

機関番号：16301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20599011

研究課題名（和文） 内耳虚血に対する人工酸素運搬体の効果

研究課題名（英文） Liposome-Encapsulated Hemoglobin Alleviates Hearing Loss After Transient Cochlear Ischemia

研究代表者

岡田 昌浩 (OKADA MASAHIRO)

愛媛大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：20512130

研究成果の概要（和文）：

人工酸素運搬体の一つである Liposome-encapsulated hemoglobin（以下、LEH）は、輸血用赤血球の代用品として開発されたものだが、その優れた酸素運搬能・供給能のため、虚血性疾患への応用が検討されている。今回、LEH を内耳虚血前、もしくは虚血 1 時間後に投与すると、虚血によって生じる難聴や有毛細胞の脱落に対する保護効果を発揮することが判明した。

研究成果の概要（英文）：

Pre-treatment or post-treatment with liposome-encapsulated hemoglobin, which is one of artificial red blood cells, was protective in mitigating hearing loss and underlying pathological damage.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,700,000	0	1,700,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	390,000	3,390,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：人工酸素運搬体、内耳一過性虚血、聴性脳幹反応、蝸牛有毛細胞

1. 研究開始当初の背景

人工酸素運搬体は輸血用赤血球の代用品として開発されたものが、その優れた酸素運搬能のため、虚血性疾患への応用が検討されていた。一方、突発性難聴は原因不明な疾患であるが、内耳虚血が原因として有力視されている。人工酸素運搬体が内耳虚血に対し有効であれば、突発性難聴のあらたな治療法として確立できる可能性があり、今回の検討を行った。

2. 研究の目的

内耳虚血に対する人工酸素運搬体の有用性を生理学的・組織学的に検討する。

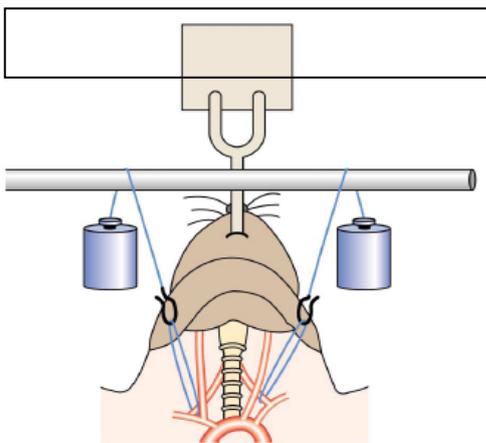
3. 研究の方法

(1) 実験動物

スナネズミ（雄、12-16週、60-80g）を用いた。

(2) 内耳虚血

椎骨動脈に絹糸をかけ、下図のように5gの重りで牽引することで内耳虚血を生じさせた。虚血時間は15分とした。15分後に牽引を解除し、再灌流を行った。



(3) 投与薬剤: 虚血前投与では虚血30分前に、虚血後投与では虚血1時間後に以下の薬剤を2ml/kg ずつ、大腿静脈より静注した。

- ① 生食
- ② 低酸素親和性 LEH
- ③ 高酸素親和性 LEH
- ④ 同種赤血球

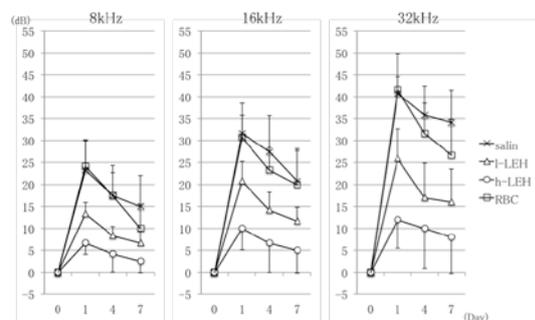
(4) 生理学的評価: 虚血前、虚血1, 4, 7日後に ABR で聴力閾値を測定した。

(5) 組織学的評価: 虚血7日後にコルチ器を取り出し、Hochest33342、Rodamine - Phalloidine の二重染色を行い有毛細胞を観察し、その脱落割合を算出した。

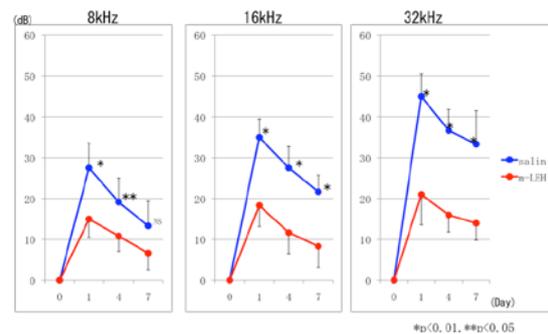
4. 研究成果

(1) 聴力推移

① 虚血前投与: 生食と比較し、同種赤血球は聴力の閾値上昇に対する効果を認めなかった。一方、LEH を投与した群では有意に聴力閾値の上昇を抑制した。また、高酸素親和性 LEH は低酸素親和性 LEH と比較し、有意に聴力閾値の上昇を抑制していた。



