The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	BEHAVIORAL ASSESSMENT AND IDENTIFICATION OF A MOLECULAR MARKER IN A SALICYLATE-INDUCED TINNITUS IN RATS
Author(s)	木澤, 薫
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54189
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【112】

氏　　名	木　澤　　薫（き　ざわ　かおる）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　２３６８１　号
学位授与年月日	平成22年３月23日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学　位　論　文　名	BEHAVIORAL ASSESSMENT AND IDENTIFICATION OF A MOLECULAR MARKER IN A SALICYLATE-INDUCED TINNITUS IN RATS （サリチル酸を用いたラット耳鳴動物行動モデルの確立と分子マーカーの検索）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　猪原　秀典 （副査） 教　授　吉峰　俊樹　　教　授　遠山　正彌

論　文　内　容　の　要　旨

[目的]

耳鳴は目に見えない主観的な現象であり、客観的評価が難しいゆえに未だ有効な治療法が確立されていない。治療法の開発にはこの現象を可視化することが重要である。我々はラットを用いた耳鳴動物モデルを考案するとともに、耳鳴を評価する分子マーカーとして聴覚伝導路における痛み受容体 TRPV1 (Transient receptor potential cation channel superfamily V-1) の発現について検討した。なお、今回の動物モデル作成にあたっては、大量投与により一過性の耳鳴を誘導すると報告されているサリチル酸を用いた。

[方法並びに成績]

6~7 週齢オスの wistar ラットを用い、ラットが乗り越えられる程度の低い壁で 2 部屋に仕切られたケージを防音室内に設置して条件付けを行った。ケージの天井に取り付けたスピーカーから呈示音を 5 秒間発し、その 1 秒後に底部の金網に電気ショックを与えると、ラットは壁を乗り越え隣部屋へ移動する。これを繰り返すと、ラットはスピーカーの音を聞くと電気ショックなしで隣部屋へ移動するようになる。これが目的行動であり、10回の実験中8回（80%）以上この行動が認められるようになればテストへうつった。テストでは、条件付けされたラットにサリチル酸（400mg/kg）を投与し、2 時間後に同様の音呈示（10 回）を行い、音に正しく反応して隣部屋に移動した回数（score)と無音状態で隣部屋に移動した回数（false positive responses）をそれぞれカウントした。サリチル酸投与 2 時間後、false positive responses の有意な増加を認め、ラットに耳鳴が生じている可能性が考えられた。なお、呈示音が 16KHz・60dB の際に最も顕著に増加が見られたことよりサリチル酸投与時に生じる耳鳴は 16KHz、60dB に最も近いと考えられた。

次に real-time PCR 法および western blot 法により、サリチル酸投与 2 時間後にラセン神経節における TRPV1 発現の上昇が認められた。また TRPV1 拮抗剤カプサゼピン投与（10mg/kg）によりこの発現上昇は抑制され、false positive responses の増加も抑制された。

[総括]

サリチル酸投与ラットにおいて無音状態での反応行動が増加し、ラセン神経節における TRPV1 の発現が上昇していた。またこれらの上昇は TRPV1 拮抗剤カプサゼピン投与により抑制された。これらの結果から、サリチル酸投与により誘発される耳鳴には、聴覚伝導路における TRPV1 の活性化が関与している可能性が示唆された。耳鳴は幻肢痛と類似した現象であり、内耳の感じる痛みであると考えると、痛み受容体 TRPV1 の耳鳴への関与は非常に興味深い所見である。

論文審査の結果の要旨

可逆的な難聴および耳鳴をおこすサリチル酸を用いて耳鳴動物モデルを作成するとともに、耳鳴の評価に用いることのできる分子マーカーを検索した。ラットを用いて条件付けを行いサリチル酸投与後に評価したところ、目的行動の増加がみられ、耳鳴の存在が確認された。次に侵害受容体TRPV1に着目し、ラット内耳の免疫染色を行いTRPV1がらせん神経節に存在することを確認した。また、サリチル酸投与により同部位においてTRPV1mRNA発現が上昇し、サリチル酸投与後にTRPV1拮抗剤カプサゼピン投与を行うとラットの目的行動が抑制されTmRNA発現上昇も抑制された。これらの結果から、サリチル酸投与により誘発される耳鳴にTRPV1が関与している可能性が示唆された。本研究は、動物を用いて耳鳴を客観的に評価する方法を考案するとともに、耳鳴の評価に用いることのできうる物質を示すことにより今後の耳鳴研究の発展に寄与するものであり、学位の授与に値すると考えられる。