

学 位 論 文 題 名

アスピリンの蝸牛に及ぼす影響

学位論文内容の要旨

〈 緒 言 〉

アスピリン投与後に生じる耳鳴、難聴の発症機序を解明するために以下の実験を行った。

- (1) アスピリン投与前後の蝸牛神経自発電頻度の記録を行い、耳鳴との関連性について検討した。
- (2) アスピリンの作用部位を検討するために、まず蝸牛に電気刺激を与えて得られる聴神経複合電位（蝸牛神経線維の個々のスパイクの集合、以下CAP_sと略す）のアスピリン投与後の変化について観察した。
- (3) アスピリンの有毛細胞に対する作用に関して二つの実験を行った。一つは蝸牛電気刺激時のCAP_sと音刺激時の正円窓誘導 action potentials（以下AP_sと略す）の記録を行い、両者を比較検討した。
- (4) もう一つは蝸牛電気刺激後に得られる音響放射波形のアスピリン投与後の変化について観察した。

〈 実 験 方 法 〉

1) 実験動物及び手術

実験動物は250～350 gの不動化したモルモットを用い、craniotomy後に小脳の一部を吸引して蝸牛神経束を露出した。

2) 蝸牛神経自発電頻度の測定

蝸牛神経束に微小電極を刺入して蝸牛神経自発電頻度を記録し、次の二つの実験を行った。一つは蝸牛神経自発電のアスピリン投与直後からの連続記録ができた例（アスピリン100mg/kgは4匹、200mg/kgは4匹）を整理食塩水を投与した場合（5匹）と比較した。もう一つはアスピリン投与後30～120分間における蝸牛神経自発電頻度を1ユニットにつき1分間ずつ多数記録し、アスピリン投与前に20匹のモルモットから記録した対照群（130ユニット）と比較した。アスピリンは200mg/kg（6匹）、400mg/kg（7匹）を用い、それぞれから、102ユニット、112

ユニットを記録した。

3) 蝸牛電気刺激による CAP_s の測定

蝸牛電気刺激は刺激電極を正円窓膜上に置き、対極を蝸牛頂回転骨壁上において行った。電気刺激は持続時間 $100\mu\text{sec}$ のSin波(周波数は $10\sim 15\text{kHz}$)を用い、刺激強度は $200\sim 300\mu\text{A}$ の範囲で行った。 CAP_s は蝸牛神経束内に刺入した微小電極より記録し20回加算した。アスピリンは $100\text{mg}/\text{kg}$ (4匹)、 $200\text{mg}/\text{kg}$ (4匹)、 $400\text{mg}/\text{kg}$ (5匹)を用い対照群では生食を投与した。

4) 音刺激による正円窓誘導 AP_s の測定

音刺激にはclick音を用い外耳道より 30Hz の刺激頻度で与えた。 AP_s は正円窓膜上の電極から記録し、得られた AP_s は200回加算した。蝸牛電気刺激を併せて行う際は AP_s 記録電極を刺激電極とし対極を頸筋に置いた。電気刺激は片側50または $100\mu\text{sec}$ のpositive-negativeの二相性パルスを用いた。アスピリン $400\text{mg}/\text{kg}$ (7匹)を投与した。

5) 蝸牛電気刺激後の音響放射の測定

蝸牛電気刺激は刺激電極を正円窓膜上に置き対極を頸筋に置いて行った。電気刺激は持続時間約 1msec のSin波(周波数 $1.5\sim 2.5\text{kHz}$)を用い、刺激強度は $50\sim 300\mu\text{A}$ とした。音響放射は外耳道に挿入した測定用音響プローブを用いて検出し、電気刺激開始から 10msec までの反応波形を約200回加算し、得られた波形を二つ加算して音響放射波形とした。アスピリンは $400\text{mg}/\text{kg}$ を6匹に投与した。また、得られた音響放射波形のうち5例については周波数分析を行った。

6) アスピリンの投与方法

アスピリンはヴェノピリン®を使用し、右前腕橈側皮静脈から $15\text{mg}/\text{min}$ の速度で持続注入した。ただし、3)の CAP_s 測定時のアスピリンは30秒間で投与した。

