

学 位 論 文 の 要 約 (研 究 成 果 の ま と め)

氏 名 小川 日出夫

学位論文名 内耳虚血・再灌流障害に対する水素含有生理食塩水の保護効果

学位論文の要約

[はじめに] 突発性難聴は原因不明の急性感音難聴であるが、内耳循環障害説が最も有力視されている。日本では年間に 10 万人当たり 60 人程度が発症する。我々はスナネズミを用いた一過性内耳虚血の動物モデルを作製し(Neurosci Lett. 230:69-71, 1997)、蝸牛の虚血・再灌流障害の機序を解明してきた。このモデルにおいて、一過性内耳虚血により急性感音難聴は、より高い周波数で誘発されること、内有毛細胞が外有毛細胞に比べ有意に障害されること(J Comp Neurol. 418:217-26, 2000)、その障害は虚血後から 7 日目まで徐々に進行していくこと(Neuroreport. 13:2459-62, 2002)などの障害機序を明らかにしてきた。

一方、2007 年に水素分子 (H_2) が毒性の高い活性酸素種/ラジカルを選択的に還元する抗酸化物質として、酸化ストレスから細胞を保護し、脳の虚血・再灌流障害を抑制することが報告された(Ohsawa et al. Nature Medicine 13:688-694, 2007)。この報告によると水素分子は in vitro においてスーパーオキシド、過酸化水素、一酸化窒素等の活性の低い安定な活性酸素種/ラジカルとは反応せず、最も細胞障害性の高いヒドロキシラジカル ($\cdot OH$) 等の活性酸素種/ラジカルを還元することにより、酸化ストレスから細胞を防御することが報告されている。耳科領域では内耳虚血、薬剤性難聴、音響外傷などにおいて活性酸素種/ラジカルの関与が知られている。近年、動物実験モデルにおいて、水素ガス吸入により有毛細胞の障害を抑制し、騒音性難聴が予防されること(Neurosci Research. 89: 69-74, 2014)、水素水の飲用により騒音暴露による難聴を抑制すること(Neurosci Lett. 487:12-16, 2011)などが報告されている。本研究では一過性内耳虚血モデルを用い、水素含有生理食塩水の静脈内投与による内耳保護効果を検討した。

[対象および方法] 実験にはスナネズミの一過性内耳虚血モデルを用い、1) 非虚血 - 生理食塩水投与群、2) 非虚血 - 水素含有生理食塩水投与群、3) 虚血 - 生理食塩水投与群、4) 虚血 - 水素含有生理食塩水投与群の 4 群 (各群 n = 6) に分けて行った。虚血群には 15 分間の内耳虚血を行い、再灌流 10 分後に大腿静脈から水素含有生理食塩水または生理食塩水を 5ml/kg 投与した。水素含有生理食塩水は、MiZ 株式会社より提供された製剤を使用した。

この点滴バッグ中は1.3~1.5 ppm (mg/l) の高濃度の水素分子を無菌的に含有している。内耳虚血・再灌流障害抑制効果の生理学的検討として、聴性脳幹反応 (ABR) により聴力閾値を測定した。周波数は、聴覚障害を受けやすい高音域に相当する 8kHz、16kHz、32kHz で聴力閾値測定を行った。ABR は day0、1、4、7 に評価した。

内耳虚血・再灌流障害抑制効果の組織学的検討では、実験 7 日後の ABR 閾値測定後に蝸牛骨包を摘出。surface preparation 法にてコルチ器を採取し、Rhodamine-Phalloidin、Hoechst 33342 にて二重染色を行い、有毛細胞の脱落割合を検討した。

[結果] 1) ABR 閾値変化

虚血 - 生理食塩水投与群において ABR 閾値は、より高い周波数 (8kHz : 24.2 ± 3.8 dB、16kHz : 25.0 ± 4.7 dB、32kHz : 29.2 ± 3.0 dB) で、1 日目に最も上昇した。その後、閾値上昇は徐々に軽減したが、7 日間持続した。虚血 - 水素含有生理食塩水投与群では、1 日目の ABR 閾値上昇は 3 つの周波数 (8kHz : 11.7 ± 2.6 dB、16kHz : 13.3 ± 3.1 dB、32kHz : 15.0 ± 2.7 dB) で有意に抑制された。

2) 組織学的所見と内毛細胞の脱落割合

虚血 - 生理食塩水投与群において、内毛細胞の散発的な脱落がみられたが、水素含有生理食塩水投与群では、その脱落は抑制された。細胞の脱落は外毛細胞より内毛細胞で顕著であった。内毛細胞の脱落割合は、虚血 - 生理食塩水投与群 $14.1\% \pm 1.8\%$ 、虚血 - 水素含有生理食塩水投与群 $7.5 \pm 2.1\%$ であり、内毛細胞の脱落が有意に抑制された。

[結論] 内耳の虚血・再灌流後に、水素含有生理食塩水を静脈内投与することにより、虚血・再灌流障害に起因する聴力障害および有毛細胞の損傷が有意に抑制された。本研究により、水素分子が突発性難聴の新しい有効な治療の一つとなり得ることが示された。

なお、この学位論文の内容は、以下の原著論文に既に公表済である。

主論文 : Hideo Ogawa, Masahiro Okada, Masachika Shudou, Kiyofumi Gyo, Naohito Hato: Prevention of ischemia-induced hearing loss by intravenous administration of hydrogen-rich saline in gerbil. *Neuroscience letters* 665:195-199, 2018 DOI: 10.1016/j.neulet.2017.12.013