

- disruption of adherens junctions in the mouse vesicular epithelium following aminoglycoside treatment. The 40th meeting of the Inner Ear Biology Society. 2003/9/7~2003/9/10. Granada, Spain.
- 15) Kita T, Nakagawa T, Lee JE, Kim TS, Endo T, Iguchi F, Shiga A, Naito Y, Ito J: Mechanisms of apoptosis of marginal cells in mouse stria vascularis induced by cisplatin. The 40th meeting of the Inner Ear Biology Society. 2003/9/7~2003/9/10. Granada, Spain.
- 16) Kitajiri S, Fukumoto K, Kikuchi S, Hata M, Nakagawa T, Kim TS, Sasaki H, Ito J, Tsukita S, Tsukita S: Deafness in radixin-deficient mice due to the degeneration of stereocilia in the cochlea hair cell. The 40th meeting of the Inner Ear Biology Society. 2003/9/7~2003/9/10. Granada, Spain.
- 17) Naito Y, Nakamura T, Nakagawa T, Iguchi F, Endo T, Fujino K, Kim TS, Hiratsuka Y, Tamura T, Kanemaru S, Shimizu Y, Ito J: Distribution and fate of autologous bone marrow stromal cells transplanted into the cochlea of gentamicin-treated chinchillas. The 40th meeting of the Inner Ear Biology Society 2003/9/7~2003/9/10. Granada, Spain.
- 18) Nakagawa T, Ito J: Surgical techniques for treatment of the mouse inner ear. The 40th meeting of the Inner Ear Biology Society. 2003/9/7~2003/9/10. Granada, Spain.
- 19) Nakagawa T, Kim TS, Endo T, Sakamoto T, Iguchi F, Naito Y, Sasai Y, Ito J: Restoration of auditory primary neurons by transplantation of embryonic stem cells of mice. The 40th meeting of the Inner Ear Biology Society. 2003/9/7~2003/9/10. Granada, Spain.
- 20) Akiko T, Nishida, Kojima Ken, Ito J: A Novel gene, OC29, is expressed in the developing rat inner ear. The 40th meeting of the Inner Ear Biology Society. 2003/9/7~2003/9/10. Granada, Spain.
- 21) 井口福一郎, 中川隆之, 遠藤 剛, 金 泰秀, 小島 憲, 喜多知子, 竹林慎治, 田村哲也, 岩井浩治, 内藤 泰, 伊藤壽一: マウス内耳への細胞移植方法の検討. 第13回日本耳科学会. 2003年10月16日~2003年10月18日. 千葉.
- 22) 岩井浩治, 中川隆之, 遠藤 剛, 金 泰秀, 井口福一郎, 山本典生, 竹林慎治, 内藤 泰, 伊藤壽一: 発生段階の内耳感覚上皮における細胞増殖制御機構. 第13回日本耳科学会. 2003年10月16日~2003年10月18日. 千葉.
- 23) 遠藤 剛, 中川隆之, 喜多知子, 金 泰秀, 井口福一郎, 内藤 泰, 伊藤壽一: 新しい内耳薬剤局所投与方法: 徐放性ジェルの応用. 第13回日本耳科学会. 2003年/10/16~18. 千葉.
- 24) 喜多知子, 中川隆之, 金 泰秀, 井口福一郎, 遠藤 剛, 志賀 敦, 小島 憲, 内藤 泰, 伊藤壽一: シスプラチン誘発血管条障害におけるアポトーシス発生機序の解明. 第13回日本耳科学会. 2003年10月16日~2003年10月18日. 千葉.
- 25) 北尻真一郎, 中川隆之, 金 泰秀, 伊藤壽一: アミノ配糖体耳毒性におけるERM蛋白の関与. 2003年10月16日~2003年10月18日. 千葉.
- 26) 金 泰秀, 中川隆之, 坂本達則, 小島 憲, 田村すなほ, 喜多知子, 竹林慎治, 岩井浩治, 田村哲也, 井口福一郎, 遠藤 剛, 内藤 泰, 伊藤壽一: 器官培養内耳への胚性幹細胞移植. 第13回日本耳科学会. 2003年10月16日~2003年10月18日. 千葉.
- 27) 志賀 敦, 中川隆之, 中山明峰, 稲福繁, 遠藤 剛, 井口福一郎, 金 泰秀, 内藤 泰, 伊藤壽一: C57BL/6 マウスにおける加齢と内耳機能の関係. 第13回日本耳科学会. 2003年10月16日~2003年10月18日. 千葉.
- 28) 田浦晶子, 伊藤壽一: 内耳の機能的再生. 第13回日本耳科学会. 2003年/10/16~18. 千葉.
- 29) 竹林慎治, 中川隆之, 小島 憲, 金 泰秀, 喜多知子, 遠藤 剛, 井口福一郎, 内藤 泰, 伊藤壽一: マウス発生期の蝸牛における b-catenin の発現について. 第13回日本耳科学会. 2003年10月16日~2003年10月18日.

