

胞はほぼ正常に改善していた。(図 6-a: 3 時間後、図 6-b: 1 日後、図 6-c: 2 週間後)

#### D. 考察

本研究では先の分担者によって作成された、3-NPA 局所投与後 3 時間以内に聴覚閾値が測定限界を超え (scale out)、2 週間後も反応が回復しない不可逆性閾値上昇をきたしたモデルについて形態学的に検討を行なった。

蝸牛各部位のうち、ミトコンドリア障害の程度は、蝸牛外側壁に最も強く、次にラセン神経節にみられ、外有毛細胞、内有毛細胞には変化が乏しかった。このことから聴覚閾値上昇をもたらしたメカニズムにつき考察する。

蝸牛外側壁は、血管条とラセン靭帯からなり、蝸牛のリンパ液恒常性維持に重要な役割を果たしているといわれている。つまり、ラセン靭帯線維細胞と血管条の各細胞は Na-K ATPase やイオンチャンネル、イオンポンプにより内外リンパ液の電解質濃度勾配を作り出し、蝸牛内電位 (EP) を保っている。蝸牛内電位は、有毛細胞の興奮のための起電力となっており、蝸牛内電位の低下は直ちに聴覚閾値上昇をもたらす。故に本結果に見られる外側壁の著明な障害は単独でも聴覚閾値上昇の原因となりうると考えられ、観察されたラセン靭帯線維細胞と血管条の著明な萎縮像は外側壁での機能障害を現し、蝸牛内電位の低下が聴覚閾値上昇をもたらす病態である可能性が考えられた。

ラセン神経節は、有毛細胞と脳幹の蝸牛神経核とを結ぶ神経細胞の集まりである。

このため、ラセン神経節の高度な障害は神経伝達障害となって聴覚閾値の著明な上昇の原因となりうる。本結果では、3 時間後の電顕像ではほぼ全細胞にミトコンドリアの膨化像を認め、聴覚閾値上昇の原因となりうると考えられる。しかし 1 日後ではミトコンドリアの膨化所見が改善している細胞が散見され、2 週間では残存神経節細胞はほぼ正常に回復していた。このことから本モデルにおけるラセン神経節は細胞死をきたす細胞と、生存・回復する細胞とが混在することになり、急性期での難聴の原因とはなっても不可逆性閾値上昇の単独の原因とは考えにくいと考察された。ラセン神経節細胞は、外側壁と同様に急性の障害を呈しやすい部位だといえるが、障害後速やかにその機能を回復出来る特性を持っている細胞であると考えられた。

内有毛細胞は、音響刺激を電気的信号に変換し中枢へ伝達する機能を有していると考えられている。このため、不可逆性閾値上昇を単独でも起こしうる。しかし本結果では電顕で内有毛細胞の障害の所見は乏しく、本モデルの内有毛細胞は聴覚閾値上昇の原因となっている可能性は低いと考えられた。

外有毛細胞は、能動的運動能を有し内有毛細胞の感度を調節していると考えられている。そのためミトコンドリアは、外有毛細胞の細胞膜下周囲に配列し能動的運動にエネルギーを供給する重要な役割を果たしている。外有毛細胞が傷害されると運動障害から内有毛細胞の感度が低下し、聴覚閾値上昇をおこす可能性があると考えられる。本結果では 3 時間後にはミトコンドリアとその配列には変化がなく、1 日後にはミト

コンドリアの増加、2週間後には細胞中心へのミトコンドリア集族像を認め、この経過は外有毛細胞障害の進行過程と考えられた。すなわち、1日後にはミトコンドリア機能低下に対する反応性のミトコンドリア増加を来したが、2週後には外側壁障害による蝸牛内電位の低下・消失からくる細胞環境の悪化によって細胞機能が低下しミトコンドリアが細胞中心に集まった状態を呈したと推察された。

以上のことから、聴覚閾値上昇をもたらした主たる原因は蝸牛外側壁の障害である可能性が示唆された。ヒトの遺伝性難聴でも蝸牛外側壁の gap junction タンパクの構成因子である connexin26 の遺伝子欠損では、先天聾となることが知られており、蝸牛外側壁の障害は高度な聴覚閾値上昇をもたらす原因となりうると考えられる。

