

PaExoA 投与後 1 時間から開始した群では 12.2 ± 2.60 dB, 24 時間後からの群では 13.1 ± 0.86 dB であり障害予防効果は認められなかった。エダラボン静注群と鼓室内投与群との間の比較では PaExoA 投与 1 時間でエダラボンを鼓室内投与された動物の方が静注されたものより有意に障害が少なかった ($p < 0.05$) (図 1)。

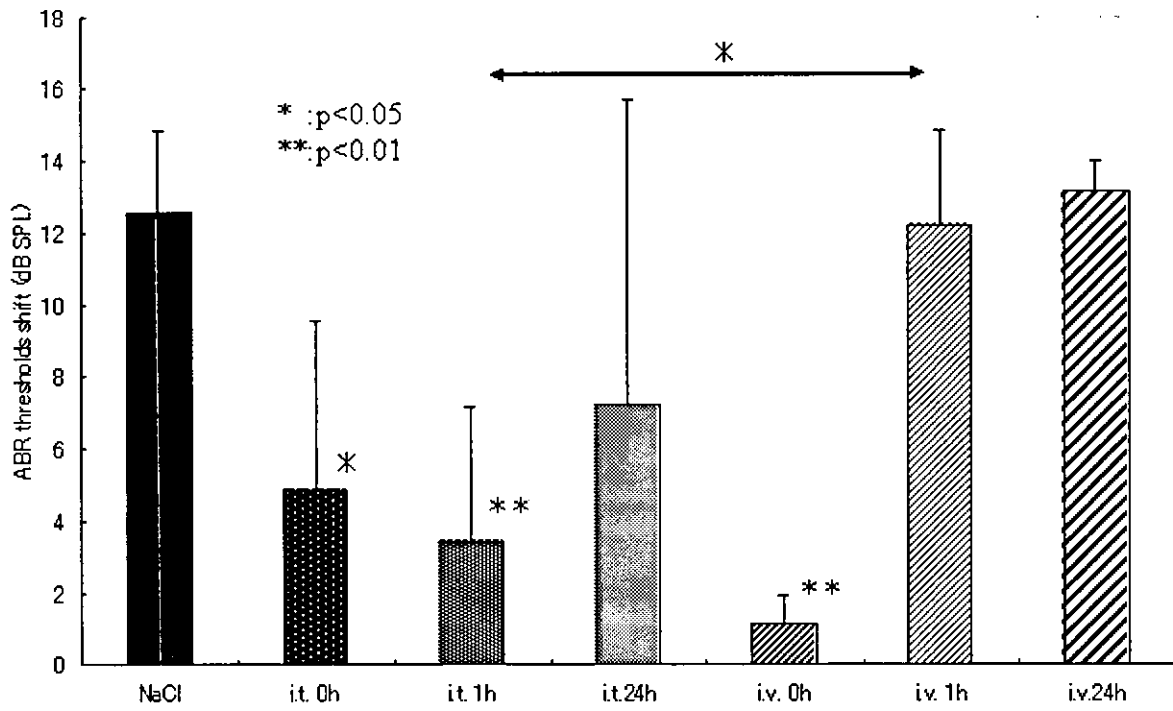
【考察】

内耳障害の原因には感染, 老化, 耳毒性薬剤など様々なものが考えられるが, 近年の研究により, 内耳障害をきたすような病態では, その原因のいかに問わず共通した障害機構が存在することが明らかになっており, なかでも NO や活性酸素をはじめとするフリーラジカルが大きな役割を果たしている (1-3)。このような観点から我々はフリーラジカルを制御することで内耳障害の予防や治療が可能になることを報告してきた。今回, 抗酸化剤であるエダラボンによる内耳障害の予防・治療効果をラット PaExoA 鼓室内投与モデルを使用して検討した結果, エダラボンが聴力障害の発現を予防できることが明らかとなった。同様の報告は NO 合成酵素阻害剤である L-NAME でもすでに報告されており (4), 今回の検討とあわせて PaExoA による聴力障害の発現には NO と ROS の両者が強く関係していることが明らかとなった。エダラボンの内耳障害予防効果に対しては騒音 (5), 耳毒性薬剤 (6,7) などですでに報告されているが今回の結果もそれを裏付けるものであった。また, 抗酸化剤の投与時期, 投与経路に関して, 投与時期の検討においては同様のモデルを用いた L-NAME での検討で障害予防効果は障害作成後 1 時間までは認められるが障害作成後 24 時間では認められないと報告されている (4)。今回の検討でも障害作成後 1 時間後までにエダラボンを投与したものでは予防効果が認められるものの 24 時間後ではその効果は殆ど認められないという同様の結果であった。しかし, 今回投与経路として鼓室内投与と静脈内投与を比較した結果, 鼓室内投与のほうが有意に障害発生を予防できること, 鼓室内投与群では障害作成後 24 時間で投与した群でも半数の動物では障害軽減効果が認められることが明らかとなり, AMPA による前庭障害動物でのエダラボンの効果と同様の結果であった (6,7)。この理由として, 鼓室内投与のほうが短期間に局所濃度が上がることなどが考えられた。さらに, 局所投与に関しては全身的副作用を軽減できる, 使用薬剤の減量が可能であることなどが挙げられ, 抗酸化剤の投与経路としては局所投与が全身投与に比べて内耳障害の治療により有効であると考えられた。

【参考文献】

- 1) Takumida M, Anniko M, Popa R: Possible involvement of free radicals in lipopolysaccharide-induced labyrinthitis in the guinea pig: a morphological and functional investigation. *ORL* 1998; 60:246-253.
- 2) Takumida M, Anniko M, Popa R, Zhang DM: Pharmacological models for inner ear therapy with emphasis on nitric oxide. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 2001;121:16-20.
- 3) Takumida M, Anniko M: Nitric oxide in the inner ear. *Curr Opin Neurol* 2002;15:11-15.
- 4) Popa R, Anniko M, Takumida M: Otoprotectant minimizes hearing defects caused by *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 2000;120:350-358.
- 5) Takemoto T, Sugahara K, Okuda T, Shimogori H, Yamashita H: The clinical free radical scavenger, edaravone, protects cochlear hair cells from acoustic trauma. *Eur J Pharmacol* 2004;487:113-116.
- 6) Horiike O, Shimogori H, Ikeda T, Yamashita H: Protective effect of edaravone against streptomycin-induced vestibulotoxicity in the guinea pig. *Eur J Pharmacol* 2003;464:75-78.
- 7) Horiike O, Shimogori H, Yamashita H: Effect of edaravone on streptomycin-induced vestibulotoxicity in the Guinea pig. *Laryngoscope* 2004;114:1630-1632.

図 1: エダラボンによる聴力障害軽減効果



抗酸化剤によるメニエール病の治療－難聴に対する効果のまとめ－

工田昌也, 立川隆治, 夜陣紘治
(広島大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科)

【はじめに】

メニエール病の治療には急性期には炭酸水素ナトリウム, 鎮静剤, 鎮暈剤などが用いられるが, 発作自体は長くても数日程度で軽快する。しかし, 発作を繰り返すためその予防として利尿剤, 内耳循環改善剤, 自律神経調節剤, 鎮静剤, 抗不安剤, 抗うつ剤などが用いられ, なかでも内リンパ水腫の改善のためにイソソルビドが多く使用されている。メニエール病の3大症状のうちめまい発作は長期経過で見ると自発的に寛解していく傾向がある。一方, 聴力および耳鳴などの聴覚症状は変動しがたく著明に自然寛解はしない傾向にあると推察されている¹⁻⁴⁾。実際, 現在, 頻用されているイソソルビドの治療効果もめまいに対しては比較的有効であるが難聴, 耳鳴に対しては有効性が低く, 各種治療にも関わらず難聴が次第に進行していく例のあることは良く知られており, 患者のQOLを悪化させる大きな要因となっている⁴⁾。我々は各種内耳障害の発生機序に関する研究で内耳感覚細胞の障害にはフリーラジカルが大きく関与していること, フリーラジカルを制御することで内耳障害の予防, 治療ができる可能性があることを明らかにしてきた⁵⁻⁷⁾。これらのことを基礎として, 従来の治療でコントロール不良であったメニエール病患者に対して抗酸化剤を投与し, その治療効果を検討した結果, めまいのみならず難聴の改善にある程度の効果を挙げることができた⁸⁾。しかし, 難聴に関する効果はめまいに対する効果と比較して十分なものではなく不明な点も多い, そこで今回は抗酸化剤の難聴に対する治療効果について, メニエール病, 老人性難聴, シスプラチン難聴に対する効果をもとに検討した。