- 日、千葉。
- 30) 田村哲也, 中川隆之, 金 泰秀, 遠藤 剛, 井口福一郎, 志賀 敦, 内藤 泰, 伊藤壽一: 神経幹細胞移植によるラセン神経節細胞再生. 第13回日本耳科学会. 2003年10月16日~2003年10月18日. 千葉.
- 31) 中川隆之, 遠藤 剛, 金 泰秀, 坂本達則, 井口福一郎, 竹林慎治, 田村哲也, 岩井浩治, 小島 憲, 喜多知子, 内藤 泰, 伊藤壽一: 胚性幹細胞移植によるラセン神経節再生. 第13回日本耳科学会. 2003年10月16日~2003年10月18日. 千葉.
- 32) 山本典生, 中川隆之, 伊藤壽一: Notch/RBP-J シグナル伝達系の阻害は生後マウスの内耳において異所性有毛細胞を誘導する. 第13回日本耳科学会. 2003年/10/16~18. 千葉.
- 33) 井口福一郎, 中川隆之, 遠藤 剛, 金 泰秀, 田村哲也, 竹林慎治, 喜多知子, 内藤 泰, 伊藤壽一: マウス内耳への細胞移植方法の検討. 第24回日本炎症・再生医学会. 2003年11月26日~2003年11月27日. 京都.
- 34) 喜多知子, 中川隆之, Lee JiEun, 金 泰秀, 井口福一郎, 遠藤 剛, 志賀 敦, 小島 憲, 内藤 泰, 伊藤壽一: シスプラチン誘発血管条障害における細胞死機構. 第24回日本炎症・再生医学会. 2003年11月26日~2003年11月27日. 京都.
- 35) 竹林慎治, 中川隆之, 小島 憲, 金 泰秀, 喜多知子, 遠藤 剛, 井口福一郎, 内藤 泰, Dong Youyi, 伊藤壽一: マウス蝸牛の発生期における細胞増殖調節機構. 第24回日本炎症・再生医学会. 2003年11月26日~2003年11月27日. 京都.
- 36) 中川隆之: 幹細胞を用いた内耳再生医療の開発. 第24回日本炎症・再生医学会. 2003年11月26日~2003年11月27日. 京都.
- 37) 中川隆之, 楯谷一郎, 井口福一郎, 金 泰秀, 遠藤 剛, 田村哲也, 喜多知子, 小島 憲, 内藤 泰, 伊藤壽一: 神経幹細胞移植による内耳再生. 第24回日本炎症・再生医学会. 2003年11月26日~2003年11月27日. 京都.
- 38) 内藤 泰: シンポジウム 脳機能画像からみた空間識. 第62回日本めまい平衡医学会. 第62回日本めまい平衡医学会. 2003年11月28日. 横浜.
- 39) Ito J, Nakagawa T, Tateya I, Kim TS, Endo T, Iguchi F, Lee JE, Murai N, Yamamoto N, Naito Y: Transplantation of neural stem cells into the mouse inner ear. The 9th Korea-Japan joint meeting of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery. 2002/4/24~2002/4/25. Soul, Korea.
- 40) Kim TS, Nakagawa T, Endo T, Iguchi F, Murai N, Naito Y, Lee JE, Ito J: E-cadherin and b-catenin in apoptotic processes in mouse vestibular epithelia. The 9th Korea-Japan joint meeting of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery. 2002/4/24~2002/4/25. Soul, Korea.
- 41) Lee JE, Nakagawa T, Kim TS, Iguchi F, Endo T, Naito Y, Ito J, Lee SH: A mouse model for rapid spiral ganglion cell degeneration. The 9th Korea-Japan joint meeting of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery. 2002/4/24~2002/4/25. Soul, Korea.
- 42) Nakagawa T, Kim T, Endo T, Lee J, Iguchi F, Murai N, Naito Y, Ito J: p27 expression in adult mouse inner ear and its alteration after insults. The 9th Korea-Japan Joint Meeting of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery. 2002/4/24~2002/4/25. Soul, Korea
- 43) Nakagawa T, Kim TS, Endo T, Lee JE, Iguchi F, Murai N, Naito Y, Ito J: Alteration of p27 expression in mouse inner ear during degeneration. The 9th Korea-Japan joint meeting of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery. 2002/4/24~2002/4/25. Soul, Korea
- 44) 伊藤壽一: 臨床セミナー9 人工内耳医療の現状. 第103回日本耳鼻咽喉科学会. 2002年5月16日~2002年5月18日. 東京.
- 45) 井口福一郎, 中川隆之, 田中明子, 村井紀彦, 遠藤 剛, 金 泰秀, 楯谷一郎, 山本典生, 伊藤壽一: 内耳細胞移植のレシピエントモデル. 第103回日本耳鼻咽喉科学会. 2002年5月16

