

群との間に有意差はなかったとし、De Feliceらの見解を否定している。

難聴の予後との関係を調べた研究もなされており、Grgicら⁸⁷⁾は突発性難聴患者の椎骨脳底動脈血流を測定し、血流速度が正常な例は聴力回復が望めるが、血流障害が疑われる例は予後が悪いとし、超音波ドプラ血流計による測定は予後診断に有用であると述べている。

b) レーザードプラ血流計

レーザードプラ血流計はプローブと血管の間に結合織や骨などが介在すると光が届かないので深部の測定には向かないが、照射光を絞ることで狭い領域の血流を高精度で測定することができる。当初、動物実験に導入された⁸⁸⁾が、その後、臨床応用が進み、突発性難聴やメニエール病、進行性難聴などの蝸牛血流測定に用いられている。鼓膜に大穿孔がある場合はプローブをそこから挿入することで非侵襲的に測定ができるが、通常は手術時に鼓室を開放して測定する。

Nakashimaら⁸⁹⁾は外リンパ瘻が疑われた突発性難聴例の蝸牛血流を測定し、carbogenを吸入させた2例のうち1例は血流が改善したと報告している。このなかで、内耳血流の正確な測定には中耳粘膜を剥がしておくことが必要であると指摘している。Selmani⁹⁰⁾は突発性難聴例の蝸牛血流量はコントロールとほぼ同じで有意差がなかったことから、内耳血流の低下が難聴の原因とは考えがたいと結論している。レーザードプラ血流計は光が照射された領域の平均血球速度を測定しているに過ぎず、血管条毛細血管の限局した部位の血流までは測定できないので、その結果を直ちに突発性難聴の原因と結び付けるのは適当ではないと思われる。

3) 遺伝子検査

遺伝子レベルでの突発性難聴の研究も急速に進んでいる。Rudackら^{91) 92)}は、突発性難聴患者ではPlatelet GPIaC807TのSNP (single nucleotide polymorphism、一塩基多型) を認める例が多く、しかもこのような例は予後が悪いと報告している。Capaccioら⁹³⁾は血栓症のリスクファクターと考えられるMTHFR677と1298の遺伝子多型を検討し、突発性難聴では677 CT、

677 TT、1298 AC、1298 CC、compound 677 CT /1298 ACの遺伝子多型を示す例が多いとし、本症の発症メカニズムに虚血が関与すると推察している。一方、Gorurら⁹⁴⁾は突発性難聴では微小血栓の危険因子のうちfactor V Leidenの頻度は高いが、prothrombin G20210Aの遺伝子多型は認めなかったと述べている。さらにCadoniら⁹⁵⁾は突発性難聴ではMTHFRだけでなくfactor V G1691A、prothrombin G20210Aなどの遺伝子多型も認めず、また血栓形成に関係するタンパクであるantithrombin III、protein C、protein S、D-dimerなどにも異常はみられなかったとし、虚血の関与を否定している。このように突発性難聴の遺伝子多型は主に血栓形成との関係で研究が進められているが、結果は報告者により大きく異なっており、さらなる検討が必要であろう。

Nam⁹⁶⁾は、IL4 receptorの遺伝子多型であるQ576R (rs180275) に注目して突発性難聴との関係を調べたところ、患者では正常者と比べ有意にQ576RAGのSNPの頻度が高かったと述べている。Q576Rの遺伝子多型はアトピーや炎症性疾患で見られるといわれ、本症における炎症の関与が示唆される。遺伝子検査は病態解明の大きな手がかりになる可能性があり、今後、どのような方向に進むのか興味を持たれる。

7. おわりに

本章では、内耳の血液循環システムの概要とその虚血脆弱性について解剖学的見地から解説するとともに、内耳虚血の機序に関する最近の考え方を紹介した。さらに虚血説に基づいた突発性難聴の捉え方や難聴診断法の現況について言及した。虚血はさまざまな急性疾患の原因となりうる病態であり、突発性難聴の発症メカニズムに直接あるいは間接的に関わっていると考えられる。内耳虚血の病態解明は本症の治療戦略を構築する上で重要な鍵となろう。

(暁 清文)

参考文献

- 1) 坂田一美：虚血. 医学大辞典. 伊藤正男 他編, 医学書院 2003 ; 594.

- 2) 野村恭也：内耳の血管系-蝸牛の血管系。聴覚障害，秋吉正豊他編，朝倉書店 1978：60-66.
- 3) 野村恭也：人の蝸牛にみられた病態。内耳の微細構造から病態まで，上村卓也，鈴木淳一編，医学図書出版 1978：99-122.
- 4) Nakashima T, Suzuki T, Morisaki H, Yanagita N : Blood flow in the cochlea, vestibular apparatus and facial nerve. *Acta Otolaryngol* 1991 ; 111 : 738-742.
- 5) Prazma J, Vance SG, Bolster DE, Pillsbury HC, Postma DS : Cochlear blood flow. The effect of noise at 60 min exposure. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1987 ; 113 : 36-39.
- 6) Angelborg C, Hillerdal M, Hultcrantz E, Larsen HC : The microsphere method for studies of inner ear blood flow. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 1988 ; 50 : 355-362.
- 7) Nakashima T, Naganawa S, Sone M, Tominaga M, Hayashi H, et al : Disorders of cochlear blood flow. *Brain Research Reviews* 2003 ; 43 : 17-28.
- 8) Miller JM, Ren TY, Nuttall AL : Studies of inner ear blood flow in animals and human beings. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1995 ; 112 (1) : 101-113.
- 9) Symon L : The relationship between CBF, evoked potentials, and the clinical features in cerebral ischemia. *Acta Neurol Scand* 1980 ; 62 (suppl 78) : 175-190.
- 10) Jones TH, Morawetz RB, Crowell RM, Marcoux FW, Fitzgibbon SJ, et al : Thresholds of focal cerebral ischemia in awake monkeys. *J Neurosurg* 1981 ; 54 : 773-782.
- 11) Kimura R, Perlman HB : Arterial obstruction of the labyrinth : Part I Cochlear changes. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1958 ; 67 : 5-24.
- 12) Shirane M, Harrison RV : The effects of hypoxia on sensory cells of the cochlea in chinchilla. *Scanning Microsc* 1987 ; 1 (3) : 1175-1183.
- 13) Häusler R, Levine RA : Auditory dysfunction in stroke. *Acta Otolaryngol* 2000 ; 120 : 689-703.
- 14) Lee H, Ahn BH, Baloh RW : Sudden deafness with vertigo as a sole manifestation of anterior inferior cerebellar artery infarction. *J Neurol Sci* 2004 ; 222 (1-2) : 105-107.
- 15) Rajesh R, Rafeequ M, Girija AS : Anterior inferior cerebellar artery infarct with unilateral deafness. *J Assoc Physicians India* 2004 ; 52 : 333-334.
- 16) 坂田一美：血栓。医学大辞典，伊藤正男他編，医学書院 2003：728.
- 17) Suckfull M, Wimmer C, Jager B, Schorn K, Thiery J : Heparin-induced extracorporeal low-density-lipoprotein precipitation (H.E.L.P.) to improve the recovery of hearing in patients with sudden idiopathic hearing loss. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2000 ; 257 (2) : 59-61.
- 18) Suckfull M : Heparin-induced extracorporeal low-density lipoprotein precipitation apheresis : a new therapeutic concept in the treatment of sudden hearing loss. *Ther Apher* 2001 ; 5 (5) : 377-383.
- 19) Suckfull M, Wimmer C, Reichel O, Mees K, Schorn K : Hyperfibrinogenemia as a risk factor for sudden hearing loss. *Otol Neurotol* 2002 ; 23 (3) : 309-311.
- 20) Lavy JA : Sudden onset deafness : two cases associated with pregnancy. *Int J Clin Pract* 1998 ; 52 (2) : 129-130.
- 21) Tsunoda K, Akaogi J, Ohya N, Murofushi T : Sensorineural hearing loss as the initial manifestation of polyarteritis nodosa. *J Laryngol Otol* 2001 ; 115 (4) : 311-312.
- 22) Yoshida Y, Yamauchi S, Shinkawa A, Horiuchi M, Sakai M : Immunological and virological study of sudden deafness. *Auris Nasus Larynx* 1996 ; 23 : 63-68.
- 23) Ottaviani F, Cadoni G, Marinelli L, Fetoni AR, De Santis A, et al : Anti-endothelial autoantibodies in patients with sudden hearing loss. *Laryngoscope* 1999 ; 109 (7) : 1084-1087.
- 24) Cadoni G, Fetoni AR, Agostino S, De Santis A, Manna R, et al : Autoimmunity in sudden sensorineural hearing loss : possible role of anti-endothelial cell autoantibodies. *Acta Otolaryngol* 2002 ; Suppl 548 : 30-33.
- 25) Cadoni G, Agostino S, Manna R, De Santis A, Fetoni AR, et al : Clinical associations of serum antiendothelial cell antibodies in patients with sudden sensorineural hearing loss. *Laryngoscope* 2003 ; 113 (5) : 797-801.
- 26) Jaffe BF : Hypercoagulation and other causes of sudden hearing loss. *Otolaryngol Clin North Am* 1975 ; 8 (2) : 395-403.
- 27) Nagahata M, Hosoya T, Fuse T, Aoyagi M, Yamaguchi K : Arterial dissection of the vertebrobasilar systems : a possible cause of acute sensorineural hearing loss. *Am J Otol* 1997 ; 18 (1) : 32-38.
- 28) Byl FM : Sudden hearing loss : eight years' experience and suggested prognostic table. *Laryngoscope* 1984 ; 94 : 647-661.
- 29) Koç A, Sanisoglu O : Sudden sensorineural hearing loss : literature survey on recent studies. *J Otolaryngol* 2003 ; 32 (5) : 308-313.
- 30) Mom T, Telishi FF, Martin GK, Stagner BB, Lonsbury-Martin BL : Vasospasm of the internal auditory artery : significance in cerebellopontine angle surgery. *Am J Otol* 2000 ; 21 : 735-742.
- 31) Laurikainen EA, Kim D, Didier A, Ren T, Miller JM, et al : Stellate ganglion drives sympathetic regulation of cochlear blood flow. *Hear Res* 1993 ; 64 (2) : 199-204.
- 32) Vass Z, Shore SE, Nuttall AL, Miller JM : Direct evidence of trigeminal innervation of the cochlear blood vessels. *Neuroscience* 1998 ; 84 (2) : 559-567.
- 33) Itou M, Ogawa K, Inoue Y, Sato M, Kanzaki J : Effects of neuropeptide Y on cochlear blood flow in guinea pigs. *Acta Otolaryngol* 2001 ; 121 (5) : 573-578.
- 34) Scherer EQ, Herzog M, Wangemann P : Endothelin-1-induced vasospasms of spiral modiolar artery are mediated by Rho-kinase-induced Ca^{2+} sensitization of contractile apparatus and reversed by calcitonin gene-related peptide. *Stroke* 2002 ; 33 (12) : 2965-2971.
- 35) Viirre ES, Baloh RW : Migraine as a cause of sudden hearing loss. *Headache* 1996 ; 36 (1) : 24-28.
- 36) Lee H, Lopez I, Ishiyama A, Baloh RW : Can migraine damage the inner ear? *Arch Neurol* 2000 ; 57 (11) : 1631-1634.
- 37) Bohmer A, Dillier N : Experimental endolymphatic hydrops : are cochlear and vestibular symptoms caused by increased endolymphatic pressure? *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1990 ; 99 : 470-476.
- 38) Larsen HC, Albers F, Jansson B, Angelborg C, Veldman J : Cochlear blood flow in endolymphatic hydrops. *Acta Otolaryngol* 1988 ; 106 : 404-408.
- 39) Yamamoto K, Kubo T, Matsunaga T : Autoregulation of inner ear blood flow in normal and hydropic guinea pigs. *Acta Otolaryngol* 1991 ; 111 : 312-318.
- 40) Brechtelsbauer PB, Ren TY, Miller JM, Nuttall AL :

