

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 16 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21791610

研究課題名（和文）ステロイド局所投与による内耳血流障害および内耳炎に対する影響の検討

研究課題名（英文）Effect of Topical Application of Dexamethasone to the Round Window
for inner ear circulation disorder and inflammation of the inner ear

研究代表者

大竹 宏直 (OTAKE HIRONAO)

名古屋大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30508891

研究成果の概要（和文）：

本研究の結果として、臨床で使用する濃度のデキサメサゾン投与による内耳血流量の有意な変化は見られなかった。しかしながら、再灌流させた際の自動調節能は、コントロール群と比較しデキサメサゾン通常濃度および 10 倍濃度投与群において有意に保たれることが確認できた。

また、鼓室内ステロイドに有害性は見当たらずむしろ保護的に作用すること、また突発性難聴の原因と考えられている虚血・再灌流障害においては、一定の効果が期待できる結果となった。

研究成果の概要（英文）：

No significant change in CBF was observed after topical application of dexamethasone, neither did it affect the decrease in CBF caused by AICA occlusion. However, recovery of CBF after release of the AICA clamp was better in animals treated with dexamethasone than in those that did not receive dexamethasone.

Topical application of dexamethasone may support autoregulation of cochlear blood flow (CBF) though it had no direct effect on CBF.

Also, as for the hazardousness, it was not found by an intratympanic steroid, rather the steroid functioned protectively.

In ischemic - reperfusion injury thought to be one of the causes of the sudden deafness, it followed that we could expect a constant effect.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	900,000	270,000	1,170,000
2010 年度	800,000	240,000	1,040,000
2011 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	2,200,000	660,000	2,860,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：耳鼻咽喉科学

キーワード：耳科学 内耳血流 虚血・再灌流障害

1. 研究開始当初の背景

現在、急性感音難聴の原因には内耳の血流障害説、ウイルス感染説が有力であり、近年

その病態解明、治療について多くの研究が行われ報告されてきているが、未だそれを証明するまでには至っていない。

現在臨床的にはこのような内耳性疾患の治療に、ステロイドホルモン、ビタミンB12、内耳循環改善薬の経口的・経静脈の全身投与が行われている。ステロイドホルモンは臨床効果が高い一方、全身投与により、胃粘膜刺激症状、血糖値の上昇、易感染兆候などが見られることもあり、投与量や患者の基礎疾患がある場合投与の変更、中止を余儀なくされている現状がある。

近年、ステロイドの鼓室内注入療法が注目され急性感音難聴やメニエール病の治療に施行されつつある。

正円窓にステロイドを局所投与した場合、全身へステロイドを投与した場合と比較して、内耳に高濃度のステロイドが浸透する。近年、突発性難聴の治療として、鼓室内ステロイド投与に関する多くの研究が報告されている。近年、脳浮腫時の脳血流量に及ぼすステロイドの影響についての数多くの論文がある。ラットを用いて中大脳動脈を一時或いは長時間閉塞させ、限局した脳虚血部位に対するステロイドの効果の報告がある。この研究において、高用量メチルプレドニゾン治療は、一時的な虚血部位に対する限局した梗塞領域を減少させたと報告している。この実験によって再灌流時に、高濃度メチルプレドニゾンは臨床的に効果がある事が示唆された。

2. 研究の目的

(1) 虚血・再灌流時の組織学的、電気生理学的変化ならびに障害後ステロイド投与による影響を検討する。

(2) 内耳循環障害のみならず内耳炎に対する鼓室内ステロイド注入が注目されており、それぞれの場合の鼓室内ステロイド投与による影響について検討する。

(3) グルココルチコイドレセプターはほぼすべての組織に存在するといわれており、組織、個体により若干の相違はあるものの、内耳における局在も明らかにされつつある。蝸牛内に浸透したステロイドが虚血や炎症などによってどの程度効果があるかを、経時的、組織学的および電気生理学的に検討する。

(4) 蝸牛血管条は聴覚において重要な蝸牛内電位の源泉であり、内耳血流障害すなわち血管条の障害は難聴の原因として重要である。また、グラム陰性菌の膜成分であるリポポリサッカライド (以下 LPS) には哺乳類に対して強い発熱作用があることが分かっている。いずれの障害に対してもステロイドの効果を検討する。