- 日～2002年5月18日。東京。
- 46) 遠藤 剛, 中川隆之, 坂本達則, 金 泰秀, 井口福一郎, 楯谷一郎, 村井紀彦, 山本典生, 伊藤壽一: 内耳への胚性幹細胞移植. 第103回日本耳鼻咽喉科学会. 2002年5月16日～2002年5月18日。東京。
- 47) 金 泰秀, 中川隆之, 遠藤 剛, 井口福一郎, 村井紀彦, 伊藤壽一: 内耳感覚上皮修復過程における接着分子の役割. 第103回日本耳鼻咽喉科学会. 2002年5月16日～2002年5月18日。東京。
- 48) 中川隆之, 楯谷一郎, 遠藤 剛, 金 泰秀, 井口福一郎, 山本典生, 坂本達則, 村井紀彦, 伊藤壽一: 神経幹細胞は内耳感覚細胞に分化するか? 第103回日本耳鼻咽喉科学会. 2002年5月16日～2002年5月18日。東京。
- 49) 伊藤壽一: 幹細胞移植による内耳有毛細胞の再生. 第9回日本臓器保存生物医学学会. 2002年5月25日～2002年5月25日。東京。
- 50) Ito J, Nakagawa T, Tateya I, Kim T, Endo T, Iguchi F, Lee J, Murai N, Yamamoto N, Sakamoto N, Tanaka A and Naito Y: Transplantation of the neural stem cells into the mouse inner ear. The 36th Karolinska Institutet Nobel Conference To Restore Hearing. 2002/6/9～2002/6/13. Krusenborg, Sweden.
- 51) 伊藤壽一: ワークショップ (10) 感覚器障害と再生医学 1内耳有毛細胞の再生. 第23回日本炎症・再生医学会. 2002年7月2日～2002年7月2日。東京。
- 52) 伊藤壽一: 前庭系の解剖と生理. 第19回日本めまい平衡医学会医師講習会. 2002年7月14日～2002年7月16日。京都。
- 53) 中川隆之: 内耳有毛細胞の再生. 日本めまい平衡医学会夏期セミナー. 2002年7月20日～2002年7月20日。東京。
- 54) Endo T, Nakagawa T, Kim TS, Iguchi F, Lee JE, Murai N, Taniguchi Z, Dong Y, Naito Y, Ito J: p27 expression in the adult mouse cochlea and its alteration after insults. The 39th meeting of the Inner Ear Biology Society. 2002/9/8～2002/9/10. Liege, Belgium.
- 55) Iguchi F, Nakagawa T, Tateya I, Kim TS, Endo T, Lee JE, Dong Y, Naito Y, Ito J: Transplantation of neural stem cells into the mouse inner ear. The 39th meeting of the Inner Ear Biology Society. 2002/9/8～2002/9/10 Liege, Belgium.
- 56) Naito Y, Nakamura T, Iguchi F, Fujino K, Endo T, Kanemaru S, Nakagawa T, Shimizu Y, Ito J: Transplantation of autologous mesenchymal stem cells into the spiral ganglion in gentamicin treated chinchillas. The 39th meeting of the Inner Ear Biology Society. 2002/9/8～2002/9/10. Liege, Belgium.
- 57) Nakagawa T, Iguchi F, Tateya I, Kim TS, Endo T, Naito Y, Ito J: Cell therapy for application of neurotrophins into mouse inner ear. The 39th meeting of the Inner Ear Biology Society. 2002/9/8～2002/9/10. Liege, Belgium.
- 58) Nakamura T, Fukuda S, Shimizu Y, Naito Y: Introduction of neural stem cell from the bone marrow cells of Chinchilla. The 39th meeting of the Inner Ear Biology Society. 2002/9/8～2002/9/10. Liege, Belgium.
- 59) Naito Y, Tateya I, Hirano S, Inoue I, Funabiki K, Toyoda H, Ueno M, Ishizu K, Fukuyama H, Ito J: Cortical correlates of vestibulo-ocular reflex modulation: a PET study. XXII Meeting of the Barany Society. 2002/9/26～2002/9/29. Seattle, USA.
- 60) Nakagawa T, Ito J, Tateya I, Iguchi F, Kim T, Endo T, Naito Y, Murai N: Cell therapy for application of neurotrophins into mouse inner ear. XXII Meeting of the Barany Society. 2002/9/26～2002/9/29. Seattle, USA.
- 61) Tsuji J, Murai N, Naito Y, Funabiki K, Ito J, Hirano T, Mishima M: Visual fixation suppression of caloric nystagmus in mutant mice deficient in delta 2 glutamate receptors. XXII Meeting of the Barany Society. 2002/9/26～2002/9/29. Seattle, USA.
- 62) 井口福一郎, 李芝恩, 中川隆之, 金 泰秀, 遠藤 剛, 内藤 泰, 伊藤壽一: シスプラチン投与