- Autoregulation of cochlear blood flow in the hydropic guinea pig. *Hear Res* 1995 ; 89 (1-2) : 130-136.
- 41) Miller JM, Ren TY, Laurikainen E, Golding-Wood D, Nuttall AL : Hydrops-induced changes in cochlear blood flow. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1995 ; 104 (6) : 476-483.
 - 42) Yamane H, Nakai Y, Konishi K, Sakamoto H, Matsuda Y, et al : Strial circulation impairment due to acoustic trauma. *Acta Otolaryngol* 1991 ; 111 (1) : 85-93.
 - 43) Lamm K, Arnold W : Noise-induced cochlear hypoxia is intensity dependent, correlates with hearing loss and precedes reduction of cochlear blood flow. *Audiol Neurootol* 1996 ; 1 : 148-160.
 - 44) Sando I, Egami T : Inner ear hemorrhage and endolymphatic hydrops in a leukemic patient with sudden hearing loss. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1977 ; 86 : 518-524.
 - 45) Vakkalanka S, Ey E, Goldenberg RA : Inner ear hemorrhage and sudden sensorineural hearing loss. *Am J Otol* 2000 ; 21 : 764-765.
 - 46) Shinohara S, Yamamoto E, Saiwai S, Tsuji J, Muneta Y, et al : Clinical features of sudden hearing loss associated with a high signal in the labyrinth on unenhanced T1-weighted magnetic resonance imaging. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2000 ; 257 (9) : 480-484.
 - 47) Palchun VT, Kunelskaya NL, Zakharov AG : Audiometry in the diagnosis of cerebral ischemia complicated with acute subarachnoidal hemorrhage. *Vestn Otolaryngol* 1995 ; 5-9.
 - 48) 立木 孝 : EBMからみた突発性難聴の臨床. 金原出版 2005.
 - 49) 三宅 弘, 柳田則之, 勝見清子 : 突発性難聴の成因説と治療法-各国の現状調査報告. *耳鼻* 1978 ; 24 : 1-11.
 - 50) Nagahara K, Fisch U, Yagi N : Perilymph oxygenation in sudden and progressive sensorineural hearing loss. *Acta Otolaryngol* 1983 ; 96 (1-2) : 57-68.
 - 51) Probst R, Tschopp K, Ludin E, Kellerhals B, Podvinec M, et al : A randomized double-blind, placebo-controlled study of dextran/pentoxifylline medication in acute acoustic trauma and sudden hearing loss. *Acta Otolaryngol* 1992 ; 112 (3) : 435-443.
 - 52) Redleaf MI, Bauer CA, Gantz BJ, Hoffman HT, McCabe BF : Diatrizoate and dextran treatment of sudden sensorineural hearing loss. *Am J Otol* 1995 ; 16 (3) : 295-303.
 - 53) Reisser CH, Weidauer H : Ginkgo biloba extract Egb 761 or pentoxifylline for the treatment of sudden deafness : a randomized, reference-controlled, double-blind study. *Acta Otolaryngol* 2001 ; 121 (5) : 579-584.
 - 54) Burschka MA, Hassan HA, Reineke T, van Bebbler L, Caird DM, et al : Effect of treatment with Ginkgo biloba extract Egb 761 (oral) on unilateral idiopathic sudden hearing loss in a prospective randomized double-blind study of 106 outpatients. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2001 ; 258 (5) : 213-219.
 - 55) Borghi C, Modugno GC, Pirodda A : Possible role of HMG-CoA reductase inhibitors for the treatment of sudden sensorineural hearing loss (SSHL). *Med Hypotheses* 2002 ; 58 (5) : 399-402.
 - 56) Yue WL, Li P, Qi PY, Li HJ, Zhou H : Role of low-molecular-weight heparins in the treatment of sudden hearing loss. *Am J Otolaryngol* 2003 ; 24 (5) : 328-333.
 - 57) Nakamura M, Whitlock G, Aoki N, Nakashima T, Hoshino T, et al : Japanese and Western diet and risk of idiopathic sudden deafness : a case-control study using pooled controls. *Int J Epidemiol* 2001 ; 30 (3) : 608-615.
 - 58) Pujol R, Puel JL : Excitotoxicity, synaptic repair, and functional recovery in the mammalian cochlea : a review of recent findings. *Ann NY Acad Sci* 1999 ; 884 : 249-254.
 - 59) 奥村雅史 : 蝸牛回転別の蝸牛内直流電位に関する実験的研究. *大阪医大雑誌* 1996 ; 55 : 34-63.
 - 60) 奥村雅史, 志多 亨, 鈴木政昭 : 血管障害時の回転別EP. *日耳鼻* 1997 ; 100 : 1105-1106.
 - 61) Nakai Y, Masutani H, Moriguchi M, Matsunaga K, Sugita M : The influence of noise exposure on endolymphatic hydrops. An experimental study. *Acta Otolaryngol* 1991 ; Suppl 486 : 7-12.
 - 62) Quirk WS, Avinash C, Nuttall AL, Miller JM : The influence of loud sound on red blood cell velocity and blood vessel diameter in the cochlea. *Hear Res* 1992 ; 63 (1-2) : 102-107.
 - 63) 星野知之 : 限局性血管障害. 東京医学社 1999.
 - 64) Minowa O, Ikeda K, Sugitani Y, Oshima T, Nakai S, et al : Altered cochlear fibrocytes in a mouse model of DFN 3 non syndromic deafness. *Science* 1999 ; 285 : 1408-1411.
 - 65) Hoya N, Okamoto Y, Kamiya K, Fujii M, Matsunaga T : A novel animal model of acute cochlear mitochondrial dysfunction. *Neuroreport* 2004 ; 15 : 1597-1600.
 - 66) Masuda M, Nagashima R, Kanzaki S, Fujioka M, Oquita K, et al : Nuclear factor kappa B nuclear trans-location in the cochlea of mice following acoustic overstimulation. *Brain Res* 2006 ; 1068 : 237-247.
 - 67) Adams JC : Clinical implications of inflammatory cytokines in the cochlea : a technical note. *Otol Neurotol* 2002 ; 23 (3) : 316-322.
 - 68) 神崎 仁, 佐藤美奈子, 松永遠雄, 熊埜御堂浩, 神崎 晶, 他 : 突発性難聴の可逆性について. *Audiol Jpn* 2006 ; 49 : 782-788.
 - 69) Kitagawa K, Matsumoto M, Tagaya M, Hata R, Ueda H, et al : 'Ischemic tolerance' phenomenon found in the brain. *Brain Research* 1990 ; 528 (1) : 21-24.
 - 70) Dave KR, Saul I, Prado R, Bustro R, Perez-Pinzon MA : Remote organ ischemic preconditioning protect brain from ischemic damage following asphyxial cardiac arrest. *Neurosci Lett* 2006 ; 404 (1-2) : 170-175.
 - 71) Kitagawa K, Matsumoto M, Kuwabara K, Tagaya M, Ohtsuki T, et al : 'Ischemic tolerance' phenomenon detected in various brain regions. *Brain Res* 1991 ; 561 (2) : 203-211.
 - 72) Blanco M, Lizasoain I, Sobrino T, Vivancos J, Castillo J : Ischemic preconditioning : a novel target for neuroprotective therapy. *Cerebrovasc Dis* 2006 ; 21 (Suppl 2) : 38-47.
 - 73) Schuknecht HF : Idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Pathology of the Ear*. Harvard University Press 1974 ; 473-479.
 - 74) Schuknecht HF, Donovan ED : The pathology of idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Arch Otorhinolaryngol* 1986 ; 243 : 1-15.
 - 75) Begal A : The effects of vascular occlusion on the human inner ear. *J Laryngol Otol* 1979 ; 93 : 955-968.
 - 76) Nadol JB Jr : Patterns of neural degeneration in the human cochlea and auditory nerve : implications for cochlear implantation. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1997 ; 117 (3) : 220-228.
 - 77) 中井義明 : 突発性難聴の臨床. *耳鼻臨床* 1992 ; 85 (5) : 844-845.