【対象および方法】

老人性難聴の対象には年齢70歳以上で鼓膜正常, 聴力に影響を及ぼすような疾患の既往がなく, 加齢による他に明らかな原因の認められない感音難聴を有する症例で難聴の治療を希望し, インフォームドコンセントにより患者からの同意が得られたもの, 男性8例(15耳), 女性15例(30耳), 計23例(45耳)を対象とした。年齢は70~89歳(平均77.1歳)であった。抗酸化剤としては症例に応じて, レバミピド(ムコスタ®)300mg/日, ビタミンC(シナール®)600mg/日を中心に原則として8週間以上経口投与した。メニエール病⁸⁾ならびにシスプラチン難聴⁹⁾に対する成績はすでに報告したものをもとに検討した。

抗酸化剤の一種である α -lipoic acidの効果をみるため, 難治性のステロイド依存性感音難聴の1例にサプリメントとして市販されている α -lipoic acid (Nature's Life, 7180 Lampson Ave., Garden Grove, CA 92841 USA)600mg/日を投与した。

【結果】

抗酸化剤による難聴の治療成績は老人性難聴では125, 250, 500, 8000Hzで有意の聴力改善が認められ, 抗酸化剤投与前のオージオグラムと投与後のオージオグラムを各周波数別に比較し, 10dB以上の改善があったものを改善, 10~10dBを不変, 10dB以上悪化したものを悪化, とすると改善率は125Hzで40%, 250Hzで37%, 500Hzで34%, 1kHzで26%, 2kHzで6%, 4kHzで26%, 8kHzで46%であった。シスプラチン難聴では125, 250, 500, 8000Hzで有意の聴力改善が認められ, 改善率は125Hzで69%, 250Hzで54%, 500Hzで54%, 1kHzで31%, 2kHzで31%, 4kHzで23%, 8kHzで46%であった⁹⁾。メニエール病では125, 250, 500, 1000, 2000Hzで有意の聴力改善が認められ, 改善率は125Hzで62%, 250Hzで59%, 500Hzで59%, 1kHzで45%, 2kHzで28%, 4kHzで26%, 8kHzで28%であった⁸⁾。

α -lipoic acid投与例は29歳女性, ステロイド依存性感音難聴症例で左耳に高音漸減型の感音難聴を有しておりステロイド鼓室内注入などにより難聴は軽減していたが妊娠, 出産を契機に再び聴力が悪化, 今度はステロイドに反応せず, レバミピド, ビタミンCなどの抗酸化剤にても聴力の改善を認められなかったため, 患者の同

意を得て α -lipoic acid 600mg/日を投与開始, 17 週後には聴力は平均 10.7dB の改善を示した(図 1).

【考察】

我々は、これまで内耳障害が生じる時にはフリーラジカルが重要な役割を果たしており、フリーラジカルを制御することで内耳障害を軽減あるいは治療できる可能性があることを明らかにしてきた⁵⁻⁷⁾。これらの機序は内耳障害の原因のいかに関わらず共通した病態とされこの認識に従って各種感音難聴に対して抗酸化剤による治療を行ってきた。その結果、メニエール病、老人性難聴、シスプラチン難聴に対してある程度の効果を挙げる事ができた^{8,9)}。難聴に対する治療効果を周波数別に検討すると 125, 250, 500Hz の低周波数ではすべての疾患で良好な効果が認められ、老人性難聴、シスプラチン難聴では 8000Hz, メニエール病では 1000Hz がそれに続くという結果であった。それに対して、2000, 4000Hz といった周波数での改善は少なかった。一般に感染、騒音、耳中毒性薬剤による難聴は感覚細胞が最も障害を受けやすい高音域から生じ、低音域の障害には内リンパ水腫あるいは血管条、血管障害などが関与するとされているが実際に感染、耳毒性薬剤、騒音などの内耳障害性の刺激によりコルチ器有毛細胞や血管条でフリーラジカルが発生することが報告されており今回の検討からはこれらの場所でのフリーラジカルの産生を制御したことが結果として聴力の回復につながったものと考えられる。

今回の検討から抗酸化剤による難聴の治療に関する問題点としては1)すべての症例に治療効果が認められるわけではないこと、2)2000, 4000Hz といった周波数での改善が少ないこと、3)RTC などによる明確なエビデンスがないこと、などがあげられる。これらのうち1)に関して実際に我々の用いた抗酸化剤の作用が不十分であった可能性があること、抗酸化剤の作用機序としてフリーラジカルを消去する結果細胞機能の改善が期待できるものの完全に死んでしまった細胞は再生不可能なことなどが挙げられる。しかしながら、逆に考えればこれまで治療法がなかった難聴の何割かが改善できる可能性を示したものともいえる。抗酸化剤については今回使用したもの以外にも種々の薬剤がありそれぞれ動物実験により内耳障害予防効果が認められており¹⁰⁻¹⁴⁾その中の一部は実際に臨床において使用されている(表1)。例えば、 α -lipoic acid などはビタミン C の 100 倍以上の抗酸化作用を有しているといわれており、欧米ではサプリメントとして一般に販売されており、我々が使用した結果においても良好な結果を得ることができている。また、抗酸化剤の投与経路に関しても全身投与よりも局所投与のほうが効果が大きいといった報告もあり¹²⁾、薬剤の選択、投与経路の改善などで治療効果を改善できる可能性も有る。さらに、エビデンスに関して突発性難聴では抗酸化剤の有用性についての比較試験も行われ、その有用性が報告されていることから¹³⁾、今後は厳密なケースコントロールスタディーを行い、抗酸化剤治療が本当に有効かどうかについての検討を行う予定である。

【参考文献】

- 1) 竹森節子:メニエール病の長期観察.厚生省特定疾患 前庭機能異常調査研究班平成7年度研究報告書. 1996;142-143.
- 2) 竹田泰三:メニエール病難聴の長期観察.厚生省特定疾患 前庭機能異常調査研究班平成7年度研究報告書. 1996;144-145.
- 3) 松永 喬, 他:メニエール病の長期観察例の検討.厚生省特定疾患 前庭機能異常調査研究班平成7年度研究報告書. 1996;146-147.
- 4) 山中敏彰, 他.メニエール病に対する薬物療法の短期および長期評価—自然経過を考慮した検討—. *Equilibrium Res* 1997;56:594-600.
- 5) Takumida M, Zhang DM, Anniko M: Localization of nitric oxide synthase isoforms (I, II and III) in the endolymphatic sac of the guinea pig. *ORL* 1997;59:317-321.
- 6) Takumida M, Anniko M, Popa R: Possible involvement of free radicals in lipopolysaccharide-induced labyrinthitis in the guinea pig: a morphological and functional investigation. *ORL* 1998;60:246-253.
- 7) Takumida M, Popa R, Anniko M: Free radicals in the guinea pig inner ear following gentamicin

exposure. *ORL* 1999;61:63-70.

- 8) Takumida M, Anniko M, Ohtani M: Radical scavengers for Meniere's disease after failure of conventional therapy: a pilot study. *Acta Otolaryngol* 2003;123:697-703.
- 9) 工田昌矢, 夜陣紘治: 抗酸化剤による CDDP 難聴の治療. *耳鼻臨床* 2000;93:533-539.
- 10) Conlon BJ, Aran JM, Erre JP, Smith DW: Attenuation of aminoglycoside-induced cochlear damage with the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. *Hear Res* 1999;128:40-44.
- 11) Horiike O, Shimogori H, Ikeda T, Yamashita H: Protective effect of edaravone against streptomycin-induced vestibulotoxicity in the guinea pig. *Eur J Pharmacol* 464:75-78,2003.
- 12) Horiike O, Shimogori H, Yamashita H: Effect of edaravone on streptomycin-induced vestibulotoxicity in the Guinea pig. *Laryngoscope* 2004;114:1630-1632.
- 13) Wang A-M, Sha S-H, Lesniak W, Schacht J: Tanshinone (*Salvia miltiorrhizae* extract) preparations attenuate aminoglycoside-induced free-radical formation in vitro and ototoxicity in vivo. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:1836-1841.
- 14) Fentoni AR, Sergi B, Scarano E, Paludetti G, Ferraresi A, Troiani D: Protective effects of α -tocopherol against gentamicin-induced oto-vestibulo toxicity: an experimental study. *Acta Otolaryngol* 2003;123:192-197.
- 15) Joachims HZ, Segal J, Golz A, Netzer A, Goldenberg D: Antioxidants in treatment of idiopathic sudden hearing loss. *Otol Neurotol* 2003;24: 572-5.

