、その最低値は0になることはなかった。前下小脳動脈の閉塞実験により蝸牛全体の血流低下が生じた場合、2～3分以内に -28.5mV から -67.5mV にまでEPが急激に減少するのに対し、限局した範囲の蝸牛血流障害ではEPの減少程度は軽く、緩やかに低下してゆく特徴が認められた。障害は確実に起こっているにもかかわらず、2週間でほぼ正常にもどることを考えると、直径1mm程度の限局障害では周囲健康組織からの K^+ イオンや酸素の補給等、代償がおこることが推定された。障害作成後3日目でEPは最低値を示したが、有毛細胞を含むラセン器の変化がこの時期に一致して起こることと何らかの関係があるのではないかと思われた。また、作成した障害範囲は3週間後でも拡大や縮小の傾向はなく、限局したままであることがわかった。限局性の循環障害によって、ヒトで難聴がおこったという明確な報告はないようであるが、内耳循環障害を考える上で、限局障害をつくりEPの変化を知ることは重要であると思われた。

論文審査の結果の要旨

突発性難聴の原因はまだ不明で、内耳循環障害とウイルス感染説が可能性の高い原因として推定されている。循環障害では血管条の循環障害がもっとも疑わしいと考えられている。蝸牛血流障害の病態解明のために、動物を使ってさまざまな手法で蝸牛循環障害がつけられてきた。しかし、外科的侵襲や熱の影響などを加えることなく任意の部位に障害をつくることはできなかった。一方、光増感反応では発生する活性酸素が血栓形成や細胞障害を来すので、光を絞れば、蝸牛の任意の部位に限局性障害を作りうる。そうした限局性障害による蝸牛の形態と機能の経時的な変化を詳細に検討した報告はない。

そこで申請者はプライエル反射良好な白色モルモットに、2% Rose bengalを頸静脈より注入した直後に、波長540nmの緑色光を直径1mmに絞って蝸牛第二回転に10分間照射した。8匹のモルモットでは、障害作製にひきついて蝸牛内電位(endocochlear potential, EP)を連続して測定した。他の58匹では障害作成後、1～4時間、3日、1週間、2週間、3週間後にEPを測定した。標本について光学顕微鏡と走査型電子顕微鏡(SEM)と透過型電子顕微鏡(TEM)で観察した。得られた主な結果は以下のとおりである。

- 1) 照射から1時間まで連続的に測定すると、障害前84mVのEPは障害後5分から徐々に低下し、25分には30mVとなった。それから徐々に回復して1時間後には56mVになり、有意なEPの減少が認められた。
- 2) 照射後1時間から4時間のEPは約50mVだったが、3日後のEPはさらに下がり22mVと最低値を記録し、有意なEPの減少が認められた。1週間後のEPはかなり回復し、2週間後、3週間後のEPはコントロール群と比べ有意差がなくなるまでに回復した。
- 3) 照射後1時間から4時間までのSEM像は、血管条辺縁細胞の変性、崩壊が強くみられたが、ラセン器にはまだ変化がみられなかった。
- 4) 照射後3日では、血管条の著明な崩壊に加えて、有毛細胞にひどい限局障害がみられた。
- 5) 1週間後、障害部位の血管条では上皮細胞の脱落が進み、変形した血管がみえた。それに対応する

有毛細胞は消失していた。

- 6) 2週間後、3週間後のSEM像は、血管条の障害部位は扁平な一層の細胞により修復され、それに対応するラセン器の外有毛細胞、内有毛細胞は完全に消失していた。
- 7) 照射部位から1mm離れた部位のTEM像では、照射後2時間、3日目の血管条の3種類の上皮細胞(辺縁細胞、中間細胞、基底細胞)にいずれも変化はみられなかった。

以上の結果より、申請者は次のように考察した。

- 1) 直径1mm程度の限局障害では、組織の変化は分節状に残るが、EPが2週間で回復することから、周囲健全組織からのK⁺イオンや酸素の補給等、代償がおこることが推定された。
- 2) 組織障害は確実に残っていても、EP値がもとの値に回復するというのは、組織障害があっても、reversibleな機能が蝸牛にあることを示し、可逆性のある難聴を考える上で面白い所見と思われる。
- 3) 2週間で回復する突発性難聴の症例がかなりある。申請者が測定した血管条障害動物のEPの回復が2週間であったことから、このような突発性難聴の原因は血管条の血流障害の可能性を考えさせる。

本論文内容の説明の後、論文内容と関連の深い以下の点について申請者と間に質疑応答がなされた。

- 1) 急性血管条難聴はどう定義されるか
- 2) 一重項酸素が血管内皮傷害を引き起こす過程
- 3) 蝸牛の中央階を光照射実験に選んだ理由
- 4) 蝸牛でのprimary batteryとはなにか
- 5) 標本作製時のsurface preparationとはなにか
- 6) この実験での血管条の初期変化はなにか
- 7) 照射部位でない有毛細胞が何故時間を経て傷害を受けるのか
- 8) 血管条の修復細胞はなにか
- 9) この実験での傷害で蝸牛内電位(EP)が一度回復して再度減少する理由
- 10) 内リンパ循環障害とライスネル膜の位置の関係
- 11) 血管条は全身の循環とはどのように関係するか
- 12) この実験で光照射により蝸牛内の温度が上昇する可能性

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 平 光 忠 久

副査 梅 村 和 夫 副査 三 浦 克 敏