



Pattern of cochlear damage caused by short-term kanamycin application using the round window micro catheter method

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2013-08-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 橋本, 泰幸 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/335

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 478号	学位授与年月日	平成19年 3月14日
氏 名	橋 本 泰 幸		
論文題目	<p>Pattern of cochlear damage caused by short-term kanamycin application using the round window micro catheter method (正円窓経由マイクロカテーテル薬剤注入法を用いた短時間カナマイシン投与による蝸牛障害の様式)</p>		

博士(医学) 橋 本 泰 幸

論文題目

Pattern of cochlear damage caused by short-term kanamycin application using the round window micro catheter method

(正円窓経由マイクロカテーテル薬剤注入法を用いた短時間カナマイシン投与による蝸牛障害の様式)

論文の内容の要旨

〔目的〕

カテーテル法は、濃度、投与時間を変えることで有毛細胞への薬剤の影響をコントロールする drug delivery system として利用でき、少量高濃度の薬剤を局所へ注入することにより、短時間に薬剤障害モデルを作成できる。今回我々は、正円窓を経由してマイクロカテーテルより短時間でカナマイシンを蝸牛に投与し、モルモットの蝸牛聴毛の消失を観察し、カテーテル法の効果と蝸牛障害の様式を検討した。

〔方法〕

体重300 g～400 gの白色モルモット(雄)30匹を用いた。全身麻酔を行い、腹側より中耳骨胞に達し、IntraEAR Animal Round Window Micro Catheter®(Alzet社)を正円窓窩に留置しポンプを接続した。明視下に異なる濃度のカナマイシン(345 mg/ml, 172.5 mg/ml)を0.1 ml/hrの速度で1時間、および2時間の持続注入を行った。対照として生理食塩水を用いた。薬剤投与4日後に断頭し中耳骨胞を摘出、2%グルタルアルデヒドを蝸牛内に灌流注入し固定を行った。脱灰後にエタノール脱水を行った後にセロイジンに包埋して、150 μ mの厚さに切片を作成し、走査型電子顕微鏡(SEM)で形態を観察した。障害の評価は蝸牛を90度ごと8箇所部位にわけ、基底回転、第2回転の外有毛細胞の聴毛消失率を比較した。

聴性脳幹反応(ABR)を、薬剤投与前と、断頭直前に聴力機能を評価する目的で行った。ペントバルビタールを注射後、電氣的にシールドされ、2重壁で防音した部屋で測定した。

〔結果〕

対照とした生理食塩水においては、基底回転、第2回転ともに外有毛細胞に障害は認められなかった。低濃度(172.5 mg/ml)1時間投与では基底回転における消失率は42.8%、第2回転の消失率は1.1%であり、両部位をあわせた消失率は22.0%であった。基底回転の正円窓部(0°領域)では聴毛はほぼ消失しており、障害の程度は正円窓を離れるにつれ、急速に軽くなる傾向を示した。低濃度2時間投与では基底回転から第2回転の広い範囲において聴毛の消失が認められた。正円窓を離れるにつれ、障害の程度は徐々に軽くなる傾向を示した。基底回転における消失率は81.5%、第2回転の消失率は36.0%であった。両部位をあわせた消失率は58.7%であった。高濃度(345 mg/ml)1時間投与では、基底回転における消失率は89.2%、第2回転の消失率は26.8%であった。両部位をあわせた消失率は58.0%であった。基底回転において高度の聴毛の消失が認められたが、第2回転にはいると、障害の程度は急激に軽快し270°の部位では消失は認められなかった。障害部位と非障害部位の境界は比較的明瞭であった。高濃度2時間投与では、基底回転、第2回転で、すべての聴毛が消失していた。

ABRは、生理食塩水群で、約5 dBの閾値低下が認められた。低濃度1時間投与では約15 dBの閾値低下が、低濃度2時間投与では約40 dBの閾値低下が認められた。高濃度1時間投与では約35 dBの閾値低下が

下が認められ、高濃度 2 時間投与では 100 dB においても V 波の反応は認められなかった。

〔考察〕

これまで蝸牛への薬剤局所投与は、様々な方法が試みられてきた。鼓膜を経由し盲目的に中耳腔へ薬剤を注入する方法や、蝸牛骨胞を削開して、正円窓窩にゼルフォームを留置し薬剤を浸すなどの方法が行われていた。それらは薬剤の耳管を経由した嚥下や、浸出液による希釈といった問題から、安定した薬剤濃度を保つことが困難であった。しかし、マイクロカテーテル法では、カテーテル先端より持続的に薬液が放出されるため、薬液濃度を保つことができ、薬液を変えることや、カテーテルの設置、除去が低侵襲にできる。