- 78) Merchant SN, Adams JC, Nadol JB Jr : Pathology and pathophysiology of idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Otol Neurotol* 2005 ; 26 (2) : 151-160.
- 79) Hegarty JL, Patel S, Fischbein N, Jackler RK, Lalwani AK : The value of enhanced magnetic resonance imaging in the evaluation of endocochlear disease. *Laryngoscope* 2002 ; 112 : 8-17.
- 80) Fitzgerald DC, Mark AS : Viral cochleitis with gadolinium enhancement of the cochlea on magnetic resonance imaging scan. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1999 ; 121 (1) : 130-132.
- 81) Lavi ES, Sklar EM : Enhancement of the eighth cranial nerve and labyrinth on MR imaging in sudden sensorineural hearing loss associated with human herpesvirus 1 infection : case report. *Am J Neuroradiol* 2001 ; 22 (7) : 1380-1382.
- 82) Sugiura M, Naganawa S, Teranishi M, Sato E, Kojima S, et al : Inner ear hemorrhage in systemic lupus erythematosus. *Laryngoscope* 2006 ; 116 (5) : 826-828.
- 83) Sugiura M, Naganawa S, Teranishi M, Nakashima T : Three-dimensional fluid attenuated inversion recovery magnetic resonance imaging findings in patients with sudden sensorineural hearing loss. *Laryngoscope* 2006 ; 116 : 1451-1454.
- 84) Tsushima Y, Taketomi-Takahashi A, Endo K : The posterior communicating arteries in the patients with sudden deafness : evaluation with magnetic resonance imaging (MRA). *BMC Ear Nose Throat Disord* 2006 ; 6 : 5.
- 85) De Felice C, De Capua B, Tassi R, Mencattini G, Passali D : Non-functioning posterior communicating arteries of circle of Willis in idiopathic sudden hearing loss. *Lancet* 2000 ; 356 (9237) : 1237-1238.
- 86) Van Prooyen-Keyzer S, Sadik JC, Ulanovski D, Parmantier M, Ayache D : Study of the posterior communicating arteries of the circle of Willis in idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Otol Neurotol* 2005 ; 26 (3) : 385-386.
- 87) Grgic M, Petric V, Grgic MP, Demarin V, Pegan B : Doppler ultrasonography of the vertebrobasilar circulation in patients with sudden sensorineural hearing loss. *J Otolaryngol* 2005 ; 34 (1) : 51-59.
- 88) Miller JM, Marks NJ, Goodwin PC : Laser Doppler measurements of cochlear blood flow. *Hear Res* 1983 ; 11 (3) : 385-394.
- 89) Nakashima T, Suzuki T, Morisaki H, Yanagita N : Measurement of cochlear blood flow. *Laryngoscope* 1992 ; 102 : 1308-1310.
- 90) Selmani Z, Pyykko I, Ishizaki H, Marttila TI : Cochlear blood flow measurement in patients with Meniere's disease and other inner ear disorders. *Acta Otolaryngol* 2001 ; Suppl 545 : 10-13.
- 91) Rudack C, Langer C, Junker R : Platelet GPlac807T polymorphism is associated with negative outcome of sudden hearing loss. *Hear Res* 2004 ; 191 (1-2) : 41-48.
- 92) Rudack C, Langer C, Stoll W, Rust S, Walter M : Vascular risk factors in sudden hearing loss. *Thromb Haemost* 2006 ; 95 (3) : 454-461.
- 93) Capaccio P, Ottaviani F, Cuccarini V, Ambrosetti U, Fagnani E, et al : Sudden hearing loss and MTHFR 677C>T/1298A>C gene polymorphisms. *Genet Med* 2005 ; 7 (3) : 206-208.
- 94) Gorur K, Tuncer U, Eskandari G, Ozcan C, Unal M, et al : The role of factor V Leiden and prothrombin G20210A mutations in sudden sensorineural hearing loss. *Otol Neurotol* 2005 ; 26 (4) : 599-601.
- 95) Cadoni G, Scipione S, Rocca B, Agostino S, La Greca C, et al : Lack of association between inherited thrombophilic risk factors and idiopathic sudden sensorineural hearing loss in Italian patients. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2006 ; 115 (3) : 195-200.
- 96) Nam SI, Ha E, Jung KH, Baik HH, Yoon SH, et al : IL4 receptor polymorphism is associated with increased risk of sudden deafness in Korean population. *Life Sci* 2006 ; 78 (6) : 664-667.

I. 序論

2. 虚血による脳神経細胞死とその分子機構

1. はじめに

脳の重量は体重の2%に過ぎないが、心拍出量の約15%の循環血液供給を受けており、全身で消費する酸素の20%、ブドウ糖の65%を消費する。このように巨大な代謝器官である脳は、そのエネルギーをほぼ全面的にブドウ糖代謝に依存しているが、脳組織にはグリコーゲンはずかしか存在せず、エネルギーはほとんど蓄積されていない。このため脳への血流が途絶するとブドウ糖代謝が維持できず、短時間のうちに神経細胞は死滅する。実際、脳血流が数秒間、途絶えるだけで意識がなくなる。脳血流が約10分間途絶えると、細胞内のエネルギーが枯渇し、恒常性（ホメオスタシス）を維持できず、神経細胞の構造は崩壊し急速に細胞死（ネクロシス）に陥る¹⁾。一方、不可逆的な急性神経細胞死（ネクロー

シス)ではなく、エネルギー代謝がある程度保たれた軽度虚血による神経細胞死の病態解明も進み、現在、治療法開発とも関連して精力的に研究が行われている²⁾。

2. Ischemic penumbraについて

1977年、Astrupらはヒヒの中大脳動脈閉塞モデルにおいて、体性感覚誘発電位が消失する脳血流閾値(15-20ml/100g/min:正常の30~40%)は、細胞膜が損傷されて細胞外カリウム濃度が急上昇する脳血流閾値(6ml/100g/min:正常の12%)よりも高いことを明らかにし、これら両者の間の血液灌流状態(正常の12%から30~40%の血流状態)をischemic penumbraと名付けた³⁾。これは「神経機能障害がおこる脳血流低下状態」を虚血と定義し、こ

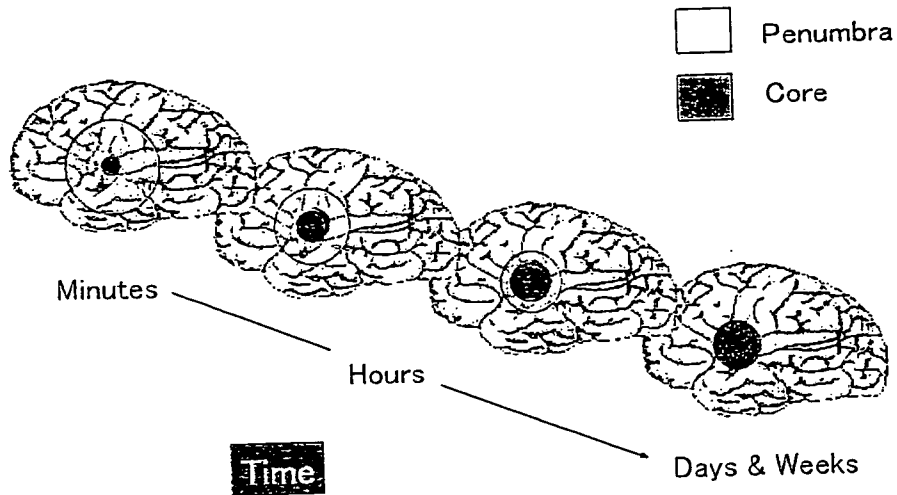


図1 脳梗塞後の障害範囲

虚血周辺部の penumbra領域は時間経過と共に縮小するが、梗塞中心部のcore領域は増大する。すなわち患者の神経機能は回復し症状は改善するが、梗塞病変は増大する。(Dirnagl²⁾より改図)

れを更に「細胞膜イオンポンプが障害される脳血流閾値」を境として2つの病態に分類するという優れた概念であった。しかしAstrupらの示した脳血流閾値には虚血の持続時間に関する情報が示されていない。すなわち脳虚血による組織障害は、脳虚血の程度と持続時間の双方に依存しており、虚血持続時間が長いほど細胞膜障害がおこる血流閾値は低い。実際、脳血流量が正常の30%にまで低下した場合、当初は電気生理学的障害だけであるが、虚血時間が数時間に長引くと細胞膜損傷が引き起こされる⁴⁾。その後、ischemic penumbraの概念は「神経機能は障害されているが組織の形態学的構造は保たれている領域」、「そのままでは脳梗塞になるが、再灌流等の方法により脳梗塞への進展を免れうる領域」、「エネルギー代謝は保たれているが、蛋白合成能が障害されている領域」などと様々な定義で捉えられてきた。それぞれの概念が示すischemic penumbraの病態は必ずしも同一ではないが、一般的には「脳梗塞周囲の障害領域で、治療により回復しうる領域」を意味する用語として使用されている。なお、ischemic penumbraの状態にある組織の範囲は虚血初期には広いが、時間と共に回復する部分と死滅する部分とに分かれ、急速に縮小する(図1)。マウスを用いた局

所脳虚血モデルでは約24時間でischemic penumbraは消失する⁵⁾。

3. 脳虚血における神経細胞死のメカニズム

1) 興奮性アミノ酸・カルシウムのoverload

ある程度、エネルギー代謝が保たれた軽度虚血状態における神経細胞死のメカニズムとして、最も重要なのは興奮性アミノ酸・カルシウムによるoverload障害である。高度虚血の場合、エネルギー不全によりATPが枯渇してNa/K ATPaseの機能が停止するため、細胞膜は本来の電位勾配が維持できず脱分極をきたす。その結果、電位依存性イオンチャンネルが開放され、細胞内への過剰なCa²⁺の流入に加え、Na⁺や水の流入もおこり、細胞は浸透圧性破壊を受けて細胞死(ネクローシス)に至る。一方、ネクローシスが起こらない軽度虚血の場合、細胞膜の脱分極により、シナプス小胞に含まれたグルタミン酸だけでなく、細胞内の代謝プールに存在するグルタミン酸も大量にシナプス間隙に放出される。さらにグルタミン酸トランスポーターの逆転送によりアストロサイトからもグルタミン酸が放出され、その結果、シナプス間隙には過剰量のグルタミン酸が放出され

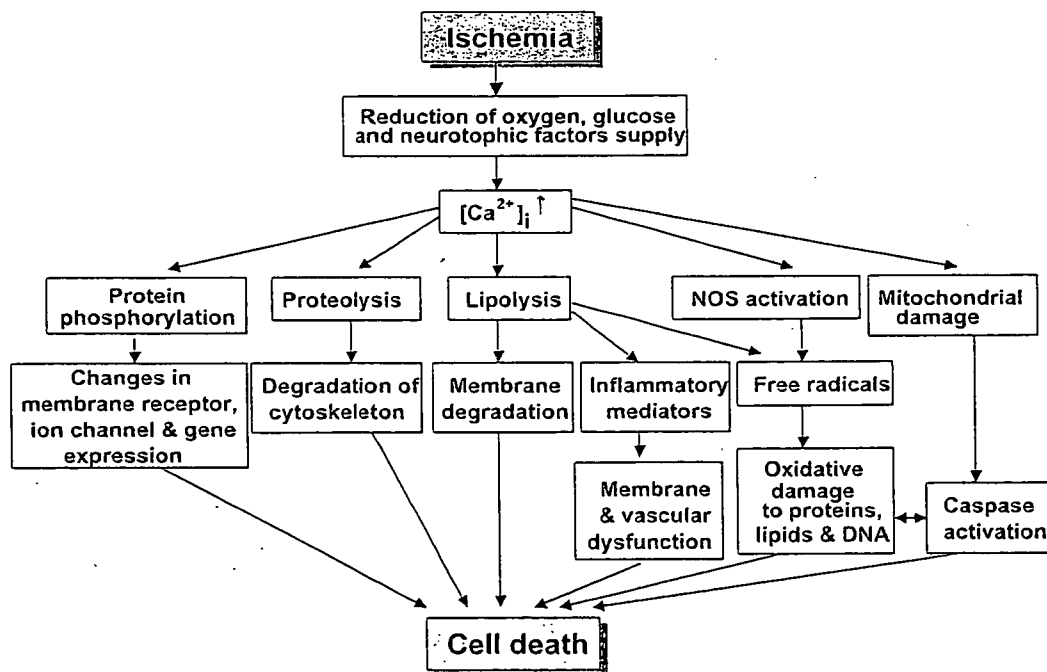


図2 興奮性アミノ酸、カルシウムoverload障害による神経細胞死の分子機構

ることになる。神経細胞のシナプス後膜には3種類のグルタミン酸受容体(NMDA型、AMPA型、代謝型)が豊富に存在しており、このうち2種類のイオン型グルタミン酸受容体(NMDA型、AMPA型)の活性化により Ca^{2+} と Na^+ が細胞内に流入し、 K^+ が細胞外に流出する。また代謝型グルタミン酸受容体の活性化によりホスホリパーゼC・IP3系が活性化され、小胞体から細胞質へ Ca^{2+} が放出され、細胞内の Ca^{2+} 濃度がさらに上昇する。細胞内の Ca^{2+} 濃度上昇は蛋白分解酵素(カルパインなど)、ホスホリパーゼA2、NO合成酵素、エンドヌクレアーゼ、さらに転写因子を活性化し、活性酸素産生と蛋白リン酸化を亢進させ、蛋白合成を障害して、細胞死に至ると考えられている(図2)⁶⁾。