ヒト蝸牛病理（ミトコンドリア病）所見と比較してみると、ミトコンドリア 3243 変異では有毛細胞の細胞変性、血管条の萎縮、ラセン神経節細胞の減少を認め、Kearns-Sayre 症候群（KSS）では、有毛細胞の消失、血管条の変性、ラセン神経節細胞の大部分が変性脱落を認めたと報告されている。本実験では血管条、ラセン神経節細胞の減少認めた点ではヒト病理と一致するが、ヒトでは認められた有毛細胞の変性・消失の所見が本実験では乏しかった。本実験が急性ミトコンドリア障害モデルであることを考えると、有毛細胞は急性のミトコンドリア障害には抵抗性があるが、慢性のミトコンドリア機能低下では障害されやすい可能性が示唆された。また、外有毛細胞については外側壁の障害に続発する細胞環境の変化により、徐々に変性・消失し

ていく可能性も示唆された。

今後はこのモデルラットを用いることによって、内耳ミトコンドリア障害の酵素組織化学的、免疫組織学的手法を用いて、聴力障害の分子レベルの病態メカニズム解明と実験的治療法の検討を行なう予定である。

#### E. 結論

ラット内耳にミトコンドリアトキシンを局所投与した不可逆性閾値上昇（PTS）を伴ったモデルに対し、透過型電子顕微鏡を用いて形態学的に検討を行なった。

蝸牛各部位のうち、ミトコンドリア障害の程度は、蝸牛外側壁に最も強く、次にラセン神経節にみられ、外有毛細胞、内有毛細胞には変化が乏しかった。