今回の検討では、カテーテル法により、異なる濃度、投与時間を用いることで効果の差が出るのが判明した。異なる濃度の薬剤を同じ時間投与した場合、高濃度の薬剤は広範囲の有毛細胞の障害を起こし、同じ濃度の薬剤を異なる時間投与した場合、広範囲において、より高度の障害を起こした。投与する薬剤の濃度と時間が、蝸牛への効果に影響すると考えられた。高濃度 2 時間投与において聴毛は完全に消失した。また、短時間に少量の薬剤でも効果を起こすことができることを示した。全身投与で同様の効果を起こそうとした場合、カナマイシンの腹腔内に 267 mg/kg を 21 日間投与することで聴毛は完全に破壊され、178 mg/kg では、対照と比較しても全く変化が認められなかったとする報告もある。我々の検討では、局所投与と比較し、総投与量で 30 分の 1、投与期間も 21 日に対し、2 時間で同様の障害を起こすことができた。同様の薬剤効果を期待する場合、局所投与は少ない投与量で効果を発揮することから、標的外の臓器への影響を減らし、副作用を軽減できると考えられた。

ABR による機能評価から、生理食塩水における聴力の低下は、蝸牛骨包の開放による滲出液の貯留によるものと考えられた。低濃度 2 時間投与モデルと、高濃度 1 時間投与モデルの間に聴力の有意な差は認められなかった。高濃度 2 時間投与では、ABR は 100 dB まで反応がなく、聾となっているものと考えられた。これらは SEM の所見に矛盾しなかった。

〔結論〕

マイクロカテーテル法は低侵襲であり、必要な量を必要な時間にわたり目的臓器へ正確に投与できる。マイクロカテーテルを用いて短期間に蝸牛に薬剤を投与する方法は、薬剤の濃度と投与時間を変えることで、蝸牛への薬剤の影響を調節できると考えられた。

論文審査の結果の要旨

カテーテル法は、濃度、投与時間を変えることで内耳有毛細胞への薬物の影響をコントロールする drug delivery system として利用でき、少量高濃度の薬物を局所へ注入することにより、短時間に薬物による障害モデルを作成できる。そこで、申請者は、正円窓を経由してマイクロカテーテルより短時間でカナマイシンを蝸牛に投与し、モルモットの蝸牛聴毛の消失を観察することにより、蝸牛障害の様式と内耳治療に向けたカテーテル法の有用性を検討した。

体重 300 g～400 g の白色モルモット (雄) を用いた。全身麻酔を行い、腹側より中耳骨胞に達し、IntraEAR Animal Round Window Micro Catheter® (Alzet 社) を正円窓窩に留置しポンプを接続した。異なる濃度のカナマイシン (345 mg/ml、172.5 mg/ml) を 0.1 ml/hr の速度で 1 時間、および 2 時間の持続注入をした。対照

として生理食塩水を用いた。薬物投与4日後に断頭し中耳骨胞を摘出し、2%グルタルアルデヒドを蝸牛内に灌流注入し固定した。脱灰およびエタノール脱水を行った後にセロイジンに包埋して、150 μm の厚さに切片を作成し、走査型電子顕微鏡(SEM)で形態を観察した。障害の評価は蝸牛を90度ごと8箇所部位にわけ、基底回転、第2回転の外有毛細胞の聴毛消失率を比較した。

聴性脳幹反応(ABR)を、薬物投与前と、断頭直前に聴力機能を評価する目的で行い、以下の結果を得た。

対照においては、基底回転、第2回転ともに外有毛細胞に障害は認められなかった。172.5 mg/ml、1時間投与では基底回転における消失率は42.8%、第2回転の消失率は1.1%であり、両部位をあわせた消失率は22.0%であった。同濃度、2時間投与では基底回転から第2回転の広い範囲において聴毛の消失が認められた。基底回転における消失率は81.5%、第2回転の消失率は36.0%であった。両部位をあわせた消失率は58.7%であった。345 mg/ml、1時間投与では、基底回転における消失率は89.2%、第2回転の消失率は26.8%であった。両部位をあわせた消失率は58.0%であった。同濃度、2時間投与では、基底回転、第2回転で、すべての聴毛が消失していた。

ABRは、対照群で、約5 dBの閾値低下が認められた。172.5 mg/ml、1時間および2時間投与では約15 dBおよび約40 dBの閾値低下が認められた。345 mg/ml、1時間投与では約35 dBの閾値低下が認められ、同濃度、2時間投与では100 dBにおいても反応は認められなかった。

以上の結果から、申請者はカテーテル法により内耳局所に短時間に薬物を分布させることができることを示し、内耳薬物治療の新規投与方法の確立に向けた基礎的研究と位置づけられ、審査委員会ではそれを高く評価した。しかし、薬物治療においては、薬物濃度のコントロールが重要であるが、内耳局所の薬物濃度調節や薬物の到達距離のコントロールには、未解決の部分があり、今後の検討が必要と思われた。

審査の過程において、審査委員会は次のような質問を行った。

- 1) 聴覚反応閾値について
- 2) ABRを用いて評価した理由について
- 3) ABRを4日後に実施した理由について
- 4) 周波数弁別について
- 5) モルモットを用いた理由について
- 6) 外リンパ液の蝸牛内動態について
- 7) カナマイシンの投与量の根拠について
- 8) 局所薬物濃度の調節方法について
- 9) 投与を繰り返し行うことは可能か
- 10) 有毛細胞の障害の評価について
- 11) 有毛細胞の障害と投与量、投与時間との関係について
- 12) 障害部位の特異性について
- 13) 有毛細胞への影響について
- 14) 局所投与法の臨床応用について

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	梅	村	和	夫	
	副査	難	波	宏	樹	副査 山 本 龍 夫