2) 活性酸素

虚血部位ではミトコンドリアの電子伝達系の障害や、ホスホリパーゼA2の活性化に伴うアラキドン酸の蓄積、キサンチン脱水素酵素のキサンチン酸化酵素への変換など、活性酸素産生の素地が形成される。虚血時、血管内では好中球が活性化されるとともに、NADPHオキシダーゼからスーパーオキシドが産生され、血管内皮を障害する。その結果、抗凝固系を抑制し、血管透過性を亢進させ、脳浮腫をきたして2次性脳障害をもたらす。再灌流時には活性酸素産生の予備状態にあった神経細胞に大量の酸素が供給されるため、活性酸素が爆発的に産生され、細胞膜や細胞質、ミトコンドリアにおける蛋白質、膜脂質、核酸に直接障害を与える。さらに活性酸素は、細胞内・細胞間情報伝達物質としての Ca^{2+} や、細胞膜から遊離した脂質セラミド、アポトーシス促進遺伝子産物であるBaxなどと共に働いて、ミトコンドリア電子伝達系のATP産生を阻害し、ミトコンドリア膜電位を低下させてアポトーシスを誘導すると考えられている⁷⁾。

一方、このようなメカニズムの他に、活性酸素は血管内皮を損傷し、血球成分(特に白血球)の活性化、赤血球や血小板凝集による微小血栓の形成、細胞接着分子やサイトカインを介した血管内皮細胞の活性化、白血球の集積浸潤などを通して虚血障害を増悪させる。さらに血流が再開されると急速に浮腫が進

行し、毛細血管を圧迫して微小循環を障害し、虚血後低灌流をきたすことで脳障害を増幅する⁹⁾。

3) 一酸化窒素(NO)

NOは保護作用と障害作用の両方の性質を有しており、虚血時の作用メカニズムは単純ではない。一般に脳組織内のNO濃度が $2\mu\text{M}$ 未満の比較的低濃度の時は保護作用が強く、 $10\mu\text{M}$ 以上の高濃度の場合は障害作用が強いとされている。NOは生体内ではnNOS、iNOS、eNOSと呼ばれる3種類のNO合成酵素(NOS)によって合成される。このうちNOによる組織障害にはnNOSとiNOSが関与する⁹⁾。脳虚血が生じると、グルタミン酸の過剰放出に伴い神経細胞内の Ca^{2+} 濃度が上昇し、虚血後1~4時間で Ca^{2+} /Calmodulin依存性の神経型NO合成酵素(nNOS)が活性化され NO^- が産生される。一方、マクロファージなどの炎症系細胞ではサイトカインなどの刺激を受け、虚血後1~2日で白血球や活性化マイクログリア等において誘導型NO合成酵素(iNOS)が活性化され、 Ca^{2+} 非依存性に NO^- を産生する。さらに虚血後6~24時間で微小血管に血管型NO合成酵素(eNOS)の活性化がみられ、 NO^- を産生する⁹⁾。NOによる障害作用の主な標的はミトコンドリアと考えられる。NOはcytochrome C oxidaseを阻害し、ミトコンドリア電子伝達系を還元型に移行させ O_2^- 産生を促進する。低い NO^- レベルでは O_2^- 産生は H_2O_2 を誘導するが、高い NO^- レベルでは活性酸素の中で最も毒性の強いONOO⁻を誘導する。ONOO⁻はミトコンドリア電子伝達系を抑制するので、ATPは枯渇し細胞死(ネクロシス)が誘導される。さらに活性酸素誘発性のER stress、脂質過酸化、DNA障害などによりミトコンドリア依存性の細胞死(アポトーシス)が促進される。一方、NOには、脳血管拡張、脳血流の増加、血小板凝集抑制、白血球の粘着抑制などの作用があり、これらの機序を通して微小循環を改善し、細胞保護効果を示すことが知られている。NOによる神経保護作用にはeNOSが関与するという¹⁰⁾。

4) 転写因子、炎症、その他

脳虚血周囲のpenumbra領域では通常の蛋白合成が抑制されると同時に、一連の虚血関連因子が活性化

される。まずc-fos、c-jun、ATF、CREBといった immediate early genes (IEG) や転写調節因子が活性化され、多岐にわたる遺伝子群の発現調節に関与している。次いでHSP72といった熱ショック蛋白やGDNF、BDNF、VEGF、IGF-1などの神経栄養因子、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、MCP-9といった炎症性サイトカイン、ICAM、ELAM-1、p-selectinなどの接着因子が次々と活性化されていく¹¹⁾。これら様々な分子メカニズムを介して虚血障害は増悪や防御などの作用を受け、病像は修飾されていく。

4. おわりに

虚血性神経細胞死の機序には、上述のように様々な因子が関与している。これらの因子による直接の影響に加え、活性化マイクログリアやアストロサイト、血管内皮、虚血組織へ浸潤する好中球やマクロファージといった神経細胞以外の細胞も、時間的・空間的に重なり合いながら脳虚血障害の進行または修復に関与している。すなわち虚血性神経細胞死は虚血のタイプ、部位、時間によって様相が異なる複雑なメカニズムによるものと考えられる。

(秦 龍二)

参考文献

- 1) Macdonald RL, Stoodley M : Pathophysiology of cerebral ischemia. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 1998 ; 38 : 1-11.
- 2) Dirnagl U, Iadecola C, Moskowitz MA : Pathobiology of ischaemic stroke : an integrated view. *Trends Neurosci* 1999 ; 22 : 391-397.
- 3) Astrup J, Symon L, Branston NM, Lassen NA : Cortical evoked potential and extracellular K⁺ and H⁺ at critical levels of brain ischemia. *Stroke* 1977 ; 8 : 51-57.
- 4) Jones TH, Morawetz RB, Crowell RM, Marcoux FW, FitzGibbon SJ, et al : Thresholds of focal cerebral ischemia in awake monkeys. *J Neurosurg* 1981 ; 54 : 773-782.
- 5) Hata R, Maeda K, Hermann D, Mies G, Hossmann KA : Dynamics of regional brain metabolism and gene expression after middle cerebral artery occlusion in mice. *J Cereb Blood Flow Metab* 2000 ; 20 : 306-315.
- 6) Tauskela JS, Morley P : On the role of Ca²⁺ in cerebral ischemic preconditioning. *Cell Calcium* 2004 ; 36 : 313-322.
- 7) Taylor JM, Crack PJ : Impact of oxidative stress on neuronal survival. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2004 ; 31 : 397-406.

- 8) Fagan SC, Hess DC, Hohnadel EJ, Pollock DM, Ergul A : Targets for vascular protection after acute ischemic stroke. *Stroke* 2004 ; 35 : 2220-2225.
- 9) Moro MA, Cardenas A, Hurtado O, Leza JC, Lizasoain I : Role of nitric oxide after brain ischaemia. *Cell Calcium* 2004 ; 36 : 265-275.
- 10) Endres M, Laufs U, Liao JK, Moskowitz MA : Targeting eNOS for stroke protection. *Trends Neurosci* 2004 ; 27 : 283-289.
- 11) Hossmann KA : Pathophysiology and therapy of experimental stroke. *Cell Mol Neurobiol* 2006 ; 26 : 1055-1081.

虚血耐性

1. 虚血耐性 (ischemic tolerance)

近年の脳虚血に関する研究によると、致死的な脳虚血を負荷する前に予めストレスとなる軽微な虚血を負荷しておく、脳組織の障害は軽減され死滅を免れる。軽微な先行虚血によりその後の虚血障害が起こりにくくなる現象は虚血耐性現象 (ischemic tolerance) と呼ばれる¹⁾。この現象を誘導するには軽微な虚血を1日以上前に負荷しておく必要がある。一度誘導された効果は1~2週間持続する。当初、虚血耐性現象は一過性前脳虚血モデル (スナネズミ、ラット) の海馬CA1領域の神経細胞で認められたが、その後、海馬以外の領域 (大脳皮質、線条体) でも確認されている²⁾。さらに中大脳動脈の一過性閉塞モデルでも、短時間の先行閉塞を負荷しておく、中大脳動脈閉塞による神経症状が著しく軽減され脳梗塞サイズも縮小することが分かり³⁾、脳組織は虚血という破滅的な病態に対抗する手段を保持していることが判明した。すなわち、虚血耐性現象は脳虚血の範囲や場所によらない普遍的な現象と考えることができる。また、培養神経細胞の実験でも、あらかじめ軽度の低酸素・低グルコース負荷を加えておくと、その後に加わる負荷に対して抵抗性を獲得することが証明されており⁴⁾、虚血耐性現象は細胞レベルでも存在することが明らかとなっている。

2. 交差耐性 (cross tolerance) と遠隔耐性 (remote tolerance)

虚血耐性現象において先行負荷する非致死性的ストレスは必ずしも虚血である必要はない。低酸素や高体温、活性酸素、脱分極刺激 (cortical spreading depression) など虚血以外のストレスを先行負荷しても脳は虚血耐性を獲得する。このような虚血以外の刺激が虚血障害を軽減する現象は交差耐性 (cross tolerance) と呼ばれ⁵⁾、ストレスの種類によらず同じ効果が得られることから、共通のシグナル伝達機構を介した細胞障害防御メカニズムの存在が示唆される。この効果を得るには、虚血耐性の場合と同様、

脳虚血負荷の24時間以前に先行負荷を加える必要がある。交差耐性による脳虚血障害防御効果は虚血耐性の場合よりも弱いことが多いが、臨床的観点から安全に虚血耐性が誘導できる手段として注目されている。すでに、各種の炎症性サイトカインや麻酔薬、代謝阻害薬などにも虚血耐性誘導効果のあることが示され、また四肢の虚血や運動負荷が虚血耐性を誘導することも分かっており、これらを利用した臨床応用に向けた取り組みも進められている。

遠隔耐性 (remote tolerance) とは先行虚血と後発虚血の部位が異なる場合の虚血耐性のことであり、たとえば四肢の虚血や運動負荷により脳での虚血耐性が得られる現象をいう。この場合、脳自身は直接ストレスに曝らされない、四肢から虚血耐性誘導シグナルが放出され、これが脳に伝わって虚血耐性が獲得されると考えられている。

3. 心筋虚血プレコンディショニング (ischemic preconditioning)