(5) それぞれの実験後に組織学的検討をす

る。

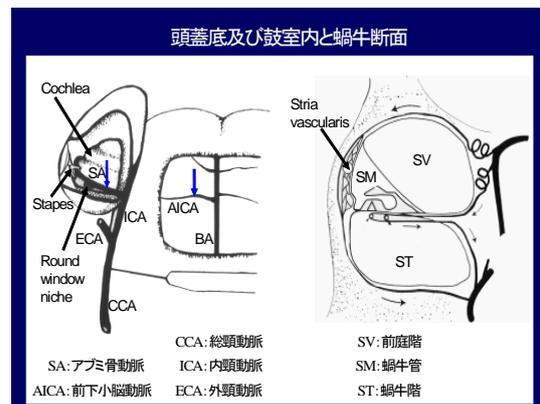
3. 研究の方法

(1) 生後7-10週齢でプライエル反射良好のS.D.ラット(♀)を使用した。

S.Dラットを用いて、前下小脳動脈をclamp・releaseできる虚血・再灌流モデルを作成、また、リポポリサッカライドを投与した内耳炎も出るマウスを作成し、様々な条件や負荷を加え、正円窓(round window)にステロイドを投与し実験を行う。終了後蝸牛を取り出しパラフィン固定切片を用いて、光学顕微鏡および蛍光顕微鏡による組織学的評価を行う。

① ラットに全身麻酔(ケタミン100mg/kg, キシラジン5 mg/kg)を施し腹臥位に固定、気管切開を施行し自発呼吸下で実験を行った。頭蓋底骨と中耳骨包を削開し、蝸牛を覆う中耳粘膜を除去、蝸牛基底回転部外側壁に外径1.0 mmのプロブを垂直に接触させ、レーザードップラー出力値を測定。測定中は、体温を一定に保ち左大腿動脈のカニューレーションにより血圧、脈拍を測定した。ドップラーでの血流値が安定したところで、正円窓にステロイドを投与し血流値の変化を測定した。

ステロイドとしてデキサメサゾンを使用し、臨床で使用している濃度の3.3mg/mlとその10倍の33mg/mlの2種類で検討した。それぞれをラットの正円窓にマイクロピペットで投与し、レーザードップラー(以下LD)流量計を使用しCBFを測定した。



② 次にAICAを2時間閉塞させ、再灌流時のCBFの変化を同様に測定した。

③ デキサメサゾンを投与しAICAを閉塞させ、2時間後再灌流させたときのCBFの変化を測定した。基線となるLD値を100%に設定した。LD値0は、0%に設定した。

データは、STATA version 8.0を使用し、

t 検定または分散分析 (ANOVA) を使用して分析した。帰無仮説確率が <0.05 である場合、統計学的に有意差があると考えた。

④ 更に前下小脳動脈を露出し虚血再灌流モデルを作成し、虚血再灌流障害時におけるデキサメサゾンの効果を検討した。

⑤ それぞれの実験終了後、内耳組織を摘出し、固定・脱灰後パラフィン包埋にて切片を作成し、組織学的検討を行った。

⑥ 同切片を用いてTUNEL法による免疫染色から、虚血・再灌流障害による内耳アポトーシスについて検討を行った。

4. 研究成果

(1) 正円窓に $0.5\mu\text{L}$ デキサメサゾン (3.33mg/mL) を投与し、前下小脳動脈 (AICA) を閉塞・再灌流させたときの蝸牛血流 (CBF) の影響はコントロール群比較し有意差があった。これはautoregulationが保たれていることを示唆する。

(2) 再灌流させた際の自動調節能は、コントロール群と比較しデキサメサゾン通常濃度および10倍濃度投与群において有意に保たれることが確認できた。

(3) 内耳組織をパラフィン切片より、組織評価を行い、加えてTUNEL法を用いてアポトーシスへのデキサメサゾンの影響を組織評価した。数時間後に内耳を摘出しパラフィン切片作成し、血管条内での変化を光学顕微鏡下に観察した。血管条、コルチ器等特記すべき変化は見られなかった。しかし、いずれもデキサメサゾン投与群では内耳保護効果が確認される傾向にあった。