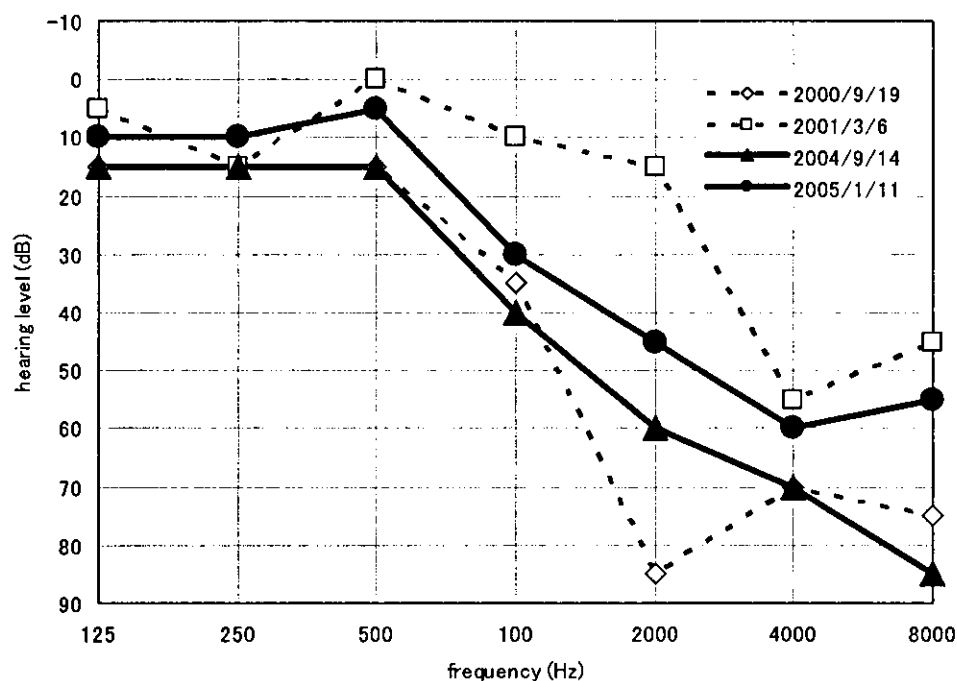


図 1: 症例 29 歳, 女性, 左ステロイド依存性感音難聴

表1:抗酸化剤の種類と適用疾患

- Diet restriction: 老人性難聴
- Vitamin E (tocopherol): ゲンタマイシン, シスプラチン難聴, 老人性難聴, 突発性難聴
- Vitamin C: 老人性難聴
- Melatonin: 老人性難聴
- Lazaroid: 老人性難聴
- α -lipoic acid: 老人性難聴, 騒音性難聴
- Acetyl L-carnitine: 老人性難聴
- Rebamipide: メニエール病
- Poraprezinc: メニエール病
- Edaravone: ストレプトマイシン, exotoxin, 虚血
- SOD: acoustic trauma, LPS
- Allopurinol: 騒音性難聴
- Ebselene: LPS
- Teprenone: ゲンタマイシン
- Tanshinone (Salviae miltiorrhizae extract): KM
- BDNF: ゲンタマイシン
- Calpain inhibitor: ゲンタマイシン
- Caspase inhibitor: ゲンタマイシン
- Steroid: LPS, メニエール病, 突発性難聴

メニエール病の聴力変動—特に対側聴力との関係—

工田昌也, 夜陣紘治(広島大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科)
柿木章伸, 竹田泰三(高知大学神経統御学講座聴平衡・嚥下統御学)

【はじめに】

メニエール病の多くは一側性であるが, 数年の罹病後 20~40%が両側性に進行し, 罹病期間が長くなるほど両側例が増加するといわれている¹⁾。メニエール病の初期においては聴力が変動し悪化時にはめまいを随伴すると考えられている。しかし, 長期間にわたって経過を観察し続けることは困難であり, 実際にどのように聴力が変化しているかについては未知の点が少なくない。メニエール病の聴力変動に関して両側メニエール病では左右の聴力が交代性に変動する例や同位相で変動する例のあることが知られており, 長期間の経過を追った報告が認められる^{2,7)}。しかし, メニエール病の多くを占める一側性メニエール病の聴力変動, 特に反対側聴力との相互関係についての詳細な報告は少ない⁸⁾。前述したように一側性メニエール病の 20~40%が両側性に移行するとすれば初期より対側の耳にも影響が及んでいることが十分考えられる。そこで今回, 我々は1年以上経過を追うことのできたメニエール病の聴力の変動について患側と健側との聴力変動の関係, 患側の低周波聴力と 8kHz 聴力との関係などに注目し, 他の低音障害型難聴, 突発性難聴などの聴力変動との比較検討を行った。

【対象と方法】

対象はメニエール病確実例 51 例, 低音障害型難聴 2 例, 突発性難聴 4 例, 原因不明変動型難聴 1 例, 遅発性内リンパ水腫 1 例であり, いずれも 1 年以上聴力の経過を追うことのできた症例であった。メニエール病症例の詳細は男性 22 例, 女性 29 例, 計 51 例, 患側は右 22 例, 左 29 例, 年齢は 17~71 歳(平均 51.5 歳), 観察期間は 16~161 ヶ月(平均 76.5 ヶ月)であった。

聴力の検討は標準純音聴力検査を基に行い, 患側低周波数(125, 250, 500Hz)平均聴力レベル, 患側全周波数(125, 250, 500, 1k, 2k, 3k, 4k, 8kHz)平均聴力レベル, 患側 8kHz 聴力レベル, 対側低周波数平均聴力レベル, 対側全周波数平均聴力レベルの変動を経時的に解析すると共に, 患側低周波数平均聴力レベルと対側低周波数平均聴力レベル, 患側全周波数平均聴力レベルと対側全周波数平均聴力レベル, 患側低周波数平均聴力レベルと患側 8kHz 聴力レベルとの相関を検討した。また, 聴力変動の頻度の指標として年平均聴力変動回数(聴力変動回数/年=平均聴力で 10dB 以上の変動を起こした回数/観察期間(年))を算出した。加えて血清 ADH 値を測定したものではその平均値をストレスの指標として用いた。

【結果】

今回検討した疾患のうちメニエール病では程度の差はあれほぼすべての症例で患側の聴力変動に加えて健側にも聴力変動が生じていることが明らかとなった。また, その変動様式はシーソー様に変化を示す割合より両者がそろって改善あるいは悪化を示す場合のほうが多く認められた。さらにほぼ半数の症例では低周波数の聴力変動と相関して 8kHz の聴力変動が生じていた(図 1)。これらを相関の有無で比較すると, 低周波数平均聴力レベルの患側と健側との相関はメニエール病で関係有り 28 例, 関係なし 23 例, その他の疾患では関係あり 1 例, 関係なし 6 例と有意差($p<0.05$)が認められた。全周波数平均聴力レベルの患側と健側との相関でもメニエール病で関係有り 32 例, 関係なし 19 例, その他の疾患では関係あり 1 例, 関係なし 6 例と有意差($p<0.05$)が認められた。患側低周波数平均聴力レベルと 8kHz 聴力レベルとの相関ではメニエール病で関係有り 28 例, 関係なし 23 例, その他の疾患では関係あり 7 例, 関係なし 1 例と有意差($p<0.01$)が認められた。

次に, メニエール病について解析を行った結果, 聴力の変動が著しいものとそうでないものとを年平均聴力変動回数をもとに分類して年平均変動回数が 1.19/年より大きいものとそれ以下とのもので比較した。低周波数平均聴力レベルの患側と健側との相関は年平均変動回数が 1.19/年より大きいものでは関係有り 11 例, 関係なし

6例, 年平均変動回数が1.19/年以下のものでは関係有り17例, 関係なし17例と聴力変動が大きいもので相関が強い傾向が認められた($p<0.1$). 全周波数平均聴力レベルの患側と健側との相関は年平均変動回数が1.19/年より大きいものでは関係有り14例, 関係なし3例, 年平均変動回数が1.19/年以下のものでは関係有り18例, 関係なし16例と聴力変動が大きいもので有意に相関が有るものが多かった($p<0.05$). 患側低周波数平均聴力レベルと8kHz聴力レベルとの相関では年平均変動回数が1.19/年より大きいものでは関係有り12例, 関係なし5例, 年平均変動回数が1.19/年以下のものでは関係有り16例, 関係なし18例と差は認められなかった。

また, 血清ADH値と年平均聴力変動回数の関係を検討した結果, 有意な正の相関を認めた($p<0.05$).

次に全周波数の平均聴力が40dB未満のものとは40dB以上のものとの比較では低周波数平均聴力レベルの患側と健側との相関は平均聴力が40dB未満ものでは関係有り12例, 関係なし12例, 平均聴力が40dB以上のものでは関係有り16例, 関係なし11例と差は認めなかった。全周波数平均聴力レベルの患側と健側との相関は平均聴力が40dB未満ものでは関係有り13例, 関係なし11例, 平均聴力が40dB以上のものでは関係有り19例, 関係なし8例と差は認めなかった。患側低周波数平均聴力レベルと8kHz聴力レベルとの相関では平均聴力が40dB未満ものでは関係有り10例, 関係なし14例, 平均聴力が40dB以上のものでは関係有り18例, 関係なし9例と聴力の悪いもので関係有るものが多い傾向が認められた($p<0.1$).

