

論文の要旨

申請者 田村 敦

研究論文題目

音響外傷に対する低出力レーザー照射による内耳保護効果の検討

1. 背景と目的

特定スペクトルの可視および近赤外の低出力光を生体組織に作用させると、炎症抑制、創傷治癒促進、血流改善などの臨床効果が得られることが以前より知られており、一部の領域で臨床応用されている。その出力は通常使用される医科手術レーザーの約 100 分の 1 程度と微弱であり、また波長 600 ~1000nm ほどの赤外および近赤外光は深達性が高いことが特徴で、一例を挙げると頭皮に照射したレーザー光は経頭蓋的に大脳皮質への到達が可能となる。

LLLT の作用機序は未だ不明な点があるものの、近年、強い組織障害性を有する過剰な一酸化窒素 (nitric oxide、以下「NO」という。) の産生に最も関与するとされる、誘導型一酸化窒素合成酵素 (inducible nitric oxide synthase、以下「iNOS」という。) の誘導を抑制することにより、組織保護効果をもたらすことが示唆されている。一方、強大音負荷後の内耳音響外傷の機序の一端として、以前からストレス応答した転写因子である NF- κ B の活性化に基づく iNOS 誘導の結果、組織障害性を有する過剰な NO が産生され、最終的に caspase-3 活性化に伴う蝸牛内細胞のアポトーシスが考えられている。

今回、非侵襲的な低出力レーザー照射による光治療法 (low-level laser therapy、以下「LLLT」という。) を内耳音響外傷の治療に応用し、内耳保護効果について検討するとともに、LLLT による内耳保護機序について検討を行った。

2. 対象と方法

強大音を 5 時間負荷した Sprague-Dawley ラットに対して、2 種類の出力 (110 mW/cm² または 165 mW/cm²) での LLLT を実施した。LLLT は、ラットを腹腔内麻酔の後に左側臥位に固定し、レーザー照射用のファイバーを右外耳道へ挿入、鼓膜から 6mm 離れた部位にファイバー先端が位置するよう設定し、波長

808nmのダイオードレーザーを用いて、1日30分、5日間連続でLLLTを実施した。

聴力評価は、聴性脳幹反応により強大音負荷前後を含めて計7回の聴力測定を実施し、2種類のLLLT群および無治療群の計3群で聴力閾値変化を比較検討した。

組織学的検討は強大音負荷終了28日後に断頭し、内耳摘出の後に外有毛細胞を観察、その消失率を算出し、同様に比較検討した

作用機序の検証では、iNOSおよびcaspase-3に焦点を置き、免疫組織化学染色による検討を実施した。

3. 結果

聴力測定の結果、強大音負荷終了後2、4、7、14日目において、LLLT群は、無治療群に比べて有意な差を以って聴力の改善を加速させた。

外有毛細胞の組織学的評価では、無治療群で細胞の消失が散見される一方、LLLT群での細胞の消失は少数であり、外有毛細胞の消失率についても、2種類の出力のLLLT群は無治療群に比べて有意な差を以って減少した。

免疫組織化学的検討では、蝸牛の外有毛細胞および蝸牛外側壁の線維細胞において、無治療群ではiNOSおよびcaspase-3が強く発現したものの、LLLT群ではいずれも著明に発現が減弱した。

4. 考察

本研究におけるLLLTによる内耳保護効果の作用機序として、免疫組織化学的検討結果から、iNOS誘導の抑制を介して、音響外傷から内耳を保護したと考えられた。同様に、LLLTにより外有毛細胞や蝸牛外側壁の線維細胞におけるcaspase-3の活性が著明に減弱したことから、LLLTにより強大音負荷が原因の酸化ストレスが減少し、caspase-3によるアポトーシスが可及的に抑制されたと考えられた。

5. 結論

- ①LLLTの実施により、強大音負荷後の聴力改善を促進させた。
- ②LLLTによって蝸牛内のiNOS誘導およびcaspase-3活性によるアポトーシスを抑制することで、強大音負荷後の蝸牛を保護した。
- ③LLLTは、音響外傷に対する新しい治療方法の一つとなり得ることが考えられた。