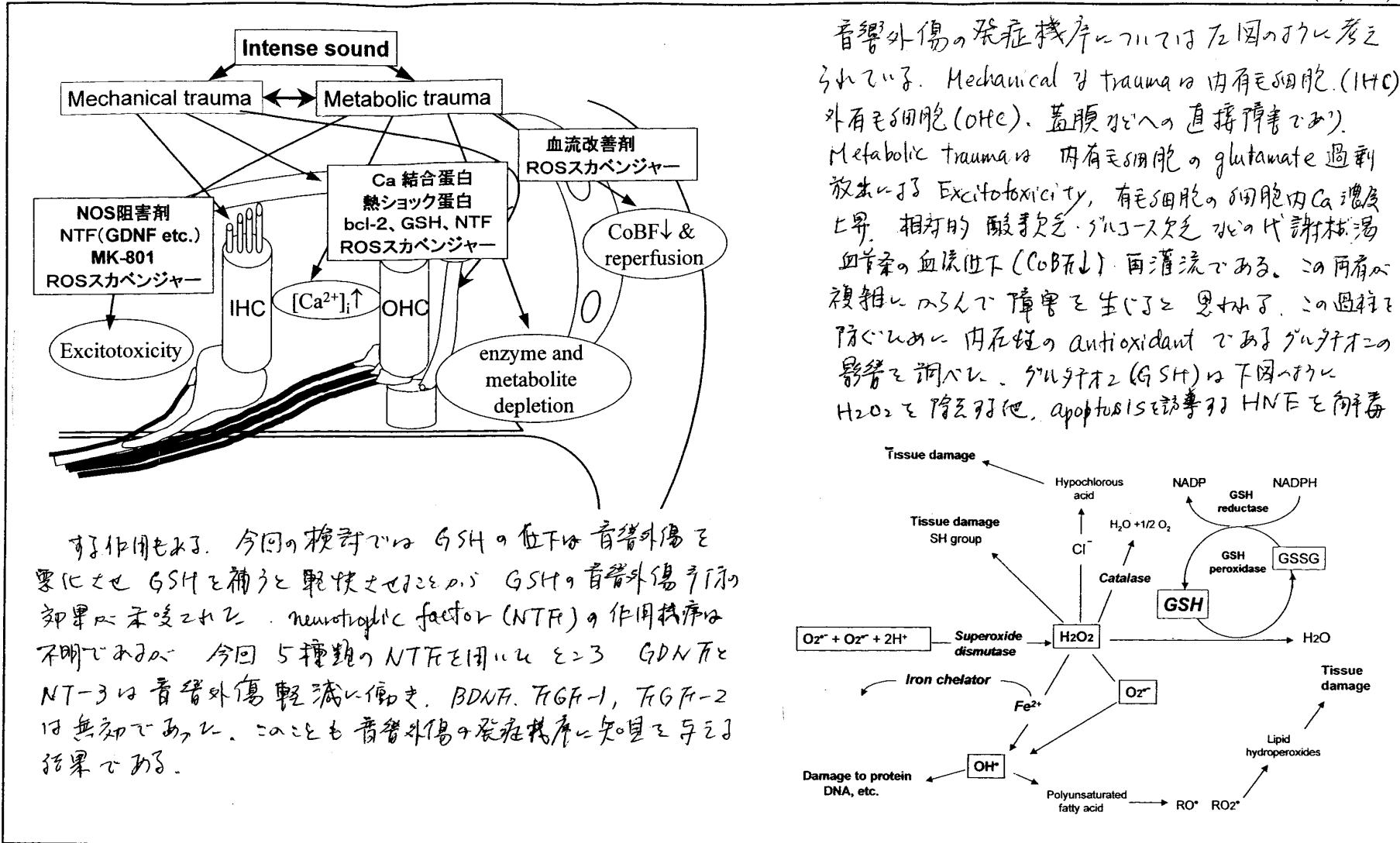


研究題目	音響外傷の発症機序の研究と予防法の開発	報告書作成者	小姐 達也
研究従事者	小姐 達也, 鈴木 光也		
研究目的	<p>強大音曝露により難聴が生じることはよく知られているが、その発症機序は明らかではない。一般にその原因として mechanical の damage と metabolic の damage があり、その両者が関わりあ、て障害を生じるとされる。 metabolic の damage の中には、蝸牛の血流障害による虚血、 metabolic の overdrive による細胞内の低糖状態・相対的酸素欠乏、細胞内 Ca 濃度の上昇などがあると考えられており、これらによる free radical の産生が重要視されている。我々はこれらに内在性の antioxidant である グルタチオンが強大音曝露により消費され、合成能が元通りになると、グルタチオンの up-down regulation により蝸牛の易受傷性が変化することを示した。今回はこの結果を確認するため、グルタチオンの細胞内量と酪氨酸を細胞内濃度として減少させ、グルタチオンを投与して増加させたことを行い、音響に対する易受傷性の変化を調べた。又 metabolic の damage の予防機能としては酪氨酸の生理学的 neurotrophic factor の関与が提唱されている。他の神経系でも種々の neurotrophic factor が障害予防に有効であると報告されており、蝸牛に直接種々の neurotrophic factor を投与することによって、その予防効果について検討する。最後に蝸牛の代謝状態の変化による音響外傷への受傷性の変化について調べる。ミトコンドリア DNA 異常症例に難聴が多く発症し、動物実験で ATP 合成能低下により P53/配糖体への感受性の増進などが知られている。音響障害の影響についても検討するため、ミトコンドリア機能異常モデル動物を作製することとした。我々のモเดลを音響外傷の実験に用いており、これらラットのモデルを元にミトコンドリア機能異常を来たした報告があるため、モเดลにグルタチオンを与えた。</p>		