【考察】

今回の検討で一側性メニエール病においても両側メニエール病と同様に患側の聴力変動とともに健側にも聴力変動が生じていることが明らかとなり, メニエール病のほぼ半数で患側と健側の聴力レベルに相関を認めた。この傾向は特に聴力変動の多い症例でより顕著であり, メニエール病以外の疾患(低音障害型難聴, 突発性難聴, 原因不明変動性難聴, 遅発性内リンパ水腫)では健側の聴力変動があまり認められないことと対照的であった。一側性メニエール病において対側の聴力変動がこれまであまり検討されなかった理由については対側の聴力が正常の場合が多く, それゆえ変動が生じていたとしてもその幅が少なく注目されなかったことが挙げられる。実際, 今回の検討においても対側の聴力低下は殆ど認められず, 変動幅も小さかった。しかし, 両側の聴力を経時的に比較してみると明らかに相関が認められるものが数多く存在し, 両者の間になんらかの関係があるものと考えられた。患側の聴力変動と相関して健側にも聴力変動が生じることは聴力変動の原因として心理的ストレスのような全身的要因の関与が考えられる。メニエール病の病態にストレスが大きく関与することは良く知られており⁹⁾, 実際, 今回ストレスのマーカーとして血清ADHの測定を行ったが血清ADHの値と年平均聴力変動回数は有意の相関を示し, 聴力変動の多いものでは患側の聴力変動と相関して健側にも聴力変動が生じる傾向はより顕著であった。これらのことから考えるとメニエール病の原因のひとつには全身的な要因があり, その影響は程度の差はあれ両耳に及ぶものと考えられた。このことは一方で, 一側性メニエール病の少なからぬものが両側に移行していくことに関係しているものと思われた。

さらに, 患側低周波数平均聴力レベルと8kHz聴力レベルとの関係の検討では, メニエール病以外の疾患では患側低周波数の変動と相関して同側8kHzの聴力の変動が生じているものがほとんどであったのに対して, メニエール病ではほぼ半数の症例で患側低周波数の変動と相関して同側8kHzの聴力の変動が生じているものが認められ, この傾向は聴力変動の多いもの, 平均聴力の悪いもの, 病態の進行しているものでより顕著であった。一般的に内リンパ水腫は蝸牛頂回転に強く, 感覚細胞障害は蝸牛基底回転に強いとされているが, この面から考えるとメニエール病の聴力障害について低周波数の聴力低下は主に内リンパ水腫により, 8kHzでの聴力低下は感覚細胞障害によるものと考えられる。これらのことから考えると低周波数の聴力の変動と相関して同側8kHzの聴力の変動が生じることはメニエール病の病的変化は内リンパ水腫のみではなくそれに加えて蝸牛全体に何らかの障害が生じていることを裏付けるものと考えられ, このことが長期的な高音部も含めた聴力の低下をきたすものと思われた。

【参考文献】

- 1) 渡辺 晋:メニエール病 292 症例における聴力障害の経年変化と加齢変化. *Equilibrium Res* 47:350-

358.

- 2) 山川宗位, 酒井 昇, 牧真利子, 他: 治療法による両側メニエール病の聴力変動について. 耳鼻臨床 73 増 1980;2:1142-1147.
- 3) 安田宏一: 左右聴力の一方が悪化し他方が改善する発作をくりかえした両側メニエール病症例. 耳鼻 1993;39:412-417.
- 4) 水越鉄理, 麻生 伸, 渡辺行雄: 両側左右交代性聴力変動を示したメニエール病症例. JOHNS 1995;11: 886-892.
- 5) Kodama A, Kitahara M, Kitanishi T: Clinical findings in Meniere's disease with bilateral fluctuant hearing loss. Acta Otolaryngol (Stockh) Suppl 1995;519:227-229.
- 6) 麻生 伸, 渡辺行雄, 水越鉄理: 内リンパ水腫における両耳の聴力変動. Audiology Japan 1996;39:164-170.
- 7) 関 聡, 高橋紳一郎, 渡辺一道, 犬飼賢也, 高橋 姿: 左右交代性聴力変動を呈したメニエール病症例に 対するグリセロールの治療効果. Equilibrium Res 2003;64:308-312.
- 8) Eggermont JJ, Schmidt PH: Meniere's disease: A long-term follow-up study of hearing loss. Ann Otol Rhinol Laryngol 1985;94:1-9.
- 9) 高橋正紘, 大貫純一, 飯田政弘: 内リンパ水腫患者の行動特性. 耳鼻臨床 2004;97:85-92.

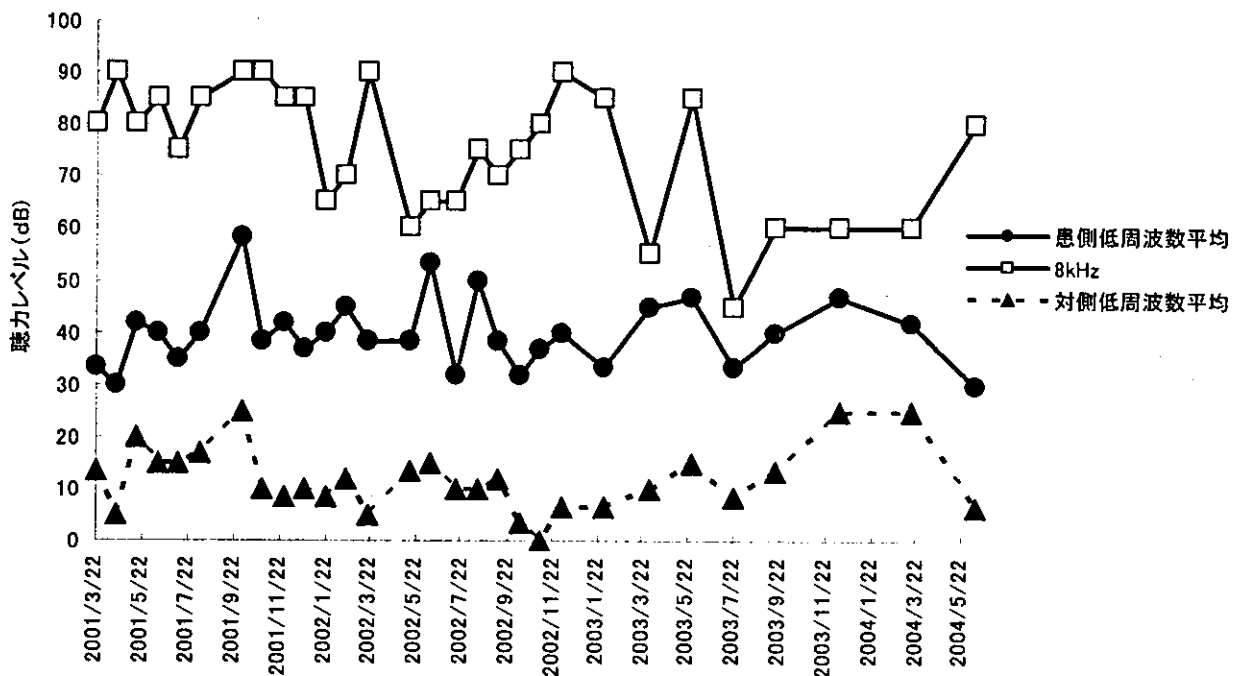


図 1. メニエール病の聴力変動 (52 歳, 男性)

メニエール病における内耳水代謝の研究

分担研究者 竹田 泰三 高知大学教授

研究要旨 内耳液の水・電解質代謝を中心にメニエール病の治療について検討した。動物実験で、急性内リンパ水腫は鼓室階、前庭階で高カリウム化が見られるので、メ病の治療では水腫を減荷し、外リンパ腔の高カリウム化による前庭・蝸牛神経に対する神経毒性を軽減することが必要と判断された。Vasopressin (VP) - aquaporin2(AQP)系の阻害剤である塩化リチウム、VP2型レセプター(V2R)の拮抗剤であるOPC-31260は共に内リンパ腔を減荷する作用があり、内リンパ水腫の治療薬としての可能性を持つ事が判明した。

A. 研究目的

メ病をはじめとする内リンパ水腫疾患の病態と治療を検討する目的で、3つの実験を施行した。実験1では、内リンパ水腫形成期の外リンパカリウム濃度の変化を鼓室階、前庭階で計測し、内リンパ水腫による前庭・蝸牛障害が外リンパ液の高カリウム化に関与しているかどうかを検討した。実験2では、Vasopressin (VP) - aquaporin2(AQP)系の阻害剤である塩化リチウムが内耳のVP-AQP2系を阻害するかどうか、内リンパ液の産生を阻害するかどうかを検討した。実験3では、内リンパの産生を抑制することが確認されているVP2型レセプター(V2R)の拮抗剤であるOPC-31260を、臨床応用するにはどのような投与方法がよいか検討した。