脳における虚血耐性と似た現象は心臓では ischemic preconditioning として知られている。最初の ischemic preconditioning の論文は犬を用いた短時間の心筋虚血の報告⁶⁾であり、あらかじめ短時間の非致死的な心筋虚血を加えておくと、その後の本来致死的な心筋虚血に対して耐性を持つというものである。その後の研究により、心筋の ischemic preconditioning には2種類の耐性機構の存在が明らかとなっている⁷⁾。第1は非致死的な虚血負荷後24時間目から発現し、72時間ほど持続する delayed ischemic preconditioning であり、この現象は蛋白合成阻害剤の投与により抑制されることから、脳の虚血耐性と同様、新たな蛋白合成を介した機序によると考えられる。第2は非致死的な虚血負荷後1時間以内に発現する rapid ischemic preconditioning で、その効果は数時間持続する。この現象にはイオンチャネルの透過性変化や蛋白質のリン酸化による活性化などの、新たな蛋白合成を伴わないメカニズムの

関与が推定されている。最近、脳虚血モデルや培養神経細胞の低酸素負荷モデルでも、rapid ischemic preconditioningと同様の現象がみられると報告されており、脳組織でも遺伝子発現を介さない虚血耐性機構の存在が示唆されている^{8) 9)}。

4. 虚血耐性の分子機構

脳虚血により正常の細胞維持機構が障害されると、神経細胞終末よりグルタミン酸が過剰放出される。この結果、各種のイオン型グルタミン酸受容体(NMDA型、AMPA型など)や電位依存性イオンチャンネルが開き、ナトリウムとカルシウムイオンが細胞内に流入し、カリウムが細胞外に流出する。ナトリウムイオンの流入に伴い、水も流入し浮腫の原因となる。一方、カルシウムイオンの流入により、細胞内のカルシウム濃度が上昇する。また代謝型グルタミン酸受容体の活性化によりホスホリパーゼC・IP3系が活性化し、小胞体から細胞質へカルシウムイオンが放出され、細胞内のカルシウム濃度が更に上昇する。細胞内のカルシウム濃度上昇は蛋白分解酵素(カルパインなど)、ホスホリパーゼA2、NO合成酵素、エンドヌクレアーゼ、さらに転写因子を活性化し、活性酸素産生と蛋白リン酸化を亢進させ、蛋白合成を障害して、細胞死に至ると考えられる¹⁰⁾。一方、血流再開後には微小循環障害、脳浮腫、活性酸素産生、炎症関連酵素やアポトーシス関連酵素の活性化などが起こり、更にmatrix metalloproteinase(MMP)などプロテアーゼ関連酵素や、TGF- β などの組織修復関連蛋白の発現もみられ、これらが障害増強や軽減に働き虚血障害の病像を修飾する¹¹⁾。

虚血耐性を獲得するには、まず虚血刺激がなんらかの分子センサーにより認識される必要がある。これまでの研究から、各種のイオンチャンネルや神経伝達物質、サイトカイン、redox-sensitive酵素、toll-like receptorなどが分子センサーとして同定されており、これらが刺激を受けて細胞内情報伝達系が活性化され虚血耐性獲得に至ると考えられる。この際、活性化される細胞内情報伝達系としては、MAPK系、Akt系、protein kinase C- ϵ isoform、mitochondrial ATP-sensitive K channelなどが報告さ

れている。さらにNOや活性酸素、ATPの分解産物であるアデノシンも細胞内情報伝達物質として耐性獲得に関与している³⁾。

虚血耐性現象には新たな蛋白合成機序が関与することから、転写因子の活性化とそれによる遺伝子発現の調節機序が耐性獲得に重要な役割を果たすと考えられる。たとえば低酸素や虚血に反応する転写因子としてはAP1、CREB、NF- κ B、SP1などが知られているが、最も作用機序解明の進んだ転写因子としてhypoxia-inducible factor(HIF)を挙げることができる。低酸素・虚血によりHIFが活性化されると、VEGF、エリスロポイエチン、解糖系酵素やグルコーストランスポーターの遺伝子発現も増大し、これらが協調して虚血耐性獲得に働くという¹²⁾。その他、抗酸化酵素(Mn-SOD)やアポトーシス抑制遺伝子(Bcl2、Bcl-xL、IAPなど)、熱ショック蛋白質(HSP72、HSP110など)も先行虚血後に発現することが知られており、これらの物質が虚血耐性獲得に関与していることも報告されている。さらに本来は細胞障害性に作用する炎症性サイトカインや炎症関連酵素、カスパーゼなども先行虚血後に誘導されること、これらの発現を抑制すると虚血耐性が減弱すること、などから細胞障害メカニズムも何らかの形で虚血耐性形成の一翼を担っていると推察される¹³⁾。いずれにしろ、虚血耐性の獲得には複雑な分子機構が関与しており、全容の解明が待たれる。

5. 血管虚血耐性 (Vascular ischemic tolerance)

血管内皮や平滑筋も脳の虚血耐性現象に関与している。すなわち、予め非致死的な脳虚血を負荷しておくことで血管機能が強化されるため¹⁴⁾、後発虚血負荷後も血管拡張能は保たれ低灌流状態は改善される¹⁵⁾。先行虚血の作用メカニズムとして、セレクチン等の接着分子の血管内皮での発現が低下するので白血球の組織内侵入が抑制される(特に単球の活性化が抑制される)機序や、血管内皮型NO合成酵素の活性化により血管機能が強化される機序が想定されている。また血管内皮でのNF- κ Bの活性化やVEGFの発現亢進、さらには血管内皮特異的な抗アポトーシス機

(つづく)

構の活性化も、血管新生促進作用などを介して虚血耐性に関与すると考えられている³⁾。

6. グリア細胞虚血耐性 (Glial ischemic tolerance)

脳内のアストロサイトも虚血耐性に関与する¹⁶⁾。予め非致死的な脳虚血を負荷しておくこと、アストロサイトによる神経支持機構や血液脳関門の支持機構、フリーラジカル除去機構などが活性化され、周囲の神経細胞に対して虚血耐性効果を高めることが知られている。またTGF- β 、BDNF、GDNF、VEGF、エリスロポイエチンなどの栄養因子やIL-10などの抗炎症性サイトカイン、さらにはHSP27、32などのheat shock proteinも、先行脳虚血によりアストロサイトでの発現が促進されることが証明されており、アストロサイトの虚血耐性への関与は疑う余地がない。

(秦 龍二)

参考文献

- 1) Kitagawa K, Matsumoto M, Tagaya M, Hata R, Ueda H, et al : 'Ischemic tolerance' phenomenon found in the brain. *Brain Res* 1990 ; 528 : 21-24.
- 2) Kitagawa K, Matsumoto M, Kuwabara K, Tagaya M, Ohtsuki T, et al : 'Ischemic tolerance' phenomenon detected in various brain regions. *Brain Res* 1991 ; 561 : 203-211.
- 3) Chen J, Graham SH, Zhu RL, Simon RP : Stress proteins and tolerance to focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 1996 ; 16 : 566-577.
- 4) Bruer U, Weih MK, Isaev NK, Meisel A, Ruscher K, et al : Induction of tolerance in rat cortical neurons : hypoxic preconditioning. *FEBS Lett* 1997 ; 414 : 117-121.
- 5) Gidday JM : Cerebral preconditioning and ischaemic tolerance. *Nat Rev Neurosci* 2006 ; 7 : 437-448.
- 6) Murry CE, Jennings RB, Reimer KA : Preconditioning with ischemia : a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986 ; 74 : 1124-1136.
- 7) Das DK, Maulik N : Cardiac genomic response following preconditioning stimulus. *Cardiovasc Res* 2006 ; 70 : 254-263.
- 8) Atochin DN, Clark J, Demchenko IT, Moskowitz MA, Huang PL : Rapid cerebral ischemic preconditioning in mice deficient in endothelial and neuronal nitric oxide synthases. *Stroke* 2003 ; 34 : 1299-1303.
- 9) Meller R, Cameron JA, Torrey DJ, Clayton CE, Ordonez AN, et al : Rapid degradation of Bim by the ubiquitin-proteasome pathway mediates short-term ischemic tolerance in cultured neurons. *J Biol Chem* 2006 ; 281 : 7429-7436.
- 10) Dirnagl U, Iadecola C, Moskowitz MA : Pathobiology of ischaemic stroke : an integrated view. *Trends Neurosci* 1999 ; 22 : 391-397.
- 11) Sugawara T, Fujimura M, Noshita N, Kim CW, Saito A, et al : Neuronal death/survival signaling pathways in cerebral ischemia. *NeuroRx* 2004 ; 1 : 17-25.
- 12) Dirnagl U, Simon RP, Hallenbeck JM : Ischemic tolerance and endogenous neuroprotection. *Trends Neurosci* 2003 ; 26 : 248-254.
- 13) Kariko K, Weissman D, Welsh FA : Inhibition of toll-like receptor and cytokine signaling—a unifying theme in ischemic tolerance. *J Cereb Blood Flow Metab* 2004 ; 24 : 1288-1304.
- 14) Nakamura H, Katsumata T, Nishiyama Y, Otori T, Katsura K, et al : Effect of ischemic preconditioning on cerebral blood flow after subsequent lethal ischemia in gerbils. *Life Sci* 2006 ; 78 : 1713-1719.
- 15) Bastide M, Gele P, Petraut O, Pu Q, Caliez A, et al : Delayed cerebrovascular protective effect of lipopolysaccharide in parallel to brain ischemic tolerance. *J Cereb Blood Flow Metab* 2003 ; 23 : 399-405.
- 16) Trendelenburg G, Dirnagl U : Neuroprotective role of astrocytes in cerebral ischemia : focus on ischemic preconditioning. *Glia* 2005 ; 50 : 307-320.