- におけるマウスらせん神経節傷害モデル. 第 12 回日本耳科学会. 2002 年 10 月 10 日～2002 年 10 月 12 日. 東京.
- 63) 遠藤 剛, 中川隆之, 金 泰秀, 李芝恩, 井口福一郎, 山本典生, 内藤 泰, 伊藤壽一: コルチ器およびラセン神経節における p27 の局在と耳毒性処置後の変化. 第 12 回日本耳科学会. 2002 年 10 月 10 日～2002 年 10 月 12 日. 東京.
- 64) 金 泰秀, 中川隆之, 北尻真一郎, 遠藤 剛, 井口福一郎, 李芝恩, 内藤泰, 伊藤壽一: アミノ配糖体内耳障害モデルにおける接着分子の役割. 第 12 回日本耳科学会. 2002 年 10 月 10 日～2002 年 10 月 12 日. 東京.
- 65) 坂本達則, 中川隆之, 金 泰秀, 遠藤 剛, 井口福一郎, 楯谷一郎, 山本典生, 伊藤壽一: 胚性幹細胞の内耳移植. 第 12 回日本耳科学会. 2002 年 10 月 10 日～2002 年 10 月 12 日. 東京.
- 66) 楯谷一郎, 中川隆之, 井口福一郎, 金 泰秀, 遠藤 剛, 内藤 泰, 伊藤壽一: 神経幹細胞の内耳移植後の分化. 第 12 回日本耳科学会. 2002 年 10 月 10 日～2002 年 10 月 12 日. 東京.
- 67) 中川隆之, 井口福一郎, 楯谷一郎, 金 泰秀, 遠藤剛, 内藤泰, 伊藤壽一: 神経幹細胞による内耳栄養因子投与. 第 12 回日本耳科学会. 2002 年 10 月 10 日～2002 年 10 月 12 日. 東京.
- 68) Lee JE, Nakagawa T, Kim TS, Iguchi F, Endo T, Ito J, Lee SH: Apoptotic pathways of spiral ganglion neurons with rapid degeneration. The 6th international academic conference on immuno & molecular biology in otorhinolaryngology. 2002
- 69) 中川隆之, 井口福一郎, 藤野清大, 遠藤 剛, 金 泰秀, 谷口善知, 内藤 泰, 伊藤壽一: ラット卵形嚢器官培養による増殖期細胞の誘導. 第 61 回日本めまい平衡医学会. 2002 年 10 月 30 日～2002 年 10 月 31 日. 富山.
- 70) 伊藤壽一: アドバンスド・コース 2. 再生医学・移植医学と耳鼻咽喉科: 再生医学と内耳. 第 16 回日本耳鼻咽喉科学会専門医講習会. 2002 年 11 月 9 日～2002 年 11 月 10 日. 千葉.
- 71) Naito Y, Nakamura T, Iguchi F, Fujino K, Endo T, Kanemaru S, Nakagawa T, Shimizu Y, Ito J: Transplantation of autologous mesenchymal stem cells into the cochlear modiolus in gentamicin-treated chinchillas. The 5th Tissue Engineering Society International. 2002/12/8～2002/12/10. Kobe, Japan.
- 72) Ito J, Naito Y, Nakagawa T, Tateya I, Iguchi F, Endo T, Kim TS, Nakamura T, Kageyama R: Transplantation Approaches for Inner Ear Diseases. The 26th ARO Midwinter Meeting. 2003/2/22～2003/2/27. Florida, USA.
- 73) Naito Y, Nakamura T, Iguchi F, Fujino K, Endo T, Hiratsuka Y, Kanemaru S, Nakagawa T, Shimizu Y, Ito J: Transplantation of autologous mesenchymal stem cells into the cochlear of the chinchilla. The 26th ARO Midwinter Meeting. 2003/2/22～2003/2/27. Florida, USA.
- 74) Nakagawa T, Iguchi F, Tateya I, Kim TS, Endo T, Naito Y, Ito J: Neurotrophin Application into the Inner Ear by Transplantation of Neural Stem Cells of Mice. The 26th ARO Midwinter Meeting. 2003/2/22～2003/2/27. Florida, USA.
- 75) Tateya I, Nakagawa T, Iguchi F, Kim TS, Endo T, Kageyama R, Ito J: The Ability for Differentiation of Neural Stem Cells in the Inner Ear of Mice. The 26th ARO Midwinter Meeting. 2003/2/22～2003/2/27. Florida, USA.