〈実験成績〉

(1) 蝸牛神経自発放電頻度の変化

蝸牛神経自発放電頻度を30分以上連続記録できたユニットにおいてアスピリン $100\text{mg}/\text{kg}$ 投与群では一定の傾向は得られなかったが、アスピリン $200\text{mg}/\text{kg}$ 投与群では4例中3例で自発放電頻度は一過性に減少した後に増加した。次にアスピリン投与前及び投与後 $30\sim 120$ 分間における蝸牛神経自発放電頻度を多数記録した結果、蝸牛神経自発放電頻度は $10\text{spikes}/\text{sec}$ を境として二峰性の分布を示した。自発放電頻度が $10\text{spikes}/\text{sec}$ 以上の群ではアスピリン $200\text{mg}/\text{kg}$ 投与群では有意差を認めず、アスピリン $400\text{mg}/\text{kg}$ 投与群では対照群よりも有意に増加していた。二

群に分類せずに全てのユニットについて検定したも同様の結果が得られた。

(2) 蝸牛電気刺激による CAP_s の変化

アスピリン100mg/kg投与群では CAP_s 振幅は減少傾向を示し投与後 5 分, 10分で対照群と比べて有意に減少していた。アスピリン200mg/kg投与群では CAP_s 振幅は対照群と比べて10分, 20分, 30分~60分で有意に減少していた。アスピリン400mg/kg投与群では CAP_s 振幅は, 投与後10分, 30分~60分で対照群と比べて有意に減少していた。

(3) CAP_s 正円窓誘導 AP_s との比較

CAP_s と AP_s との比較には変化率 [アスピリン投与前(c)AP_s 振幅 - アスピリン投与後(c)AP_s 振幅 / アスピリン投与前(c)AP_s 振幅] を用いた。この際のアスピリン投与後(c)AP_s 振幅には弱い音刺激に対する最小 AP_s 振幅及びその時点での CAP_s 振幅を用いた。その結果, 蝸牛電気刺激時よりも音刺激時の方が変化率は有意に大きいことが分かった。

(4) 蝸牛電気刺激による音響放射の変化

アスピリン投与後に音響放射波形の消失は 6 例全例に認められた。また周波数分析を行った 5 例中 2 例において周波数分析のピークが消失し, 残りの 3 例では周波数分析のピークは一旦消失した後に再出現した。

〈考 察〉

蝸牛神経自発放電頻度はアスピリン投与後に有意に増加していたが, このような変化は蝸牛神経が本来有する自発放電の temporal pattern に変化が起きていることを意味し, より高位の聴覚中枢によって一種の音 (耳鳴) として認識される可能性があると考えられた。

アスピリンの聴覚に及ぼす作用機序に関してはいまだに不明であるが, 今回記録した CAP_s は蝸牛神経線維を直接電気刺激して発生した電位を観察していると考えられることから, アスピリン投与後に CAP_s の振幅が有意に減少したことは蝸牛神経線維の域値が上昇していることを示していると思われた。

また音刺激時の AP_s 振幅の変化は有毛細胞から蝸牛神経線維にいたる変化を表すことから, AP_s が CAP_s より強い振幅低下を示したことはアスピリンが蝸牛神経線維に作用すると同時に有毛細胞にも何らかの作用を及ぼしていることを間接的に示唆するものと思われた。

蝸牛電気刺激では直接蝸牛神経を興奮させる他に有毛細胞を刺激する反応等をひき起こしていると思われ, 音響放射はこのような有毛細胞の反応が関与していると思われる。アスピリン投与後に音響放射波形及び周波数分析におけるピークの消失が見られたことは, アスピリンが有毛細

胞に対して作用していることを意味すると思われた。

〈結 語〉

アスピリン投与前後に蝸牛神経自発放電頻度，蝸牛電気刺激時の CAP_s，音刺激時の AP_s，蝸牛電気刺激時の音響放射を測定した。その結果，蝸牛神経自発放電頻度の増加は蝸牛性耳鳴の発生と関係するものと思われた。またアスピリンは蝸牛神経線維の域値を上昇させるだけでなく，有毛細胞にも作用しているものと思われた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 犬 山 征 夫
副 査 教 授 斎 藤 秀 哉
副 査 教 授 菅 野 盛 夫

学 位 論 文 題 名

アスピリンの蝸牛に及ぼす影響

目的；アスピリン投与後に生じる耳鳴、難聴の発症機序を解明するために、アスピリン投与前後の蝸牛神経自発放電頻度、蝸牛電気刺激時の聴神経複合電位（以下CAPsと略す）、音刺激時の正円窓誘導action potentials（以下APsと略す）、蝸牛電気刺激時の音響放射波形の変化について観察した。