第II章 内耳虚血の病態

1. 内耳虚血と動物モデル

1) 内耳虚血研究のための動物モデル

コラム「5分虚血と遅発性有毛細胞死」

2. 一過性虚血による内耳病変

1) 難聴とコルチ器の病変

2) 有毛細胞障害とアポトーシス

3) 血管条・ラセン靭帯の障害

4) ラセン神経節の障害



スナネズミ

従来、内耳虚血に関する実験動物の多くは迷路動脈を遮断することにより行われてきたが、隣接する蝸牛神経を損傷する可能性が高い上、開頭操作が必要なので動物を長期間、生かすことが困難であった。このため内耳虚血障害の長期的影響についての報告は少ない。

特殊な脳血管構造を有するスナネズミを用いて、開頭せずに一過性内耳虚血が誘導できる動物モデルを開発し、虚血負荷によりどの程度の難聴が生じ、また内耳各部位でどのような変化が起こるかを、経時的に検討した。

II. 内耳虚血の病態 1. 内耳虚血と動物モデル

1) 内耳虚血研究のための動物モデル

はじめに

古くから突発性難聴の原因の一つとして内耳虚血が挙げられ、その病態解明と治療法開発を目指して多くの動物実験が行われてきた。内耳は側頭骨の中に存在し頭蓋の内側から動脈支配を受けているので、解剖学的に栄養血管へのアプローチは難しい。このため研究者は各人各様の工夫を凝らし実験目的に応じた動物モデルを作成している。実際の研究に当たっては、実験目的を明確にした上で、それに適した解剖学的あるいは生理学的特性を持つ動物モデルを選択（あるいは作成）することが肝要で、どのモデルを用いるかにより研究精度は大きく左右される。

本章では内耳虚血研究のためにこれまでに開発された動物モデルの概要を述べるとともに、われわれが研究に使用している一過性内耳虚血モデルの作成法と特徴を概説する。

内耳栄養動脈の圧迫・凝固による方法

内耳は前下小脳動脈 (anterior inferior cerebellar artery: AICA) の分枝である迷路動脈 (labyrinthine artery) の血管支配を受けていることから、内耳虚血に関する実験の多くは、前下小脳動脈あるいは迷路動脈の血流を遮断することにより研究されてきた。Kimuraらはモルモットの迷路動脈を凝固し、不可逆的な内耳虚血モデルを作成している。血流遮断後の蝸牛を組織学的に検討したところ、蝸牛組織は急速、広範囲に損傷され壊死 (ネクローシス) をきたしていたと述べている¹⁾。Perlmanらは、マイクロマニピュレーターに取り付けた探針で迷路動脈を圧迫する方法で、モルモットに内耳虚血を惹起している²⁾。蝸電図を測定して内耳機能への影響を検討したところ、蝸牛マイクロホン電位 (cochlear microphonics, CM)、

蝸牛神経複合活動電位 (compound action potential, CAP) はともに低下したと報告している。Konishiらはモルモットのの前下小脳動脈をPerlmanらと同じ方法で一時的 (1~60分) に閉塞し、その後圧迫を解除することによって血流を再開通させ、一過性内耳虚血を負荷している³⁾。その結果、CM、SP (summing potential)、EP (endocochlear potential) の値は、いずれも虚血により急激に低下したが、再開通とともに徐々に回復したと述べている。これら3つの報告は血流遮断による内耳虚血モデルの基本とされ、以降、これらの手法を用いて多くの研究が行われてきた^{4) 5) 6) 7)}。

モルモット以外の動物を用いた研究も少なくない。ネコを用いた実験で、Bernsteinら⁸⁾は迷路動脈を閉塞して組織学的な検討を行い、またIto⁹⁾は迷路動脈にクリップをかけ動脈血流の閉塞・解除を行うことで一過性虚血の影響を検討している。一方、小動物を用いた実験も報告されている。Seidmanら¹⁰⁾はラットのの前下小脳動脈を電気凝固あるいは微小鉗子で挟むことによって内耳虚血を惹起している。Renら¹¹⁾はスナネズミの迷路動脈を1秒から5分間、微小鉗子で閉塞・解除することで一過性内耳虚血を惹起したと報告している。Suzukiら¹²⁾も同様の方法でマウスに一過性内耳虚血を誘導しその病態を研究している。これらの方法は明視下に血管を凝固または圧迫するため、一過性虚血から永久虚血までの負荷を加えることが可能である。また虚血を繰り返すこともできるため、虚血性内耳障害の病態解明に有用である。しかし、迷路動脈は内耳道内を走行しており、AICAも小脳橋角部に位置するため、隣接する蝸牛神経を損傷せずにアプローチすることが難しく、内耳栄養動脈のみを遮断するには熟練した技術を要する。またAICAの分枝である迷路動脈は上小脳動脈や後小脳動脈との間に吻合枝を持つことがあるため、AICA

閉塞では完全な内耳虚血にはならない⁸⁾という問題もある。さらに開頭操作が必要なため、小動物では衰弱し死亡することも多く、長期的な経過観察には適していない。Tsujiら¹³⁾のように、モルモットを用いて一過性内耳虚血後から蝸牛機能回復まで長期間にわたり聴力変化をみたとの報告もあるが、慢性実験には熟練した技術を要する。

血栓・塞栓形成による方法

1. 光増感反応法

光増感物質の1つであるローズベンガルにピーク波長540nmの緑色光を照射すると、スーパーオキシド(superoxide)などの活性酸素が発生する。この反応を血管内で起こすと、脂質過酸化反応により血管内皮が局所的に障害され、ここに血小板粘着やフィブリン凝集などが起こり、血栓が形成される。この光増感反応を利用して、Umemuraら¹⁴⁾はラットの蝸牛に、Kohnoら¹⁵⁾はラットの前庭に血栓を形成して、CAPの変化や血管条の組織変化、前庭機能への影響などを研究している。浅井ら¹⁶⁾はこの反応を前下小脳動脈の血栓形成に応用し、広範囲の壁在血栓による循環障害モデルを作成している。Iwasakiら¹⁷⁾はこの方法を応用して血管条に局限した内耳病変の作成に

成功している。本法の最大の長所は、動物への侵襲が少なく慢性実験が可能なこと、および目的部位に焦点を定めた限局性病変が作成できることである。しかし形成された血栓は永続的で、一過性虚血による病態研究には向かない。

2. 磁力による鉄粉塞栓法

Giebleら¹⁸⁾はカルボニル鉄粉を経心的に注入し、虚血を惹起したい部位に磁石を当てて血管内の鉄粉を引き寄せ塞栓を起こさせる方法を報告している。Schweinfurthら¹⁹⁾はこの方法を用いて内耳虚血時の歪成分耳音響反射(Distortion Product Otoacoustic Emission: DP-OAE)を測定し、虚血によりDP-OAEが消失することを報告している。本法は全身的な影響がなく慢性実験も可能と思われるが、光増感反応法ほど限局した塞栓は起こせない。

3. ビーズ注入法

Igarashiら²⁰⁾はリスザルの椎骨動脈から直接プラスチックのビーズを注入し、内耳毛細血管に塞まったところを組織学的に検討している。その結果、蝸牛第2回転から頂回転に塞栓が起こり易いことを報告している。この方法は全ての毛細血管にビーズが詰まるため、任意の部位を選択して虚血障害を起こすことはできないが、内耳の血流分布をみるには適したモデルといえる。

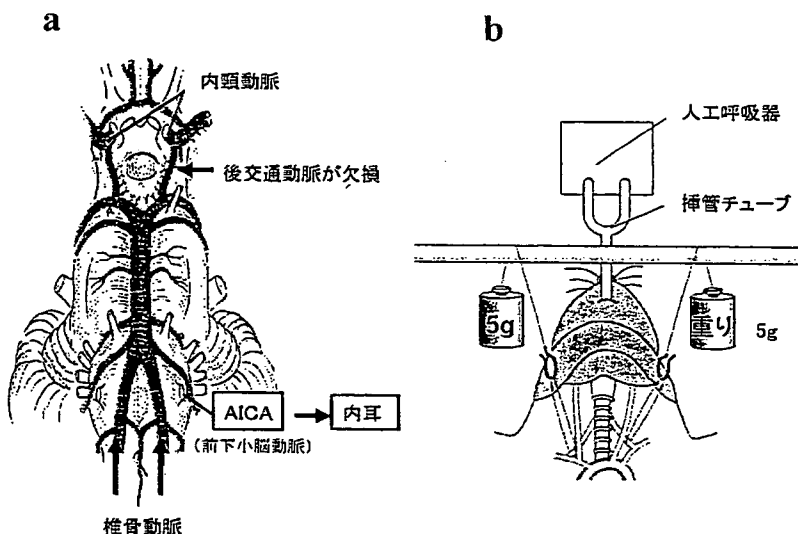


図1 一過性内耳虚血の動物モデル

a: スナネズミでは後交通動脈が欠損しているため、両側の椎骨動脈血流を遮断すると、内耳を含めた後脳に虚血がおこる。
b: 両側椎骨動脈血流の遮断法

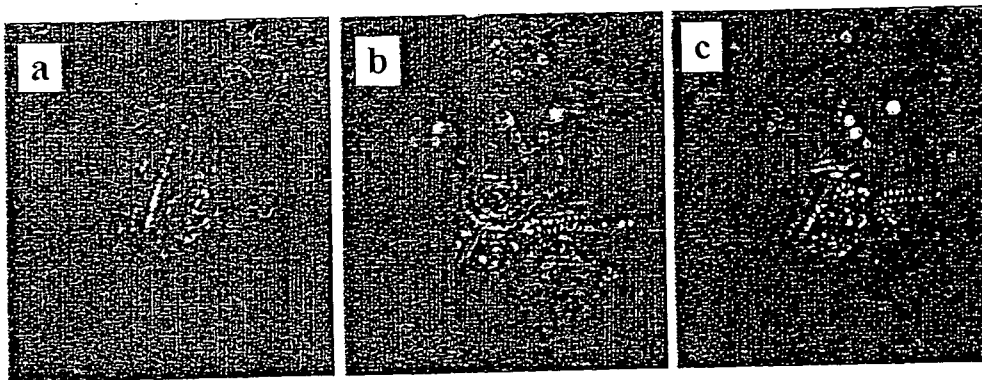


図2 椎骨動脈遮断の実際

a: 椎骨動脈を露出する、b: 血管に絹糸を掛ける、c: 絹糸を牽引し虚血を惹起する

椎骨動脈血流遮断による方法

Hataら²¹⁾はWillis動脈輪の後交通動脈が先天的に欠損しているスナネズミを用いて、両側の椎骨動脈血流を同時に遮断、再開通することで一過性後脳虚血モデルを作成した。スナネズミでは後脳虚血時に前下小脳動脈の血流が遮断されるので、同時に内耳血流も遮断される。われわれは過去10年余りこのスナネズミを用いて一過性内耳虚血の研究を行ってきた。以下、本法の概要とその長所、短所を要約する。

動物を専用実験台に固定し、酸素30%、笑気70%の混合ガスにハロセン3%を加えて全身麻酔を施した。経口挿管後に仰臥位にて前頸部皮膚切開を行い、顕微鏡下に両側の椎骨動脈を剥離し、4-0絹糸を動脈に掛け5gの重りによって牽引することで椎骨動

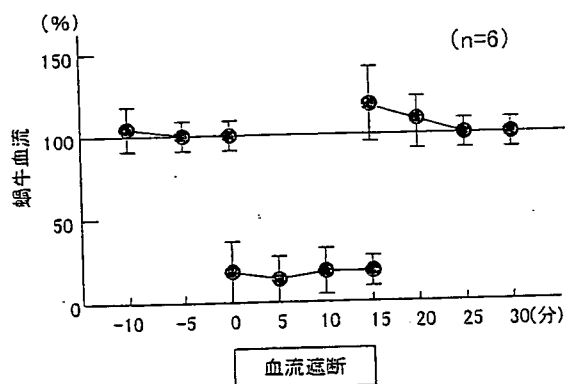


図3 虚血負荷前後の蝸牛血流量

虚血により蝸牛血流は著明に低下する。再開通すると血流は虚血前値に回復する。

脈の血流を遮断した(図1)。15分間の虚血負荷後に重りと絹糸を外し、顕微鏡下に椎骨動脈の血流再開を確認した。(図2)

虚血負荷前後の蝸牛血流量は、レーザードプラ血流計を用いて蝸牛基底回転側壁にレーザー光をあてて測定した。上述の方法で虚血負荷を加えると、虚血開始とほぼ同時に蝸牛血流は低下し、虚血中は低下した状態で安定していた。再開通直後は一旦、虚血前値以上となりオーバーシュートを示すが、まもなく虚血前の血流量に戻った。これにより確実に内耳虚血の起こっていることが分かる。(図3)

本法の長所としては、1) 開頭を必要としないので、長期間動物を生存させることができる、2) 蝸牛神経や中耳に触れないので、手術操作による聴覚系への影響が回避できる、などが挙げられる。一方、短所としては、1) 本モデルはスナネズミに限られる、2) 後脳虚血を起こすので長時間の虚血負荷ができず、15分程度の虚血が限界である、3) 脳幹や小脳にも虚血病変が起こる、4) 内耳全体が虚血を受け、任意の部位に限局した虚血が起こせない、などの問題がある。研究目的に合致すれば応用範囲の広い動物モデルといえる。

(兵頭 純)

参考文献

- 1) Kimura R, Perlman HB: Arterial obstruction of the labyrinth.