このことから本モデルにおける不可逆性閾値上昇は蝸牛外側壁の機能障害が主たる原因と考察した。

本モデルラットは、今後分子レベルでの難聴の病態解明や実験的治療法の開発に有効であると考えられた。

#### F. 研究発表

なし

#### G. 私的所有権の取得状況

なし



図1-a 3時間後 内有毛細胞



図2-a  
3時間後 内有毛細胞神經終末



図1-b  
1日後 内有毛細胞

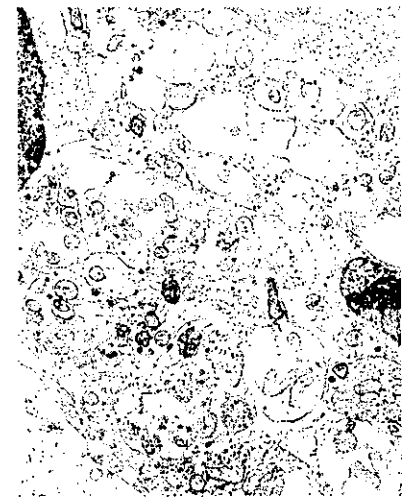


図2-b  
1日後 内有毛細胞神經終末

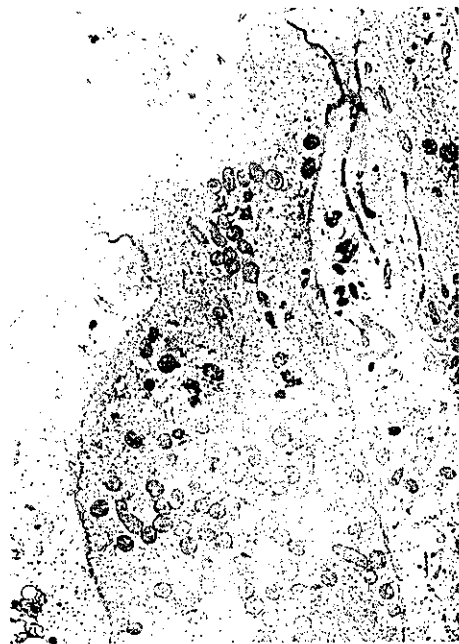


図1-c  
2週間後 内有毛細胞

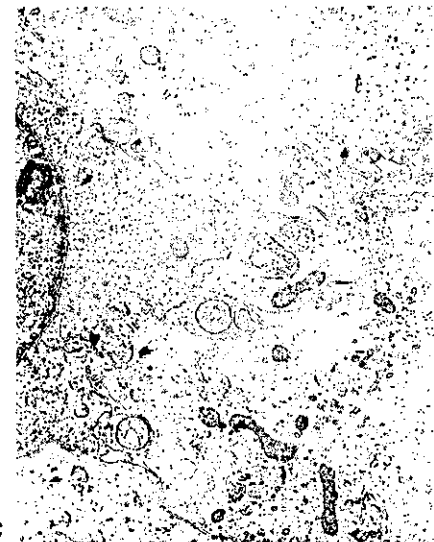


図2-c  
2週間後 内有毛細胞神經終末

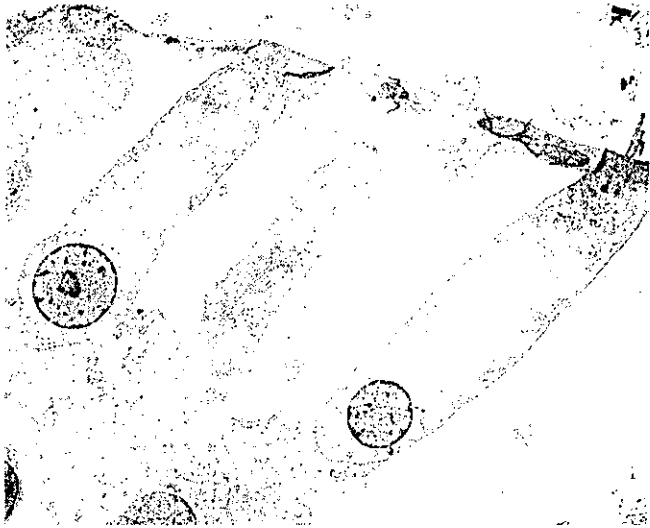


図3-a 3時間後 外有毛細胞

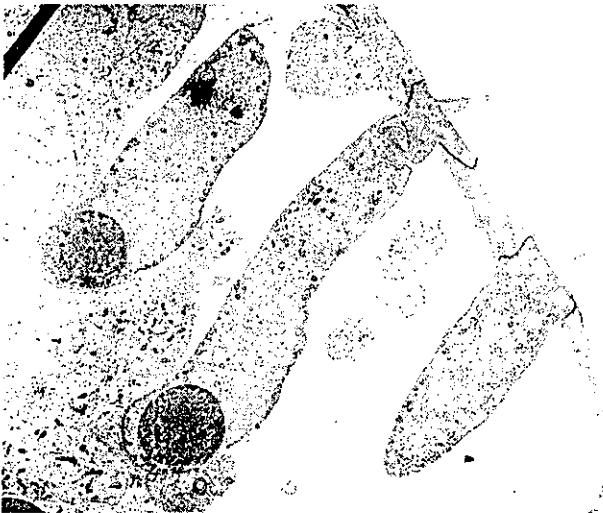


図3-b 1日後 外有毛細胞

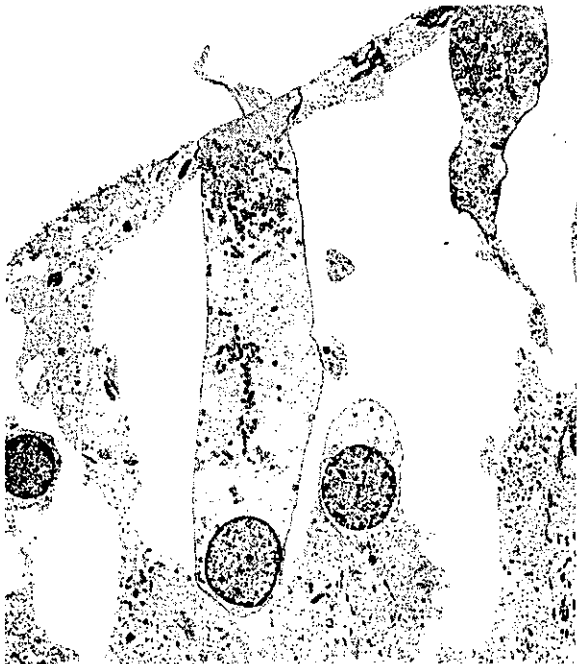