B. 研究方法

実験1: 有色モルモットを用い、蝸牛第2回転中央階側壁に小孔を作成、EP測定と人工内リンパ液の注入を行い、急性内リンパ水腫を作成する。同時に、第3回転前庭階及び鼓室階の側壁に小孔を作成し、カリウムイオン電極を用いてカリウムイオン濃度の変化を計測した。人工内リンパ液注入量は、0.1から5 μ lとし、注入時間はいずれも10分間とした。

実験2: BNラットを使用し、60mmol/kg塩化リチウム(LiCl)含有飼料と普通飼料摂取動物の蝸牛、内リンパ囊のAQP2発現量を定量PCRで測定し比較した。内リンパ水腫モルモット動物に同量の飼料を摂取させ、組織学的に両耳の内リンパ腔面積とライスネル膜長を計測し比較した。

実験3: 硬膜外内リンパ囊閉塞による実験的内リンパ水腫動物を使用し、コントロール群、OPC全身投与群、OPC鼓室内投与群間で、蝸牛軸断面における

内リンパ腔面積とライスネル膜長を比較した。OPC鼓室内投与では、Xanthanガムに混入したOPC粉末を正円窓に留置した。なお、正常動物を使用し、コントロール群とOPC全身投与群、OPC鼓室内投与群間で、血漿VP値(p-VP)を計測した。また、OPC鼓室内投与による耳毒性の有無を検討するため、コントロール群とOPC鼓室内投与群間で蝸牛内静止電位と蝸牛の透過電顕像を比較した。

C. 研究結果

実験1: 前庭・鼓室階において注入量が2 μ lを超えると、注入量依存性にK⁺濃度が増加した。

実験2: LiCl全身投与動物ではAQP2のmRNA発現量が有意に減少した。また、内リンパ水腫は無投与群と比較すると有意に減荷された(ANCOV p<0.001)。

実験3: OPCの全身、局所投与において内リンパ水腫の軽減が認められた。OPC全身投与でpVP値の上昇が認められ、このためと考えられる非手術側のライスネル膜の延長が認められた。OPCの局所投与では、EPの低下は認められず、血管条、コルチ器とも電顕組織学的にも明らかな組織損傷は認められなかった。

D. 考案

内リンパ水腫疾患の前庭・蝸牛障害は、内リンパ水腫に起因した外リンパ腔の高カリウム化によって前庭・蝸牛神経が傷害されるため機能低下するためであるという、所謂、化学説が信じられてきた。しかし、この仮説を直接的に支持する証拠はなかった。今回の実験結果は、内リンパ腔の増大によって鼓室階、前庭階の外リンパ液が高カリウム化を来すことを直接

証明した最初の報告である。この実験結果より、内リンパ水腫疾患の前庭・蝸牛障害を軽減するのは内リンパ水腫を減荷して、高カリウム化した外リンパ液を補正すればよいことになる。その方法としては、内耳の水代謝が VP-AQP2 系で制御されていることが解明されたので、この制御機構の抑制が一つの方法と考えられる。本年度の研究成果でも、Vasopressin (VP)-aquaporin2(AQP)系の阻害剤である LiCl, V2拮抗剤である OPC-31260 は内リンパ水腫を減荷する作用があることが確認された。これらの薬剤を臨床的に用いられには、更に詳しく検討することが求められるが、OPC-31260の全身投与では脱水による p-VP 値の上昇が見られ事より脱水症状の補正が必要であろうと思われた。

E. 結論

内リンパ水腫疾患の治療は水腫の減荷を目指すべき事が実験的にも証明された。この目的には、VP-AQP2 系を抑制する Li 製剤や V2 拮抗剤が有効であることが判明した。

F. 研究危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kakigi A, Okada T, Takeda T, Takeuchi S, Sawada S, Higashiyama K, Azuma H, Yamakawa K, Seguchi H. Endocytosis in the epithelial cells of the endolymphatic sac. *Acta Histochem Cytochem* 2004; 37: 241-245.
- 2) Kakigi A, Takeda S, Takeda T, Sawada S, Azuma H, Higashiyama K, Yamakawa K, Takeuchi S. Time course of dehydrating effects of isosorbide on experimentally induced endolymphatic hydrops in guinea

pigs. *ORL* 2004; 66: 291-296.

- 3) Azuma H, Sawada S, Takeuchi S, Higashiyama K, Kakigi A, Takeda T. Immunohistochemical localization of histamine receptors in rat Cochlea. *Laryngoscope*. 2004 ;114:2249-2251.
- ##### 2. 学会発表
- 1) Takeda T, Takeda S, Kakigi A, Sawada S, Azuma H, Higashiyama K, Takeuchi S. Time-course of dehydratic effects of isosorbide on experimentally induced endolymphatic hydrops in guinea pigs. 3rd International Symposium Inner Ear Pharmacology.
 - 2) Takeda T, Takeda S, Takumida M, Kakigi A, Sawada S, Azuma H, Higashiyama K. The effect of edravone on endolymphatic hydrops in guinea pigs. 40th Inner Ear Biology Workshop.
 - 3) Takeda T. Symposium: Update Clinical Problem: Hormonal aspects of Meniere's disease on basis of clinical and molecular studies. The 7th Japan-Taiwan Conference in Otolaryngology-Head and Neck Surgery.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

抗利尿ホルモン拮抗薬 OPC-31260 の蝸牛および全身におよぼす影響 — 全身投与と鼓室内投与の比較 —

柿木章伸, 竹田泰三(高知大学聴平衡・嚙下機能統御学)

【はじめに】

われわれは、メニエール病をはじめとする内リンパ水腫に血漿抗利尿ホルモン(VP)が深く関与することを報告してきた。これらの結果から、利尿ホルモン拮抗薬 OPC-31260(OPC)はメニエール病をはじめとする内リンパ水腫関連疾患の治療薬となりうると考える。今回われわれは、VP-AQP2 システムの阻害薬はメニエール病の治療薬となるか否かについて調べる目的で、OPCの全身(経口)および局所(経正円窓)投与の効果と内耳毒性の有無について検討した。

【方法】

白色モルモットを使用し以下の実験を行った。

実験 1

実験的内リンパ水腫モルモット 30 匹を使用した。左側内リンパ嚢を閉塞後 1 ヶ月間飼育し、以下の 3 群に分けて実験を行った。コントロール(OPC 非投与)群として 10 匹、全身投与群として 10 匹(OPC100mg/kg/8 時間×4 回を経口投与、投与終了後 6 時間目に組織を採取)、局所投与群として 10 匹(OPC1mg をキサンタンガム 5mg に混じ、左側正円窓膜上に留置し、30 時間後に組織を採取)を使用した。

側頭骨標本を作成し光学顕微鏡像から内リンパ腔面積とライスネル膜長をコンピューターシステムにて計測し 3 群間で比較した。

実験 2

正常モルモット 15 匹を使用し以下の 3 群に分けて実験を行った。コントロール(OPC 非投与)群として 5 匹、全身投与群として 5 匹(OPC100mg/kg/8 時間×4 回を経口投与、投与終了後 6 時間目に血液を採取)、局所投与群として 5 匹(OPC1mg をキサンタンガム 5mg に混じ、左側正円窓膜上に留置し、30 時間後に血液を採取)を使用した。

深麻酔下に断頭を行い、体幹から血液を採取し、血漿ハツプレッショと血漿浸透圧を測定し 3 群間で比較した

実験 3

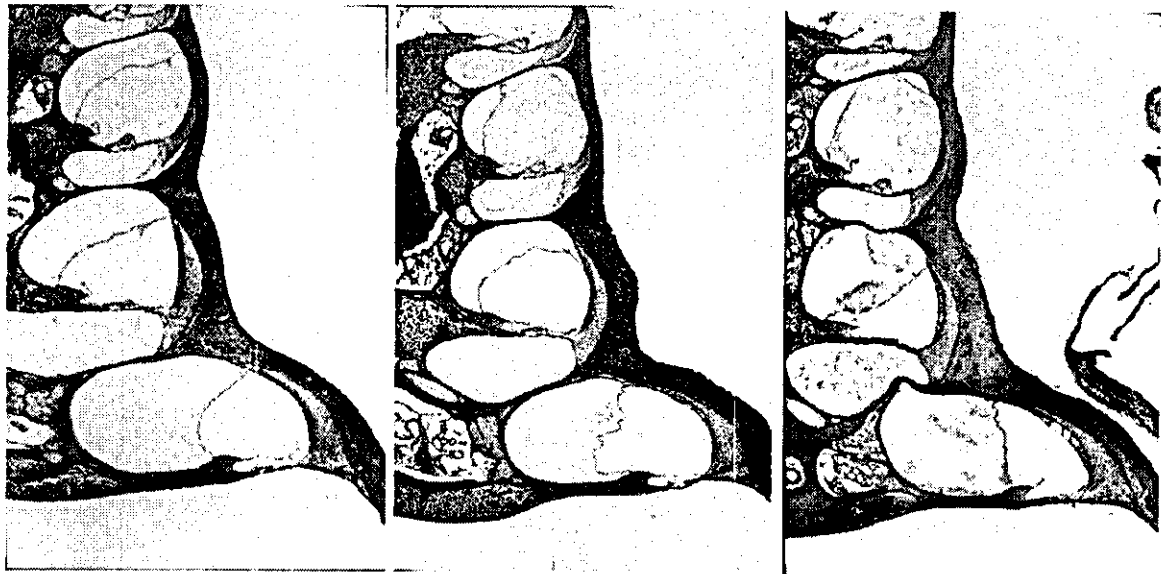
正常モルモット 5 匹を使用した。OPC1mg をキサンタンガム 5mg に混じ、左側正円窓膜上に 30 時間留置の後、両耳(OPC 側とコントロール側)の蝸牛内静止電位(EP)を第 2 回転から計測後、側頭骨を採取し光学および透過型電子顕微鏡にて観察した。