- I. Cochlear changes. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1958 ; 67 : 5-24.
- 2) Perlman HB, Kimura R, Fernandez C : Experiments on temporary obstruction of the internal auditory artery. *Laryngoscope* 1959 ; 69 : 591-613.
 - 3) Konishi T, Butler RA, Fernandez C : Effect of anoxia on cochlear potentials. *J Acoust Soc Am* 1961 ; 33 : 349-356.
 - 4) Kuasakari J, Kobayashi T, Rokugo M, Arakawa E, Kawamoto K : The effect of transient anoxia upon the cochlear potentials. *Auris Nasus Larynx* 1981 ; 8 : 55-64.
 - 5) Levine RA, Bu-Saba N, Brown MC : Laser-Doppler measurements and electrocochleography during ischemia of the guinea pig cochlea : implications for hearing preservation in acoustic neuroma surgery. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1993 Feb ; 102 : 127-136.
 - 6) Makino K, Morimitsu T : Effects of arterial occlusion on endocochlear DC potential and cochlear blood flow in guinea pigs. *Auris Nasus Larynx* 1994 ; 21 : 75-83.
 - 7) Tabuchi K, Kusakari J, Ito Z, Takahashi K, Wada T, et al : Effect of nitric oxide synthase inhibitor on cochlear dysfunction induced by transient local anoxia. *Acta Otolaryngol* 1999 ; 119 : 179-184.
 - 8) Bernstein JM, Silverstein H : Anterior cerebellar and labyrinthine arteries. *Arch Otolaryngol* 1966 ; 83 : 422-435.
 - 9) Ito H : Effects of circulatory disturbance on the cochlea. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 1991 ; 53 : 265-269.
 - 10) Seidman MD, Quirk WS : The anterior inferior cerebellar arterial network supplying the rat cochlea and its role in autoregulation of cochlear blood flow. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1992 ; 249 : 332-335.
 - 11) Ren T, Brown NJ, Zhang M, Nuttal AL, Miller JM : A reversible ischemia model in gerbil cochlea. *Hear Res* 1995 ; 92 : 30-37.
 - 12) Suzuki T, Ren T, Nuttal AL, Miller JM : Age-related changes in cochlear blood flow response to occlusion of anterior inferior cerebellar artery in mice. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1998 ; 107 : 648-653.
 - 13) Tsuji S, Ohkubo H, Hara A, Kusakari J : Long-term observations on the reversibility of cochlear dysfunction after transient ischemia. *Hear Res* 2002 ; 166 : 72-81.
 - 14) Umemura K, Kohno Y, Matsuno H, Uematsu T, Nakashima M : A new model for photochemically induced thrombosis in the inner ear microcirculation and the use of hearing loss as a measure for microcirculatory disorders. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1990 ; 248 : 105-108.
 - 15) Kohno Y, Umemura K, Asai Y, Uematsu T, Nakashima M : A new model of equilibrium dysfunction in the rat induced by photochemical damage to the inner ear's microcirculation. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1992 ; 249 : 283-286.
 - 16) 浅井美洋, 梅村和夫, 中島光好, 野末道彦 : 前下小脳動脈血栓によるラット難聴モデル *耳鼻臨床* 1992 ; 補60 : 155-159.
 - 17) Iwasaki S, Mizuta K, Gao J, Wu R, Hoshino T : Focal microcirculation disorder induced by photochemical reaction in the guinea pig cochlea. *Hear Res* 1997 ; 108 : 55-64.
 - 18) Giebel W, Schmidt G, Galic M, Winkler B : Occlusion of inner ear vessels by magnetic forces applied to circulating metallic iron particles. *Arch Otorhinolaryngol* 1985 ; 242 : 329-335.
 - 19) Schweinfurth JM, Cacace AT : Cochlear ischemia induced by circulating iron particles under magnetic control : an animal model for sudden hearing loss. *Am J Otol* 2000 ; 21 : 636-640.
 - 20) Igarashi M, Alford BR, Konishi S, Shaver EF, Guilford FR : Functional and histopathological correlations after microembolism of the peripheral labyrinthine artery in the dog. *Laryngoscope* 1969 ; Apr 79 : 603-623.
 - 21) Hata R, Matsumoto M, Hatakeyama T, Ohtsuka T, Niinobe M, et al : Differential vulnerability in the hindbrain neurons and local cerebral blood flow during bilateral vertebral occlusion in gerbils. *Neuroscience* 1993 ; 56 : 423-439.

5分虚血と遅発性有毛細胞死

1982年、Kirino¹⁾はスナネズミの脳血流を一過性に遮断すると海馬CA1領域の錐体ニューロンがゆっくりと細胞死に陥る現象を報告し、これを遅発性神経細胞死と名づけた。この遅発性細胞死は神経伝達物質であるグルタミン酸によってもたらされると考えられている。すなわち「虚血によって細胞外に放出された大量のグルタミン酸が、受容体を介して大量のCa²⁺を細胞内へ流入させることで細胞死に至る」というもので、これをグルタミン酸・カルシウム説と呼んでいる。これは脳以外であってもグルタミン酸受容体を有する細胞においては同様のメカニズムにより遅発性細胞死が起こり得ることを示唆している。

内耳でも、内有毛細胞と蝸牛神経間の神経伝達物質はグルタミン酸である²⁾とする説が有力であり、内有毛細胞やラセン神経節細胞にはグルタミン酸受容体の存在が明らかとなっている^{3) 4) 5)}。また、一過性内耳虚血により外リンパ中のグルタミン酸濃度が著明に上昇すること⁶⁾や鼓室階にグルタミン酸アゴニストであるカイニン酸を投与すると10日後にラセン神経節細胞数が減少すること⁷⁾などが明らかとなっている。すなわち、一過性虚血は内耳においても内有毛細胞やラセン神経節細胞に遅発性神経細胞死を引き起こす可能性が推測される。

そこでスナネズミを用いて内耳に一過性虚血を負荷し、聴力変化や内耳の遅発性細胞死の有無を検討

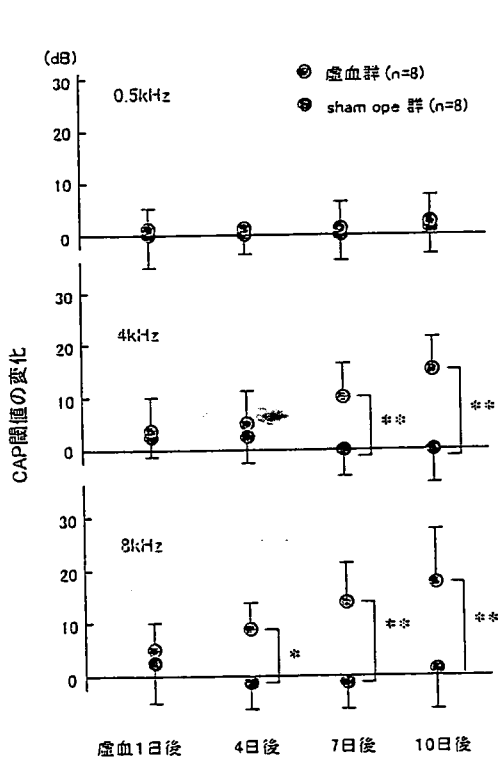


図1 虚血後のCAP閾値の推移

0.5kHzではCAP閾値に変化はないが、4kHzでは7日後から、8kHzでは4日後から閾値上昇がみられた。
(* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$)

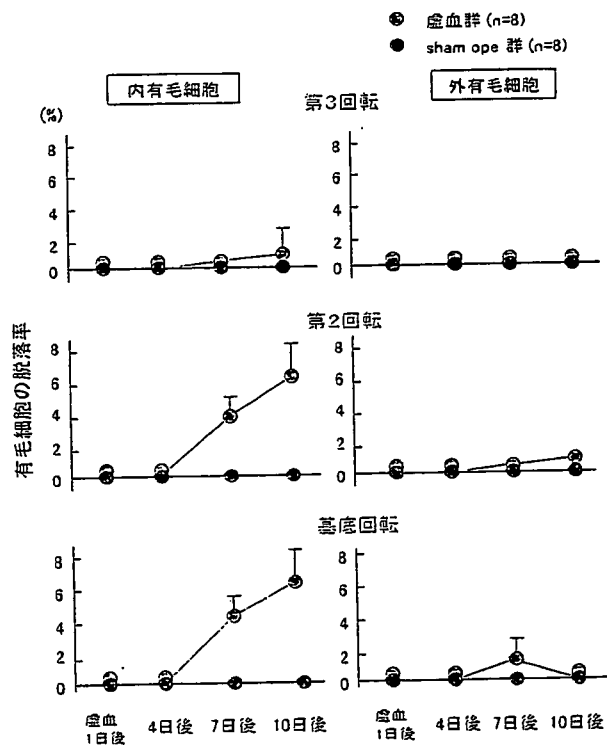


図2 内・外有毛細胞の脱落率の推移

内有毛細胞では虚血4~7日後から脱落が顕著になる。外有毛細胞ではほとんど脱落はみられない。

した。5分前脳虚血の数日後から錐体細胞に変性がみられたというKirino¹⁾の報告に準じ、虚血時間を5分間とした。

聴力変化を図1に示す。聴力変化はCompound action potential (CAP) 閾値の変化を指標とした。虚血直後、CAP閾値は上昇したが翌日には元の値に戻った。その後、4日後までは変化はないが、7日後から10日後にかけ高音域での閾値が有意に上昇した。

有毛細胞数の変化を図2に示す。CAP閾値の変化と同様に7日後から内有毛細胞の脱落がみられるようになり、10日後には内有毛細胞の脱落はさらに高度となった。しかし外有毛細胞には虚血負荷による変化はみられなかった。