(4) ステロイドレセプターの確認のため免疫染色を行ったが、特記すべき所見は見られなかった。

成果としては、この研究により鼓室内ステロイドに有害性は見当たらずむしろ保護的に作用すること、また突発性難聴の原因と考えられている虚血・再灌流障害においては、一定の効果が期待できるということが判明した。

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 9 件)

- ① 平松 真理子, 大竹 宏直 中島務以下省略 (15人中7番目) Polymorphisms in Genes Involved in Inflammatory Pathways in Patients with Sudden Sensorineural Hearing Loss. J Neurogenet. 2012 Mar 5. 査読有
- ② 曾根 三千彦 吉田 忠雄 大竹 宏直 以下省略 (8人中4番目) Comparison of computed tomography and magnetic resonance imaging for evaluation of cholesteatoma with labyrinthine fistulae. Laryngoscope. 2012 Jan 31. 査読有
- ③ 多賀谷 満彦 大竹 宏直 他省略 (9人中7番目) Morphological features of elderly patients with obstructive sleep apnoea syndrome: a prospective controlled, comparative cohort study. Clin Otolaryngol. 2011 Apr;36(2):139-46. 査読有
- ④ 古田 敏章 大竹 宏直 他省略 (16人中6番目) Association of interleukin-1 gene polymorphisms with sudden sensorineural hearing loss and Ménière's disease. Int J Immunogenet. 2011 Jun;38(3):249-54. 査読有
- ⑤ 多賀谷 満彦 大竹 宏直 他省略 (9人中6番目) Endolymphatic hydrops and blood-labyrinth barrier in Ménière's disease. Acta Otolaryngol. 2011 May;131(5):474-9. 査読有
- ⑥ 大竹 宏直 中島 務 内耳炎 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 83 巻 5 号 (2011.04) P.229-234 査読無し
- ⑦ 多賀谷 満彦 大竹 宏直 他省略 (9人中6番目) 3 Tesla magnetic resonance imaging obtained 4 hours after intravenous gadolinium injection in patients with sudden deafness. Acta Otolaryngol. 2010 Jun;130(6):665-9. 査読有
- ⑧ 岩田 知之 大竹 宏直 他省略 (8人中6番目) Anatomy-based surgery to remove thyroglossal duct cyst: two anomalous cases. J Laryngol Otol. 2010 Apr;124(4):443-6. 査読有
- ⑨ 山本 磨早子 大竹 宏直 他省略 (11

人中4番目) Relationship between the degree of endolymphatic hydrops and electrocochleography. Audiol Neurotol. 2010;15(4):254-60. 査読有

(3)連携研究者
なし

研究者番号:

〔学会発表〕(計5件)

- ① Endolymphatic hydrops of the labyrinth visualized by intravenous gadolinium injection in Ménière's disease 大竹 宏直 1st Congress of the Confederation of the European ORL-HNS スペイン バルセロナ 2011.7.3
- ② マイクロデブリッター使用によるアデノイド切除術の検討- 従来法との比較 - 大竹 宏直 第12回耳鼻咽喉科手術支援システム・ナビゲーション研究会 愛知県 名古屋 2010.10.23
- ③ 上顎洞真菌症における上顎洞患側、健側サイズの検討 大竹 宏直 2010.8.27 北海道 札幌
- ④ ガドリニウム造影剤静注後の内外リンパ腔の描出 大竹 宏直 第72回耳鼻咽喉科臨床学会 岡山県 倉敷 2010 7.7
- ⑤ 後天性CMV感染後に発症した進行性難聴の一例 大竹 宏直 第55回日本聴覚医学会 神奈川県 横浜 2009.10.23

6. 研究組織

(1)研究代表者

大竹 宏直 (OTAKE HIRONAO)
名古屋大学 医学部付属病院 助教
研究者番号: 30508891

(2)研究分担者

なし

研究者番号: