

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 22 日現在

機関番号：16301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861388

研究課題名(和文)内耳虚血に対する人工酸素運搬体投与の臨床応用に向けた研究

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・講師

研究者番号：20512130

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

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.

研究分野：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

様式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

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。

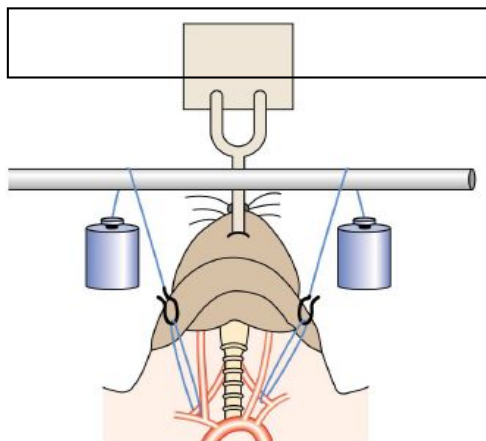
3. 研究の方法

(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。

- 生食
- 低酸素親和性 LEH
- 高酸素親和性 LEH
- 同種赤血球

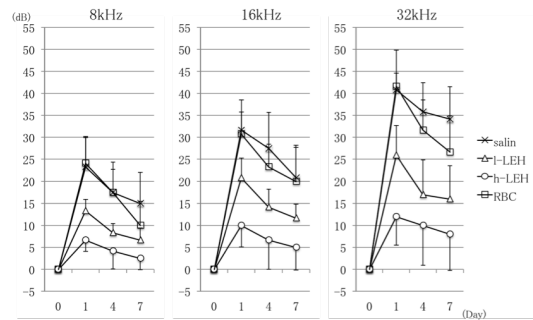
(4) 生理学的評価: 虚血前、虚血1,4,7日後にABRで聴力閾値を測定した。

(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。

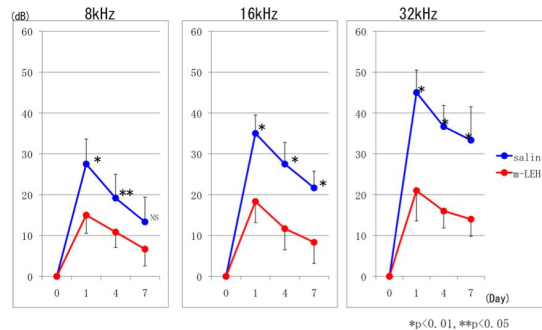
4. 研究成果

1) 聴力推移

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。



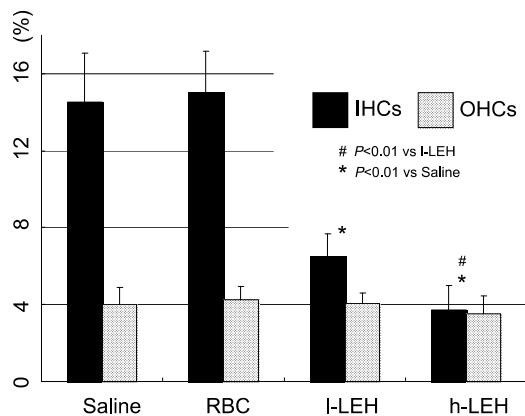
虚血後投与: 虚血1時間投与においても高酸素親和性LEHは生食群と比較し、有意に聴力閾値の上昇を抑制していた。



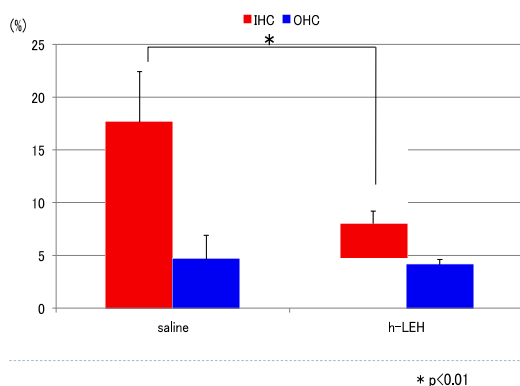
上記の通り、LEHは虚血前に投与しても、虚血後に投与しても、生理学的に効果を発揮すると判明した。

2) 組織学的検討

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。



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 の発生を抑制し、NO を介する内耳障害を抑制したと考えられる。

内耳虚血・再灌流

HIF-1 増加 LEH

iNOS の発現

NO の産生 内耳障害の抑制

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 2 件)

1. Okada M, et al. A case of hypertrophic cranial pachymeningitis associated with invasive *Aspergillus mastoiditis*. *Auris Nasus Larynx*. 42: 488-91, 2015.

2. Okada M, et al. Air-bone gap in ears with a well-repaired tympanic membrane after Type III and Type IV tympanoplasty. *Auris Nasus Larynx*. 41: 153-9, 2014.

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

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・講師
研究者番号：20512130