ラセン神経節ニューロン数の推移を図3に示す。ラセン神経節の神経細胞数は7日後から減少を始め、10日後にはさらに減少していた。

以上、5分間の内耳虚血では、内有毛細胞やラセン神経節細胞などグルタミン酸受容体を有する細胞が選択的に障害されていた。これらの障害は虚血負荷の直後には見られず、内有毛細胞やラセン神経節細胞では4日後以降に認められており、海馬CA1領域の虚血障害でみられた遅発性細胞死と極めて類似していた。

このように一過性内耳虚血による遅発性細胞死の原因としてグルタミン酸・カルシウムの関与が強く疑われるが、一方で、虚血がアポトーシスを誘導し

遅発性細胞死をきたすという説も提唱されており、更なる検討が必要と思われる。

今回の実験で一過性虚血後に内有毛細胞やラセン神経節細胞において遅発性細胞死がおこることが明らかとなった。しかし、5分間の虚血では障害が比較的軽微であり、臨床に即した研究を行うためには、より障害の強いモデルでの検討が必要と思われた。このため一過性内耳虚血モデルは虚血時間を15分間に延長した15分虚血モデルへと移行した。

(古賀健一郎)

参考文献

- 1) Kirino T : Delayed neuronal death in the gerbil hippocampus following ischemia. *Brain Res* 1982 ; 239 : 57-69.
- 2) Eybalin M : Neurotransmitters and neuromodulators of the mammalian cochlea. *Physiol Rev* 1993 ; 73 : 309-373.
- 3) Kuriyama H, Albin RL, Altschuler RA : Expression of NMDA-receptor mRNA in the rat cochlea. *Hear Res* 1993 ; 69 : 215-220.
- 4) Niedzielski AS, Wenthold RJ : Expression of AMPA, kainate, and NMDA receptor subunits in cochlear and vestibular ganglia. *J Neurosci* 1995 ; 15 : 2338-2353.
- 5) Matsubara A, Laake JH, Davanger S, Usami S, Ottersen OP : Organization of AMPA receptor subunits at a glutamate synapse : a quantitative immunogold analysis of hair cell synapses in the rat organ of Corti. *J Neurosci* 1996 ; 16 : 4457-4467.
- 6) Hakuba N, Gyo K, Yanagihara N, Mitani A, Kataoka K : Efflux of glutamate into the perilymph of the cochlea following transient ischemia in the gerbil. *Neurosci Lett* 1997 ; 230 : 69-71.
- 7) Juiz JM, Rueda J, Merchan JA, Sala ML : The effects of kainic acid on the cochlear ganglion of the rat. *Hear Res* 1989 ; 40 : 65-74.

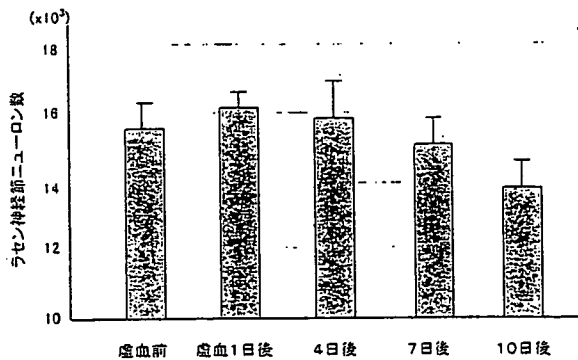


図3 ラセン神経節ニューロン (I型神経細胞) 数の推移
I型神経細胞の減少は虚血7日後以降に顕著になる。

II. 内耳虚血の病態 2. 一過性虚血による内耳病変

1) 難聴とコルチ器の病変

【要約】スナネズミに一過性内耳虚血を負荷し、虚血7日後の聴力およびコルチ器の形態に及ぼす変化を検討した。聴力は蝸電図のCAP閾値を指標として評価した。その結果、虚血7日後のCAP閾値は虚血前と比べ、1kHzで9.2dB、4kHzで12.2dB、8kHzで16.3dB、上昇した。またこの時のコルチ器を組織学的に観察したところ、外有毛細胞にはほとんど障害がみられなかったが、内有毛細胞には聴毛の脱落や癒合などの所見が散在性にみられた。これらの変化は頂回転より基底回転に多く観察された。以上のことより、虚血に対して内有毛細胞は外有毛細胞よりも脆弱であり、また基底回転の方が頂回転よりも障害程度が強いことから高音域がより高度に障害されると結論した。

はじめに

虚血による内耳障害については古くより多くの研究が行われてきたが、そのほとんどは急性期^{1) 2)}の変化をみたものであり、長期経過を観察した研究は少ない。これは内耳道を走行する迷路動脈へのアプローチが困難であり、隣接する蝸牛神経を損傷しやすく、動物を長期間生存させることが困難なためである。これまでの報告によると、虚血が高度・長時間であると組織は壊死を起こすが、一過性であれば障害は限局的で回復も期待できる。これまで、一過性内耳虚血がどのようなメカニズムで難聴をきたすかについてはあまり知られていなかった。今回、一過性内耳虚血の動物モデルを用いて、虚血後の聴力の推移と蝸牛組織、特にコルチ器の障害について検討した。

方 法

1. 聴力測定

聴力評価には蝸電図を用いた。スナネズミの顔面神経管内にエポキシ被覆白金線を留置し記録電極とした^{3) 4)}。電極はデンタルセメントで固定し、他端は皮下を通して耳後部に導き、先端を皮膚面より露出させた。蝸電図測定時にはこの電極をクリップで挟んで閉電極とし、また針電極を記録側および対側の

耳後部に刺入して、それぞれ不閉電極と接地電極とした。

刺激音には1、4、8kHzの3周波数におけるトーンバースト（立ち上がり、立ち下がり時間各1.25ms、持続時間10ms）を用いた。ビニール製のイアホンチューブ（内径2mm）を外耳道に密着させて刺激音を鼓膜前面に導いた。記録された反応は信号処理装置にて300回加算し、また刺激音圧は10dBステップで変化させ、閾値付近では5dBステップで変化させてCAP（Compound Action Potential）閾値を求めた。

両側の椎骨動脈の血流を15分間遮断し、虚血直後および7日後にCAP閾値を求め、虚血前値と比較した。

2. 有毛細胞脱落率の算出

虚血7日後に前庭窓および蝸牛窓を開放、頂回転に設けた小孔より4%パラホルムアルデヒドを注入して局所灌流固定を行った。その後、実体顕微鏡下に頂回転から基底回転に至るコルチ器を採取し、Rhodamine-phalloidinとHoechst33342による二重染色を行った。これを蛍光顕微鏡で観察し、核と聴毛のいずれもが消失している内・外有毛細胞を同定し、これを脱落細胞と定義して、その割合（%）をそれぞれ蝸牛回転ごとに算出した。

3. 電子顕微鏡による有毛細胞の観察

虚血1時間後に蝸牛を採取し、蝸牛壁の小孔より

(%)

	基底回転	第2回転	頂回転
内毛細胞	26.5	21.7	3.2
外毛細胞	3.3	6.0	2.1

表1 蝸牛回転別の内・外毛細胞の脱落率(虚血7日後)

一過性虚血による障害は主に基底回転および第二回転の内毛細胞にみられる。外毛細胞や頂回転の変化は軽微である。

2.5%グルタルアルデヒドを注入して内耳灌流固定を行った。2%オスニウム酸にて後固定し、エポン包埋後、コルチ器を含む標本を作製した。これに酢酸ウランとクエン酸鉛を用いて二重染色を施し、透過型電子顕微鏡(TEM)にて基底回転の内・外毛細胞を観察した。

また虚血後の長期的な内耳病態を観察する目的で、虚血7日後に蝸牛を採取し、走査型電子顕微鏡(SEM)にてコルチ器の観察を行った。標本の内耳灌流固定と後固定を行った後、白金蒸着しSEMにより観察した。

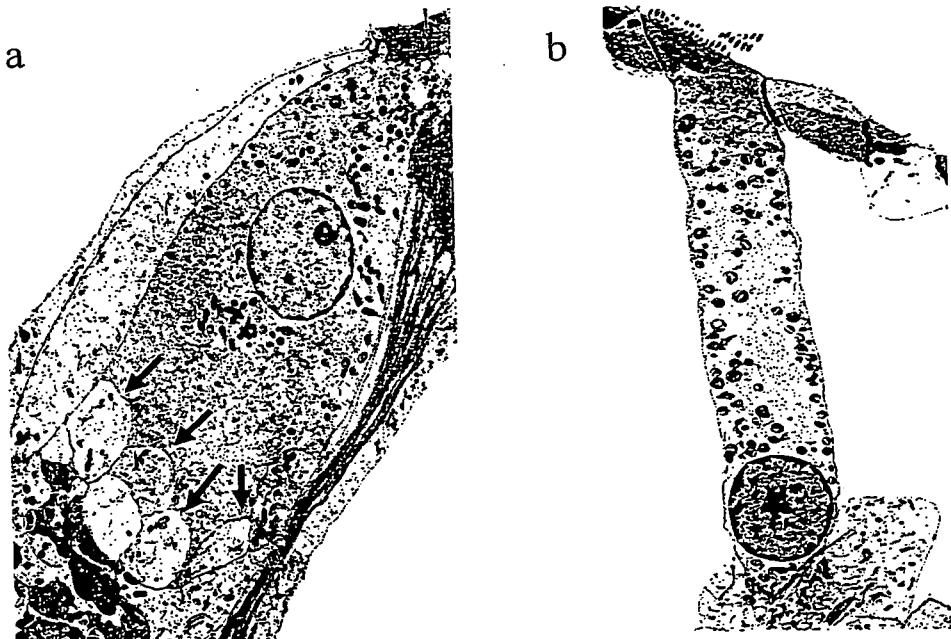


図2 コルチ器の透過型電子顕微鏡所見(虚血1時間後)

- a: 内毛細胞では細胞質に空胞形成がみられ、シナプス間隙は崩壊変性をきたしている。
b: 外毛細胞には形態的な異常はない。

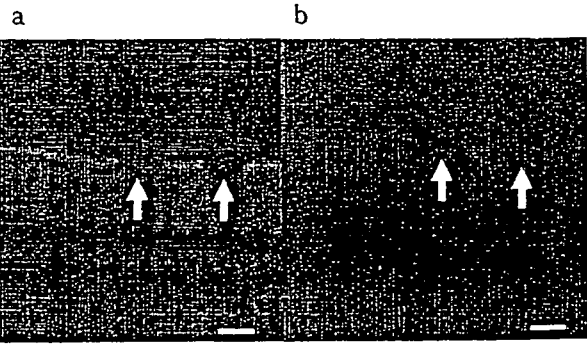


図1 虚血7日後のコルチ器

a: Rhodamine-phalloidin染色、b: Hoechst33342染色

聴毛の消失と一致して核の脱落が認められる。(矢印)
(scale bars=10 μ m)

結 果

1. 聴力の変化

虚血直後にCAP閾値は急激に上昇し、スケールアウトとなった。血流再開後、CAPは徐々に回復した。虚血前のCAP閾値を基準(0dB)とした場合、虚血7日後の閾値上昇は、1kHzで9.2dB、4kHzで12.2dB、8kHzで16.3dBであった。