【結果】

実験 1

内リンパ水腫側において、局所投与群、全身投与群の順に内リンパ水腫がより軽減されている(図 1)。図 2 にライスネル膜長の増加率と中央階面積の増加率の散布図と回帰直線を示す。回帰直線の下方偏位は内リンパ腔容積の減少を表しており、OPC 全身投与と局所投与はいずれも内リンパ水腫を軽減させたが、局所投与のほうがより内リンパ水腫を軽減させた。ANOVA を用いて回帰直線間の統計学的解析を行ったところ、OPC 投与後の内リンパ水腫軽減効果は、全身投与よりも局所投与で統計学的有意に大きかったコントロール群と局所投与群は、正常蝸牛構造を示す。全身投与群では、ライスネル膜の延長を疑わせる。表 1 に各群のライスネル膜長の増加率と中央階面積の増加率を示す。OPC 局所投与群では、ライスネル膜長も中央階面積増加率もコントロールと差は認めなかった。しかしながら、OPC 全身投与群では、ライスネル膜長の有意な増加が認められ、全身投与は正常側に何らかの影響を及ぼしていることが示唆される。

内リンパ水腫側におけるOPGの影響



コントロール群

全身投与群

局所投与群

図1 内リンパ水腫側におけるOPCの影響

散布図と回帰直線

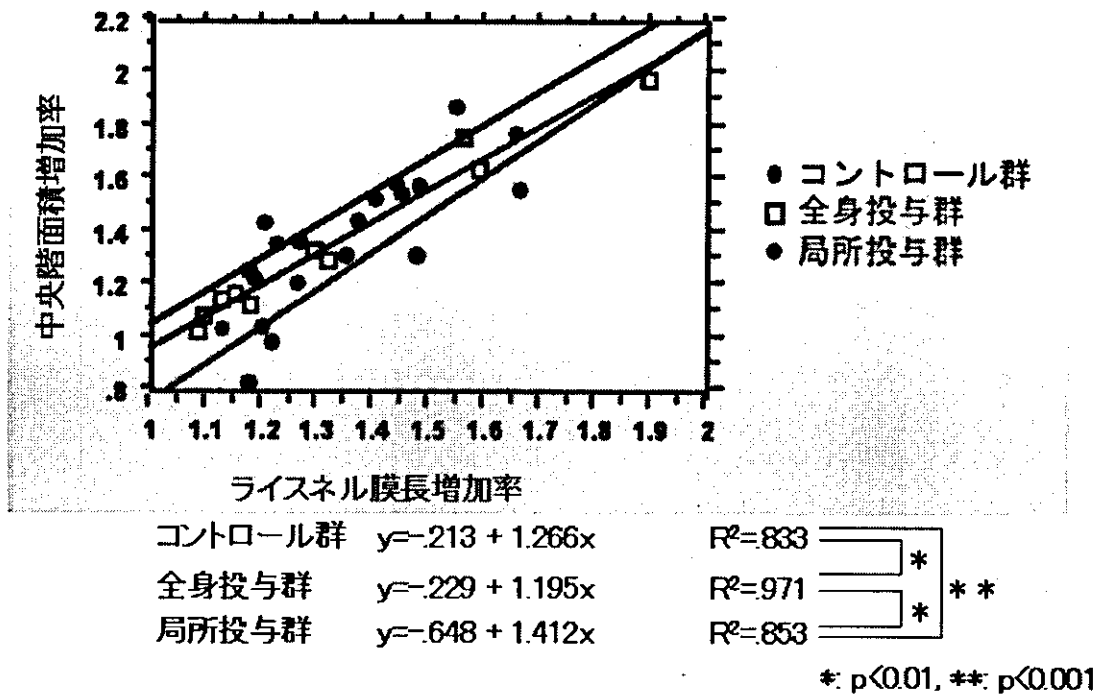


図2 ライスネル膜長増加率と中央階面積増加率の散布図と回帰直線

非手術側におけるOPCの影響

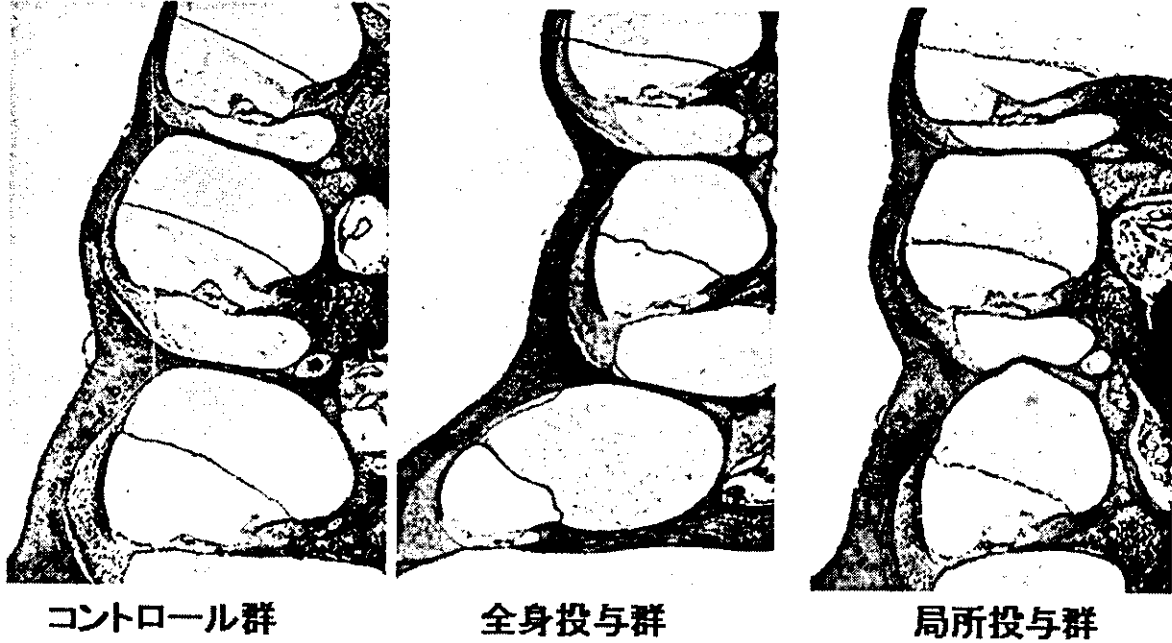


図3 非手術側における OPC の影響

非手術側における中央階容積変化

	コントロール群	全身投与群	局所投与群
ライスネル膜長増加率	1.02 ± 0.02	1.09 ± 0.04	1.04 ± 0.02
中央階面積増加率	1.07 ± 0.03	1.07 ± 0.16	1.07 ± 0.07

*
N.S.
N.S.

*: p<0.01

表1 非手術側におけるライスネル膜長増加率と中央階面積増加率

実験 2

表 2 に, OPC の血漿 VP 値と血漿浸透圧におよぼす影響を各群間で比較した. OPC の全身投与群では血漿 VP 値と血漿浸透圧が有意に上昇していた. 血漿 VP 上昇が OPC 全身投与時のライスネル膜伸展と関係があると考えられる.

OPC の血漿VPと血漿浸透圧におよぼす影響

	コントロール群	全身投与群	局所投与群
血漿VP値 (pg/ml)	1.8 ± 0.4	19.9 ± 5.0	1.4 ± 0.4
	*		*
	N.S.		
血漿浸透圧値 (mOsm/kg)	294.0 ± 4.0	360.8 ± 31.4	291.4 ± 3.1
	*		*
	N.S.		