研究内容

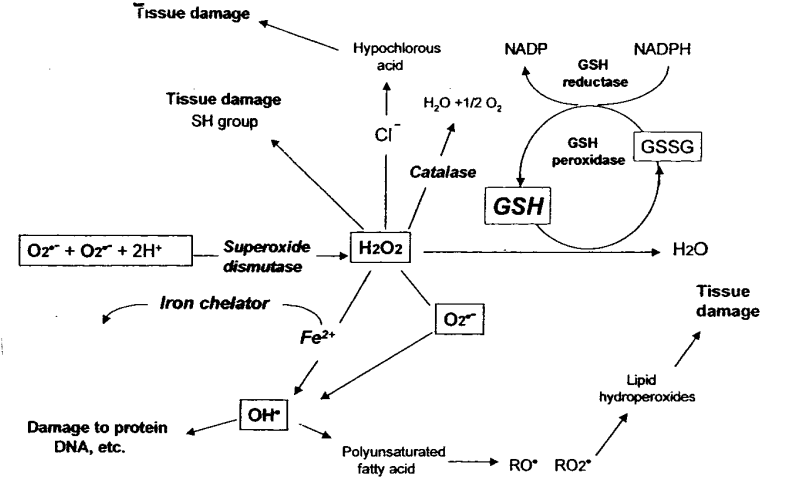
- 1) グルタミンの up- & down-regulation による音響外傷への効果
位置自食をモルモットに 1 週間以上与え、その間に蝸牛内のグルタミン濃度を半減すると以前報告した。このモルモットと通常食のモルモットを強大音響 (115dB SPL, 4kHz octaveband noise 5 時間) に曝露し、音響外傷の程度を調べ (聴力は Auditory Brain Stem Response, 有毛細胞障害は surface preparation を用いて)。さらにグルタミン濃度を位置自食モルモットに投与し、易受傷性の軽減があるかを調べる。
- 2) neurotrophic factor の音響外傷予防効果
モルモットを強大音響 (4kHz オクターブバンドノイズ: 115dB SPL, 5 時間) に曝露する。その前にモルモット蝸牛殻室階に浸透可能なポリカポネルを挿入し、種々の neurotrophic factor (GDNF, BDNF, NT-3, FGF-1, FGF-2) を前投与した。これらの factor による音響外傷の予防効果については ABR, surface preparation を用いて調べる。
- 3) ミトコンドリア機能異常による難聴モデル動物の作成
ミトコンドリアの ATP 合成阻害によりアミノ酸代謝による聴器毒性を増悪するとのことが知られている。また、ミトコンドリア DNA 異常の症例に原因不明の難聴が起り得ることも知られている。このためミトコンドリア機能障害のモデル動物を作成し、音響曝露に対する易受傷性の元凶について調べることにした。予備実験としてモルモットにグルタミン酸食餌を与え、聴器の他に、骨格筋、心筋、肝臓、腎臓の形態と CCO 活性について調べる。