めまいの病因および治療に関する研究

分担研究者 久保 武 大阪大学教授

研究要旨

めまいの病態に関する研究として、次の3つの研究を行った。

①空間認知を調べるため、放射状迷路テストを用いて検討した。過重力負荷を受けたラットではコントロール動物に比べ空間記憶学習が障害を受けていた。その結果、一度入ったアームを選ぶ確率が高いが、運動量の増加により多くのアームに入り、最終的に獲得したえさの数には差がなかった。前庭破壊や過重力負荷で空間記憶に障害を受けた動物は運動量の増加により固有覚や遠心コピーを増加させ、障害された空間識を補っている可能性があると考えられた。

②前庭代償の中核機序を Microarray 法という一度に1万種以上の遺伝子の発現を比較できる最新の方法を用いて調べた。一側内耳破壊後に前庭神経核で発現に左右差を生じる遺伝子を特定し、めまい治療の薬剤選択の根拠を明らかとした。

③メニエール病の遺伝的素因をゲノム解析により調べ、KCNE1, KCNE3 遺伝子の内 2 種類の SNPs (KCNE1 遺伝子上の 112A, KCNE3 遺伝子上の 198C)は、メ群において統計学的に有意に高率に認められることが判明した。これらの SNPs がメ病の発症に何らかの遺伝的背景を与える可能性が推察された。

治療に関連する研究として、次の2つの研究を行った。

④近年、選択的セロトニン再取り込み阻害薬(SSRI)が新規抗うつ／抗不安薬としてうつやパニック障害に広く用いられるようになってきた。本研究ではめまい患者に SSRI を投与し、その前後のうつ状態を Self rating Depression Scale (SDS)を用いて、まためまいの自覚症状に関しては我々の開発しためまいアンケートを用いて検討した。器質疾患の有無に関わらず SDS 高値群では SSRI は患者のうつ状態を改善させるだけでなく、めまいによる自覚症状(日常生活障害度)の改善に有用であることが判明した。

⑤難治性メ病に対し、内リンパ嚢開放術、迷路破壊術、前庭神経切断術等が行われているが、ゲンタマイシン(GM)鼓室内投与は最も簡便な方法である。GM 鼓室内投与によってめまい発作回数の抑制、患者の自覚的満足度の面からその有効性が確認された。主な副作用は一過性のふらつきであるが、大多数の症例では 1 年後には軽快していた。GM 鼓室内投与は難治性メ病に対して、簡便、有用でかつ比較的安全な治療法である事が結論できた。

A. 研究方法

①空間認知の障害の実験には Wistar 系雄性ラットを用いた。両側前庭破壊後 5 週間の回復期の動物、あるいは 2G の強さで 2 週間の過重力負荷をした動物を用いて、空間記憶テストを行った。

②ラットの一側内耳破壊 6 時間後に左右の前庭神経核で発現に差を生じる遺伝子について Microarray 法を用いて網羅的に検討した。Microarray の結果は real-time PCR 法を用いて再確認した。