*: p<0.05, Cochran-Cox test

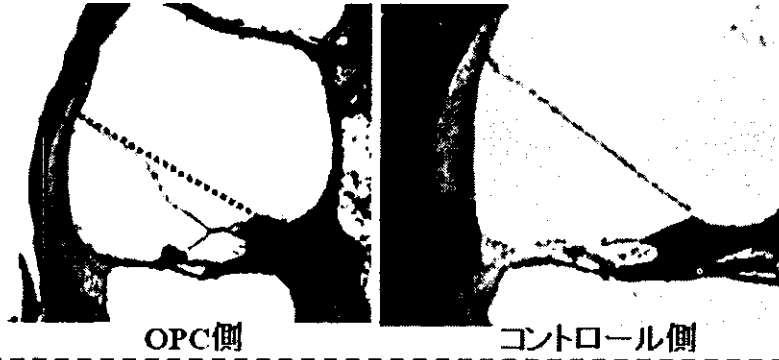
表 2 OPC の血漿 VP 値と血漿浸透圧におよぼす影響

実験 3

OPC の局所投与後の EP の変化について検討したが, OPC 投与側の EP は 83.7 ± 3.04 mV, コントロール側 82.1 ± 2.25 mV であり, 有意差は認められなかった.

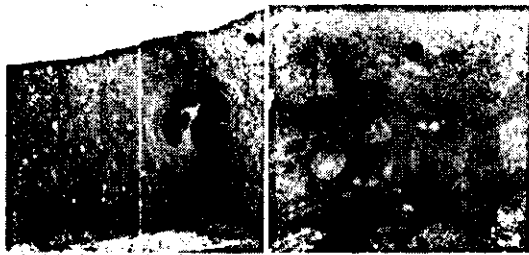
OPC の局所投与後の形態学的変化を, 図 4 に示す. 光学顕微鏡的には, 内リンパ腔の虚脱を認めるが, 透過型電子顕微鏡像では, 血管条, 外有毛細胞に形態異常を認めなかった.

EP測定後の蝸牛形態
光顕像



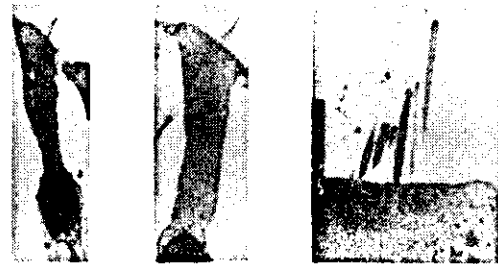
◇OPC側に内リンパ
腔虚脱を認める

透過型電顕像
血管条(OPC側)



◇血管条にオートゾームの軽度増加を認める
が形態学的に異常は認めない

外有毛細胞(OPC側)



◇外有毛細胞に形態学的異常を認めない

図4 OPCの局所投与後の形態学的変化

【考察】

今回の結果は、これまでのわれわれが報告してきた VP-AQP2 システムが内耳液の制御を行っているという仮説を支持するものであった。すなわち、VPの阻害薬である OPC を全身および局所に投与することで、内リンパ腔容積を著明に減少させた。いずれの投与方法においてもメニエール病の病態に対する治療となる、内リンパ水腫の軽減は行われていた。しかしながら、全身投与において、OPC は腎臓に作用し尿量を増加させ血漿浸透圧を上昇させた。その結果として、二次的に血漿 VP 値の上昇をもたらした。この VP 値上昇が、対側耳(正常耳)に影響を及ぼしていた。したがって、OPC をメニエール病の治療薬として使用する場合は局所投与が適しており、メニエール病の治療薬となりうると考える。また、今回は媒体としてキサンタンガムを使用した。内耳への生理学的および形態学的な有害事象は認めなかった。このことは、キサンタンガムを用いた内耳への薬物投与方法の可能性をうかがわせている。

急性内リンパ水腫の外リンパ腔 K⁺濃度(第3報)

柿木章伸, 竹田泰三(高知大学神経統御学聴平衡・嚙下機能学)

【はじめに】

メニエール病の病理組織学的特長は内リンパ水腫であることはよく知られている。しかし、メニエール病の発作が発生する機序は未だ説明されていない。発作の機序に関しては、内耳圧の上昇、膜迷路破裂、外リンパ腔の高カリウムイオン(K⁺)化が考えられている。本研究は、反復性の発作を説明するには外リンパ腔の高 K⁺化が最も適していると考え、実験的内リンパ水腫動物を作成し、内リンパ水腫形成期の外リンパ腔 K⁺濃度を測定した。

【方法】

有色モルモット 22 匹を使用し、急性内リンパ水腫動物を作成し、同時に前庭階もしくは鼓室階 K⁺濃度を計測した。手術は全身麻酔下に腹側から中耳骨胞を開放し蝸牛を露出させた。急性内リンパ水腫作成には、蝸牛第二回転から蝸牛内静止電位(EP)をモニターしながら、内リンパ腔内に人工内リンパ液を電動ポンプで注入した。人工内リンパ液注入量は、0.1 から 5 μ l とし、注入時間はいずれも 10 分間とした。前庭階もしくは鼓室階 K⁺濃度は、第 3 回転からダブルバレル K⁺電極を使用し測定した。

【結果】

図1に人工内リンパ液注入による前庭階 K⁺濃度と EP の経時変化の典型例を示す。人工内リンパ液注入により EP は増大し、前庭階 K⁺濃度も増加した。人工内リンパ液注入が終了すると EP も前庭階 K⁺濃度も注入前値へ回復傾向を示した。図2に人工内リンパ液注入による鼓室階 K⁺濃度と EP の経時変化の典型例を示す。前庭階と同様、人工内リンパ液注入により EP は増大し、鼓室階 K⁺濃度も増加し、人工内リンパ液注入が終了すると EP も K⁺濃度も注入前値へ回復傾向を示した。図3に人工内リンパ液注入量と前庭階および鼓室階 K⁺濃度の変化量を散布図に示す。人工内リンパ液の注入量が 3 μ l までは、前庭階 K⁺濃度の変化量は数 mM であった。5 μ l 注入では、前庭階 K⁺濃度は約 25mM、鼓室階ではやく 7mM 増加した。

【考察】

今回の結果から、急速に内リンパ腔容積の増大をきたした場合、前庭階および鼓室階の K⁺濃度は上昇することがわかった。今回の研究では、5 μ l の人工内リンパ液を蝸牛管に注入した場合に有意な K⁺濃度の上昇を認めた。内リンパ腔容積が 2 μ l であることを考えると、5 μ l の注入は多すぎるように思える。しかし、Rask-Andersen ら(1)が報告しているように、内リンパ嚢が内リンパ腔容積のリザーバー的役割を行っていること、以前我々が報告した(2)、2 μ l の人工内リンパ液を蝸牛管に注入した実験でも、軽度の内リンパ水腫しか見られなかったことから、5 μ l の注入はメニエール病の病態から大きく逸脱しているとはいえない。したがって、今回の研究は、メニエール病の発作が外リンパ腔の高カリウム化によるという仮説を支持する結果と考える。

【参考文献】

- 1) Rask-Andersen H, DeMott JE, Bagger-Sjoberg D, Salt AN. Morphological changes of the endolymphatic sac induced by microinjection of artificial endolymph into the cochlea. *Hear Res.* 1999;138:81-90.
- 2) Kakigi A, Takeda T. Effect of artificial endolymph injection into the cochlear duct on the endocochlear potential. *Hear Res.* 1998;116:113-8.

人工内リンパ液注入による前庭階K⁺とEPの経時変化

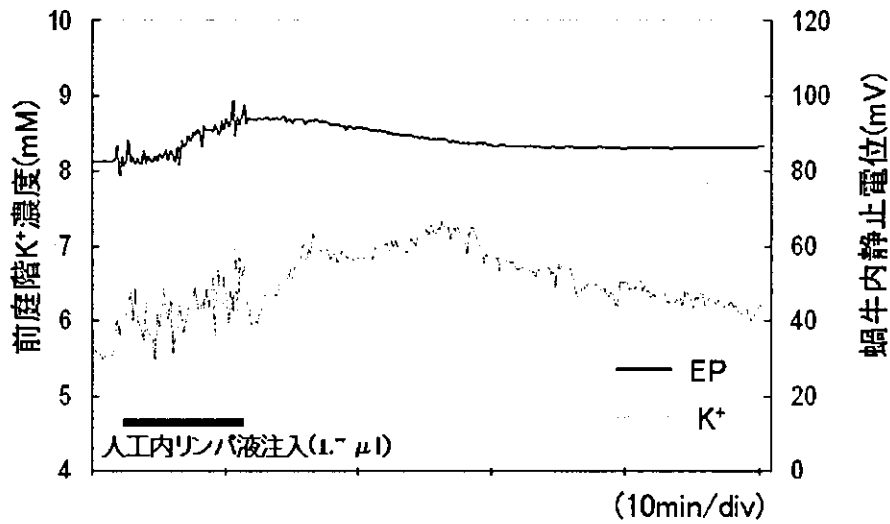


図1 人工内リンパ液注入による前庭階 K⁺濃度とEPの経時変化. 人工内リンパ液注入によりEPは増大し, 前庭階 K⁺濃度も増加した. 人工内リンパ液注入が終了するとEPも前庭階 K⁺濃度も注入前値へ回復傾向を示した.

