



An animal model for hearing disturbance due to inner ear ischemia: photochemically induced thrombotic occlusion of the rat anterior inferior cerebellar artery

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 浅井, 美洋 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1018

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 165号	学位授与年月日	平成 6年 3月25日
氏名	浅井美洋		
論文題目	An animal model for hearing disturbance due to inner ear ischemia : photochemically induced thrombotic occlusion of the rat anterior inferior cerebellar artery (光増感反応によるラット前下小脳動脈血栓誘導難聴モデル)		

医学博士 浅井美洋
論文題目

An animal model for hearing disturbance due to inner ear ischemia : photochemically induced thrombotic occlusion of the rat anterior inferior cerebellar artery

(光増感反応によるラット前下小脳動脈血栓誘導難聴モデル)

論文の内容の要旨

突発難聴の病態には未だ不明な点が多いが、血栓による循環障害もその原因の一つと考えられている。しかし、実験的にも内耳もしくはその栄養血管に血栓を作成することは容易でなく、神経耳科領域での血栓症研究は進みにくかった。今回我々は光増感反応を利用してラットの前下小脳動脈（以下、AICA と略す。）に選択的に壁在血栓を誘導し、中枢側栄養血管の循環障害による難聴モデルの開発に成功した。さらにこのモデルを用いて局所的内耳急性虚血と内耳機能との関係について検討した。

〔方法〕 Wistar 系雄性ラット（11週齢、体重230～250g）計62頭を用いた。ペントバルビタール腹腔内投与による全身麻酔を施した後、右大腿静脈に薬物注入用カテーテルを、左大腿動脈に全身血圧測定用カテーテルを各々留置した。気管切開により気道を確保し、人工呼吸器下に置いた。咽喉頭摘出後に頭蓋底及び左中耳骨胞を明視下に置き、中耳骨胞を開放した。さらに硬膜を損傷しないように頭蓋底に直径約2mmの小孔を設け、左側 AICA を明視下に置いた。蝸牛外側壁にレーザードップラープローベを密着固定し、正円窓に蝸电图記録用関電極を留置した。キセノンランプを光源とした緑色光（波長ピーク450nm）を直径約1mmに集光して AICA への照射を開始した。照度は約6500～7500ルクスで、熱吸収フィルターを通して熱の影響を除外した。右大腿静脈より Rose Bengal (20mg/kg体重) を約10秒間で注入した。AICA 血栓を誘導したラット35頭において、蝸牛血流量を連続的にモニターしながら、1分毎に蝸电图を測定した。この際、内耳虚血急性期（蝸牛血流低下から約10分間）における複合活動電位（CAP）残存の有無と蝸牛の残留血流量を観察した。音刺激として周波数8000HZ、刺激音圧100dBSPL、刺激持続時間0.2ms、刺激感覚75msの半正弦波音を ear phone を通して加えた。蝸电图は128回平均加算して記録した。また Rose Bengal 注入5分前に対象群、薬物投与群にそれぞれ生理食塩水、ヘパリン水溶液（50U/kg、300U/kg）を経静脈的に単回投与し、AICA が血栓性の完全閉塞に至るまでの時間を測定した。

〔結果〕 AICA における壁在血栓誘導の再現性は良好で、光学的には AICA 内腔は白色血栓により完全閉塞していた。走査電子顕微鏡所見では照射部位の血管内腔に血小板及びフィブリンからなる壁在血栓が存在していた。35頭中19頭の CAP が虚血急性期に完全消失したが、残り16頭では消失しなかった。前値を100%とすると、蝸牛血流量の26.7%から42.9%のレベルが内耳虚血急性期の CAP残存にとって境界域となっていた。ヘパリン前投与により用量依存的に AICA 完全閉塞までの時間が延長された ($P < 0.01$, Kruskal-Wallis 検定)。

〔結論〕 ①本モデルは血栓症による内耳循環障害の薬理学的検討にも応用可能であり、突発難聴に対する治療薬の開発にも役立つと思われる。②内耳虚血急性期における蝸牛機能にとって蝸牛血流量の26.7～42.9%（前値を100%）という範囲が極めて重要であることが示された。③内耳循環障害による極めて高度の急性感音難聴が不完全の虚血でも起こり得ること、逆に蝸牛血流量が急激に減少しても、ある境界レベルを下回らなければ蝸牛機能はある程度保たれることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

突発性難聴の原因の一つに内耳の循環障害が考えられている。従来の実験動物モデルでは内耳への栄養血管を結紮して循環障害が作成されていたので治療への研究には結びついていなかった。そこで申請者は、Wistar系雄性ラットを用いて、内耳への栄養血管を出す前下小脳動脈（AICA）に450nm波長の緑色光を照射しつつローズベンガル（20mg/kg）を10秒間で静脈注射したところ、AICAに選択的に壁在血栓を誘導（PIT=photochemically induced thrombosis）し、中枢側栄養血管の循環障害による難聴モデルの作成に成功した。蝸牛外側壁にレーザードップラープローベを密着固定して蝸牛血流を連続モニターしながら1分間に蝸電図による複合活動電位（CAP）を記録し、次の如き興味ある知見を得た。

- 1) AICAにおける壁在血栓誘導の再現性は良好で、AICA内腔は白色血栓により完全に閉塞していた。
- 2) 虚血急性期のCAPは、35頭中19頭で完全に消失したが、16頭では消失しなかった。
- 3) 蝸牛血流量の前値の27～43%が内耳虚血急性期のCAP残存にとって境界域となっていた。
- 4) ヘパリン前投与は用量依存的にAICA完全閉塞までの時間を延長した。
- 5) 内耳循環障害による極めて高度の急性感音難聴が不完全虚血でも起こり得る一方、蝸牛血流が急激に減少しても、ある境界域を下回らなければ蝸牛機能はある程度保たれることが示唆された。
- 6) 本モデルは血栓症による内耳循環障害の薬理的検討にも応用可能で、突発難聴の治療薬の開発にも役立つと思われる。

〔本論文の評価〕

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の間に質疑応答がなされた。

- 1) 循環障害の可逆性の理由
- 2) PITの静脈への影響
- 3) ローズベンガルの心臓への影響とその機序
- 4) ローズベンガルの作用機序
- 5) 可逆性の限界
- 6) 内耳の組織像
- 7) 光照射後の血管内腔の経時的電顕的变化
- 8) 実験結果のバラツキの理由
- 9) 不完全回復の機序
- 10) 再灌流後の機能回復と組織変化

以上の質問に対する申請者の回答は適切であり、問題点も充分理解しており、本論文は博士（医学）の学位を授与するに十分な内容であると全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	植村 研一			
	副査	教授	野末 道彦	副査	教授	原田 幸雄
	副査	助教授	浦野 哲盟	副査	助教授	小林 明