<p>研究のポイント</p>	<p>1) 音響外傷の発症に free radical の発生に重要な役割を及ぼすことが知られており、我々の内在性の antioxidant である グルタチオンは 音響曝露で変化し、その量を薬剤により変えることで音に對する易受傷性が変化することを以前示した。今回の食餌の調節で内在性グルタチオンの量を変化させ、グルタチオン不足によりグルタチオンを補うことで音響外傷に對する易受傷性の変化を調べた。</p> <p>2) neurotrophic factor は さまざまな神経の障害を予防（得点）することが報告されており、耳に於いてはどの factor が有効であるかを明らかにした。</p> <p>3) ミトコンドリア機能異常のモデル動物を作製するため、モルモットにケルミウム食を与えてミトコンドリアの形態、ATPase (CCO) 活性を調べた。</p>
<p>研究結果</p>	<p>1) 任意日食を与えたモルモットでは蝸牛内のグルタチオンが減少し、音響外傷のコントロールに比べて変化しなかった。グルタチオン不足を投与することでこの増悪傾向はなくなり、さらに高濃度のグルタチオン不足を投与すると音響外傷の軽減がみられた。</p> <p>2) neurotrophic factor のうち GDNF, BDNF, NT-3, FGF-1, FGF-2 を浸透性ポリマーを用いてモルモット蝸牛内に前投与し、音響外傷の予防効果を調べた。GDNF の濃度依存性の予防効果がみられ、NT-3 も同等の予防効果が得られた。BDNF, FGF-1, FGF-2 は効果はなかった。</p> <p>3) モルモットにケルミウムを投与することでミトコンドリアの形態異常、CCO 活性の低下が得られた。内耳の病変は比較的軽度であった。</p>
<p>今後の課題</p>	<p>1) 音響曝露前からの最中の投与だけでなく、曝露終了後の投与による治療効果を調べた。</p> <p>2) これまで音響外傷軽減効果のある薬剤を組み合わせる投与し、相加的又は相乗的効果について調べた。</p> <p>3) ミトコンドリア機能の低下は動物の飼育環境で音響外傷が引き起こりやすくなるか、調べた。</p>



音響外傷の発症機序については左図の如く考えられている。Mechanical traumaは内毛細胞(IHC)外毛細胞(OHC)、蓋膜などへの直接障害であり、Metabolic traumaは内毛細胞の glutamate 過剰放出による Excitotoxicity、有毛細胞の細胞内Ca濃度上昇、相対的酸素不足・グルコース不足による代謝枯渇、血管の血流低下(CoBF↓)再灌流である。この両者の複合的かつ障害を生じると思われる。この過程を防止するために内在性の antioxidant であるグルタチオンの影響を調べ、グルタチオ2 (GSH)は下図の如く H₂O₂を除去する他、apoptosis誘発的 HNEを解毒

作用もある。今回の検討では GSH の低下は音響外傷を要せずに GSH を補うと軽減されること、GSH の音響外傷予防効果を示唆した。neurotrophic factor (NTF) の作用機序は不明である。今回 5 種類の NTF を用いて 2, 3 GDNF と NT-3 は音響外傷軽減に効果。BDNF, FGF-1, FGF-2 は無効であった。このことも音響外傷の発症機序の発見を導く結果である。



(注:フローチャート図,ブロック図,構成図,写真,データ表,グラフ等 研究内容の補足説明にご使用下さい。)