人工内リンパ液注入による鼓室階K⁺とEPの経時変化

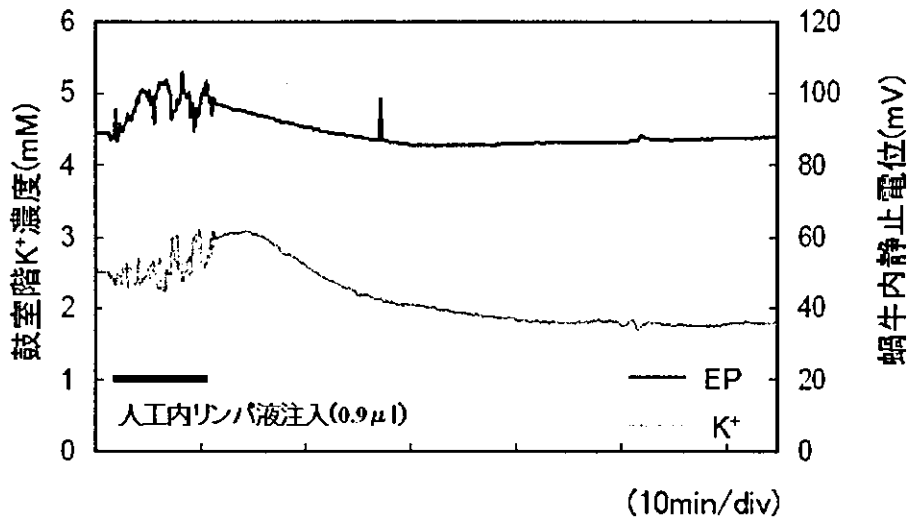


図2 人工内リンパ液注入による鼓室階 K⁺濃度とEPの経時変化. 人工内リンパ液注入によりEPは増大し, 鼓室階 K⁺濃度も増加した. 人工内リンパ液注入が終了するとEPも鼓室階 K⁺濃度も注入前値へ回復傾向を示した.

人工内リンパ液注入と前庭階および鼓室階K⁺濃度の変化

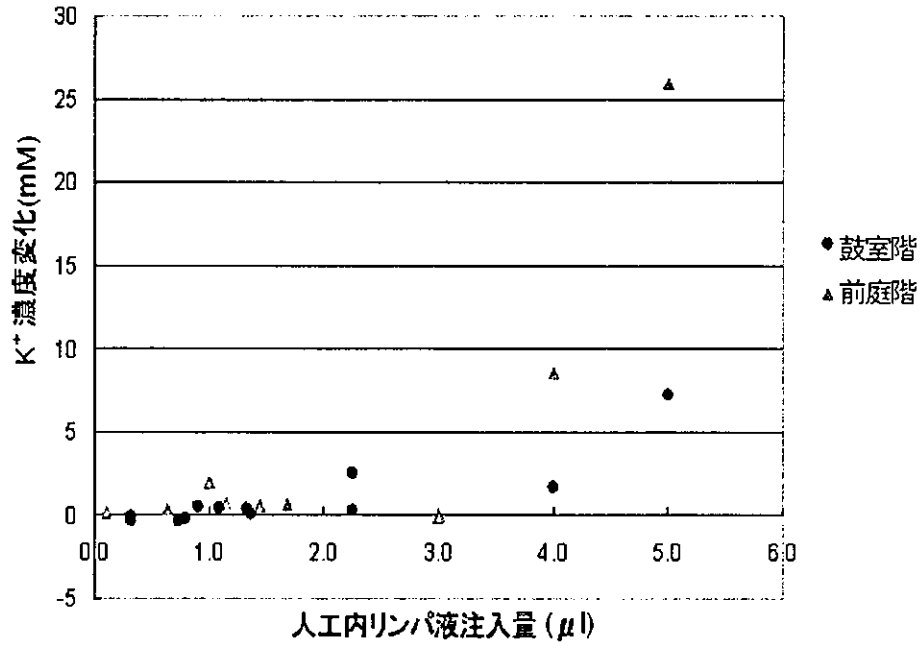


図3 人工内リンパ液注入量と前庭階および鼓室階 K⁺濃度の変化量.

前庭階 K⁺濃度は、注入量が 4 μl 以上で有意に増加した. 鼓室階 K⁺濃度は、注入量が 5 μl で有意に増加した.

リチウムの全身投与が内耳におよぼす影響 —内リンパ水腫との関連について—

竹田泰三, 柿木章伸 (高知大学聴平衡・嚙下機能統御学)

【はじめに】

内耳は、その大部分は水で占められおり、内耳機能を維持するためには水代謝が重要な役割を持つであろう事は容易に推察できる。細胞膜を通しての水の移動は、浸透圧勾配に従った膜の浸透性でもある程度は可能であるが、速い動きは水チャネルを介して行われることが知られている。実際、内耳には多くの水チャネルが存在する。特に、腎臓での重要な水代謝を担う aquaporin2 (AQP2) 蛋白によって構成される水チャネルが内耳に存在することは注目に値する。この水チャネルは、arginine vasopressin (AVP) によって制御されることで有名であるが、多くの阻害薬もよく知られている。Manic-depression の治療薬として使われる Lithium も AQP2 の産生を阻害し、Lithium 性尿崩症による多尿をもたらす。我々は、以前、AVP の2型レセプター (V2-R) の阻害剤 (OPC-31260) が内耳の AVP-AQP2 システムに作用して内リンパ腔の虚脱をもたらすことを示した。Lithium も OPC-31260 と同様に内耳の AVP-AQP2 システムに作用し、内耳の AQP2 蛋白の産生を阻止し、内耳虚脱をもたらす可能性が考えられる。本報告では、内耳における AQP2 mRNA の発現に及ぼす lithium の影響を検討すると同時に、実験的内リンパ水腫動物に lithium を負荷して内リンパ水腫に及ぼす影響を検討した。

【対象と方法】

実験 1: 定量 PCR による検討

対象動物は BN ラット雄 8 匹 (200-300g) を用いた。これらを各4匹からなる二群に分けて、通常飼料で4週間飼育したコントロール群と 60 mM/kg LiCl 含有飼料で4週間飼育した lithium 処置群とした。4週間の飼育後、ペントバルビタール深麻酔後、リン酸バッファー (PBS) で経心灌流、続いて内耳及び内リンパ囊、腎臓を摘出後直ちに total RNA を抽出した (Quiagen, RNeasy kit)。さらに逆転写にて cDNA を作成し (Gibco BRL, Super Script II Kit)、それぞれの cDNA を template として、Light Cycler Fast start DNA Master SYBR Green I (Roche) を用いて AQP2 及び内部標準遺伝子 β -actin の定量 PCR を行った。AQP2 mRNA 量 (MAQP2) の評価は、内部標準遺伝子である β -Actin mRNA 量 ($M\beta$ -Actin) との比 (MAQP2/ $M\beta$ -Actin) を用い、コントロールの平均値を1として比較することによって解析した。

実験 2: 組織学的検討

硬膜外で左耳内リンパ囊開口部を閉塞した実験的内リンパ水腫モルモット 30 匹を使用した。動物は、内リンパ囊閉塞後8週間飼育されたが、10匹は通常飼料で、残りの20匹は4週後より lithium 含有飼料で飼育された。飼料の Lithium の含有量は、10匹では6mM/kg、残りの10匹では60 mM/kgとした。上述した条件で8週間飼育後、全動物は組織学的検索に供された。組織学的検討は、HE 染色の蝸牛軸切片よりライスネル膜長と内リンパ腔面積をコンピューターシステムにて計測し、ライスネル膜の伸展度 (%), 中央階の膨化度 (%) を求め、3 群間で比較、検討した。

【結果】

実験 1: 定量 PCR による検討

AQP2 mRNA 量 (MAQP2) と β -Actin mRNA 量 ($M\beta$ -Actin) の比を 60mM 投与群とコントロール群で臓器別に比較した (図 2)。AQP2 mRNA の発現量 (MAQP2/ $M\beta$ -Actin 値) が、腎臓において 19.4% ($p < 0.01$)、蝸牛で 6.48% ($p < 0.01$)、内リンパ囊で 42.2% ($p < 0.05$) と有意に減少した (Student t-test)。リチウムは腎臓だけでなく、内耳の AQP2 mRNA の発現量をも有意に低下させた。