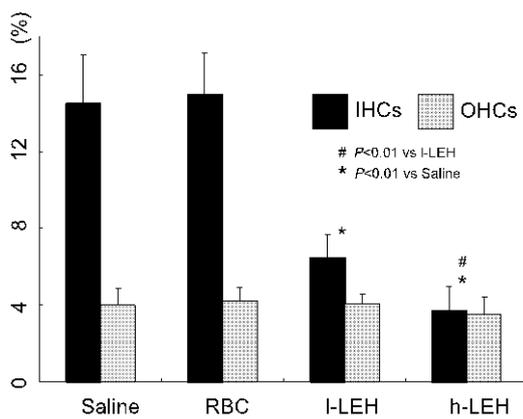
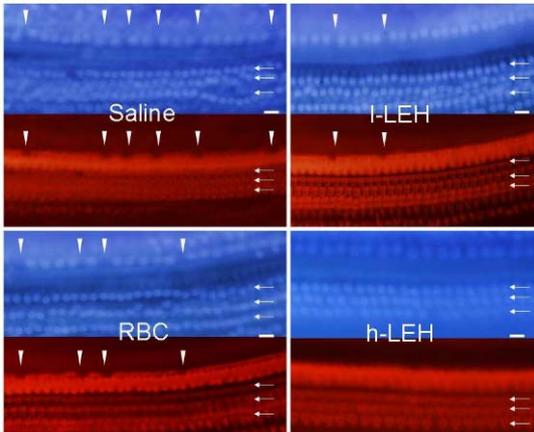
② 虚血後投与: 虚血1時間投与においても高酸素親和性 LEH は生食群と比較し、有意に聴力閾値の上昇を抑制していた。



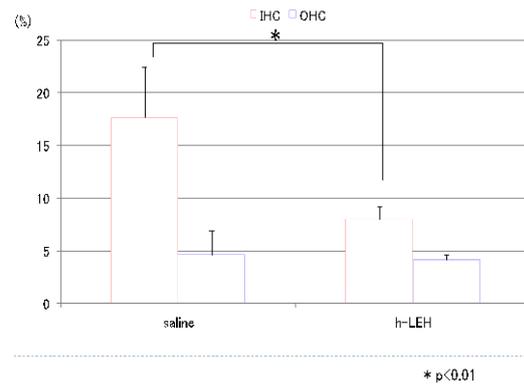
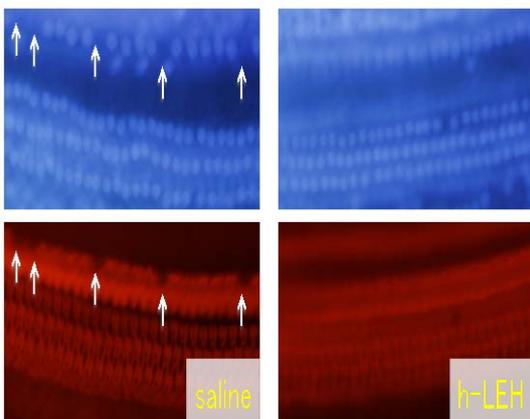
上記の通り、LEH は虚血前に投与しても、虚血後に投与しても、生理学的に効果を発揮すると判明した。

(2) 組織学的検討

① 虚血前投与では、LEH の投与により有意に内毛細胞の脱落割合を抑制していた。また、酸素親和性の高い LEH の方が効果が有意に高かった。

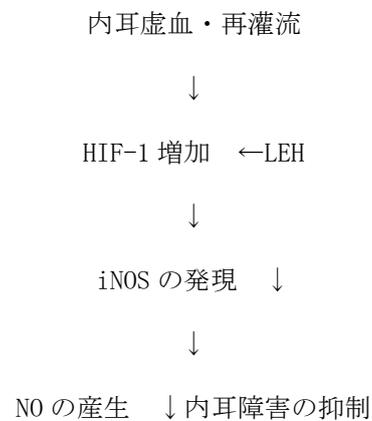


② 虚血後投与において、LEH の投与は生食と比較し、有意に有毛細胞の脱落を抑制していた。



上記のように組織学的にも内耳虚血・再灌流障害に対する人工酸素運搬体の有用性が証明された。

作用機序については不明であるが、当科では過去に内耳虚血・再灌流後に iNOS が発現し、NO が産生され、内耳障害を来すことを報告している。iNOS の遺伝子発現には、低酸素感受領域が関与しており、虚血により増加する HIF-1 などの蛋白が発現のトリガーになることがわかっている。LEH は内耳虚血後の低酸素状態を速やかに改善することで、HIF の発現を抑制し、NO を介する内耳障害を抑制したと考えられる。



このような内耳虚血に対する人工酸素運搬体の有用性を証明したのは世界初である。また、LEH は日本で開発されたものであり、今後、突発性難聴などの内耳疾患に対する日本発の治療方法として応用できる可能性がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① 岡田昌浩、中村光士郎、暁清文、突発性難聴の臨床的検討-予後因子について、愛媛医学、査読有、30 巻、2011、16-21

[学会発表] (計 2 件)

- ① Okada M、Liposome-encapsulated hemoglobin alleviates hearing loss after transient cochlear ischemia and reperfusion、2010 年 9 月 1 日、プラハ、チェコ
- ② 岡田昌浩、内耳虚血・再灌流障害に対する人工酸素運搬体の有用性の検討、日本耳鼻咽喉科学会、2010 年 5 月 20 日、仙台市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡田 昌浩 (OKADA MASAHIRO)

愛媛大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：20512130