実験方法；実験動物はモルモットを用い、開頭後に小脳の一部を吸引して蝸牛神経束を露出した。蝸牛神経自発放電頻度、蝸牛電気刺激時のCAPsは蝸牛神経束に微小電極を刺入して記録した。CAPs測定の際の蝸牛電気刺激は刺激電極を正円窓膜上に置き、持続時間100 μ secのSin波またはpositive-negativeの二相性パルスを用いた。また蝸牛電気刺激後の音響放射測定時の電気刺激は持続時間約1msecのSin波を用い、外耳道に挿入した測定用音響プローブを用いて音響放射を検出した。音刺激時のAPsは外耳道よりclick音を与え正円窓上の記録電極を用いて測定した。アスピリンはヴェノピリン®を使用し、右前腕橋側皮静脈から15mg/minの速度で持続注入した。ただし、蝸牛電気刺激時のCAPs測定時のアスピリンは30秒間で投与した。アスピリンは100mg/kg、200mg/kg及び400mg/kgまたは400mg/kgを単独で投与した。

結果；(1) 蝸牛神経自発放電頻度を30分以上連続記録できたユニットにおいてアスピリン200mg/kg投与群では4例中3例で自発放電頻度は一過性に減少した後に増加した。アスピリン投与後30~120分間における自発放電頻度を記録した結果、自発放電頻度は二峰性の分布を示した。自発放電頻度10spikes/sec以上の群においてアスピリン400mg/kg投与群（7匹より112ユニット）では対照群（20匹より130ユニット）よりも自発放電頻度は有意に増加しており、また二群に分類せずに全てのユニットについて検定しても同様の結果が得られた。(2) 蝸牛電気刺激時のCAPs振幅

はアスピリン200mg/kg 投与群（4匹）、400mg/kg 投与群（5匹）ともアスピリン投与後30分～60分で対照群（5匹）と比べて有意に減少していた。（3）アスピリン400mg/kg 投与（7匹）時のCAPs 振幅と正円窓誘導APs 振幅を変化率を用いて比較すると、APs はCAPs よりも有意な振幅低下を示した。（4）蝸牛電気刺激による音響放射の変化をアスピリン400mg/kg 投与（6匹）後に観察した結果、音響放射波形の消失は6例全例に認められた。また周波数分析においても全例ピークの消失または一過性の消失が認められた。

蝸牛神経自発放電頻度はアスピリン投与後に有意に増加していたが、このような変化は蝸牛神経が本来有する自発放電のtemporal pattern に変化が起きていることを意味し、より高位の聴覚中枢によって一種の音（耳鳴）として認識される可能性があると考えられた。蝸牛電気刺激時のCAPs 振幅が有意に減少したことは蝸牛神経線維の域値上昇を示唆すると思われ、また音刺激時のAPs がCAPs より強い振幅低下を示したことはアスピリンが蝸牛神経線維と有毛細胞の両者に作用し域値を上昇させていることを間接的に示唆すると思われた。さらに蝸牛電気刺激時の音響放射波形、周波数分析のピーク消失はアスピリンの有毛細胞に対する作用を示唆すると思われた。以上の有毛細胞、蝸牛神経線維に対するアスピリンの作用は両者の興奮性低下によって難聴、耳鳴が惹起される可能性を実験的に示し、臨床でのアスピリン難聴、耳鳴の発症機序を考える上で興味深いと思われた。

口頭発表にあたり、斎藤秀哉教授よりアスピリンの投与量及び投与方法の違い、アスピリン難聴の組織学的検討及びアスピリンの薬理学的機序等について、また菅野教授よりアスピリン難聴の臨床経過と急性実験との違い、他の消炎鎮痛剤との比較、アスピリン投与とサリチル酸投与の違い等について質問がなされたが申請者はおおむね適切な回答をなした。また副査の斎藤、菅野両教授には個別の審査を受け合格と判定された。

以上、本研究はモルモットにおいてアスピリンを静脈投与した際の有毛細胞、蝸牛神経線維に対するアスピリンの作用を電気生理学的な方法を用いて明確にしたもので、アスピリン投与後に発症する難聴、耳鳴の病因解明に大きく寄与したものである。よって博士（医学）の学位授与に充分値するものと判定される。