図3-c 2週間後 外有毛細胞



図4-a 3時間後 血管条



図5-a 3時間後 ラセン靭帯



図4-b 1日後 血管条

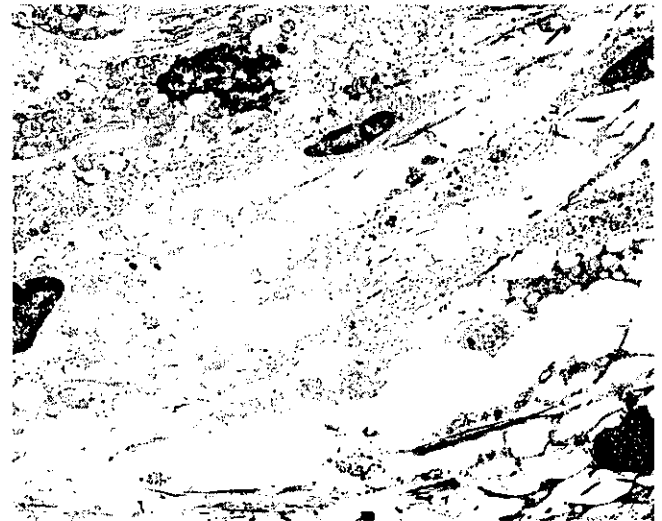


図5-b 1日後 ラセン靭帯



図4-c 2週間後 血管条

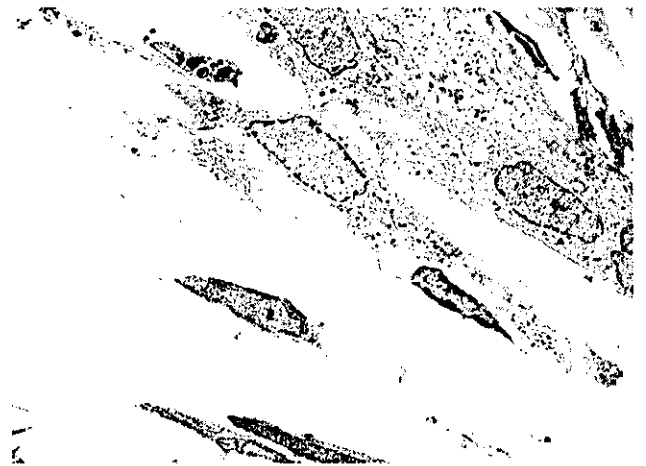


図5-c 2週間 ラセン靭帯



図6-a 3時間後 ラセン神経節



図6-b 1日後 ラセン神経節

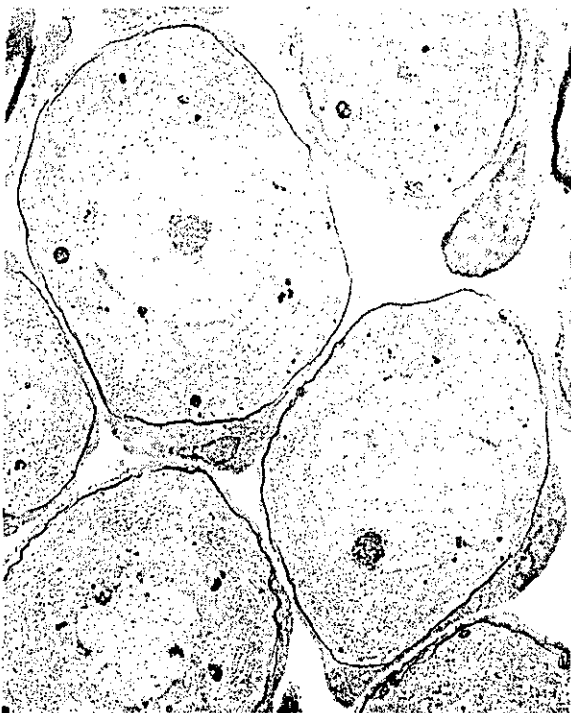


図6-c 2週間後 ラセン神経節

## 研究成果の刊行に関する一覧表

I. Yuge, A Ohtsuka, T. Matsunaga, S. Usami.

Identification of 605ins46, a novel GJB mutation in a Japanese family.

Auris Nasus Larynx 29:379-382, 2002

20020672

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、  
P.45の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。