③メ病確実例 63 人よりインフォームドコンセントを得た上で採血しゲノム抽出を行った。KCNE1 遺伝子上の 112G/A 変異, KCNE3 遺伝子上の 198T/C 変異の両者について、メ病確実例および非メ病患者(対象群;KCNE1 遺伝子については 237 例, KCNE3

遺伝子については 211 例)から抽出したゲノムにおいてそれぞれの一塩基変異(SNP: single nucleotide polymorphism)がどのような比率で存在するのかを決定した。それぞれの SNP とメ病発症年齢, 初診時聴力レベルとの相関をあわせて検討した。

④抗うつ／抗不安薬のめまい, ふらつきを訴える患者への効果を調べた。SSRI 投与に同意し, 8 週間の継続投与を行った 47 名の患者を対象とした。これらの計 47 名の患者に SSRI(パロキセチン, 20mg/day)を投与し, 治療前, 4 週後および 8 週後に Self rating Depression Scale (SDS)およびめまいアンケートを行った。他覚所見については同時期に各種眼振検査や体平衡機能検査, 必要に応じて ENG を行い異常所見の有無について検討した。

⑤難治性メ病および同側型遅発性内リンパ水腫に対するゲンタマイシン(GM)鼓室内投与の効果について投与後最低1年経過した40例(平均観察期間31.7ヶ月)について、めまい係数の推移、聴力変化について検討した。

B. 結果と考察

①両側前庭破壊を受けた動物ではコントロール群と比べ、有意に誤ったアームを選ぶ確率が高かったが、自発運動量の増加により単位時間あたりに入るアームの数が多く最終的にえさを獲得するまでに要した時間はコントロール群と差がなかった。過重力負荷動物では空間記憶学習が障害を受け一度入ったアーム(えさのない誤ったアーム)を選ぶ確率が高いが、運動量の増加により多くのアームに入った結果、最終的に獲得したえさの数には差がなかったと解釈できる。以上より、一定の重力環境が空間識の形成に重要であり、生体は過重力負荷により誘発された空間識の障害を運動量の増加で補っていることが示唆された。

②Microarrayの結果、GABAA receptor rho subunit, neuronal high affinity glutamate transporter, 5-hydroxytryptamine receptor 1D等の神経伝達に関する分子や voltage-dependent calcium channel $\alpha 2$ subunit 1, calcineurin subunit A, Ca^{2+} pumpなどのカルシウム関連遺伝子がピックアップできた。それらの分子のなかでも特にカルシウム関連遺伝子について、その遺伝子発現の時間的変化をreal-time PCR法を用いて詳細に検討した。その結果、Ca channelおよびcalcineurinは一側内耳破壊後6時間で破壊側で一過性に発現上昇し24時間後には正常に戻った。一側内耳破壊後2週間後に対側内耳を破壊し、その6時間後にこれらの遺伝子発現変化を検討したところ、1回目の破壊で引き起こされた変化と左右鏡像の変化を認めた。

③KCNE1遺伝子、KCNE3遺伝子について、SNPの発生頻度をメ病確実例63例と非メ群237例と比較した。その結果、KCNE1遺伝子に112Aを有する割合、およびKCNE3遺伝子に198Cを有する割合が、メ病で有意に高かった。これら2種類のSNPsが、メ病の発症に何らかの遺伝的背景を与える可能性を強く示唆するものと考えられる。一方、これらのSNPsと発症年齢との間には有意な相関を確認できなかったことは、これらのSNPsはメ病の若年発症の因子ではないことを意味している。K⁺イオン輸送は、内耳電

位の発生および内耳液の産生に必須の機構であり、同機構の破綻から難聴・めまいが発症することは容易に想像される。分子生物学的な検討から、今回解析を行ったKCNE1、KCNE3カリウムチャネルとともに、蝸牛、内リンパ囊の両部位に発現していることが確認され、内耳におけるK⁺イオン輸送および水代謝に必須の分子であることが推察される。KCNE1、KCNE3遺伝子の内2種類の一塩基変異(KCNE1遺伝子上の112A、KCNE3遺伝子上の198C)は、メ病の発症に何らかの遺伝的背景を与える可能性が推察された。

④めまい、ふらつきを訴えてめまい外来を受診した患者のうちSSRI投与に同意し、8週間の継続投与を行った47名の患者を対象とした。これらの計47名の患者にSSRI(パロキセチン、20mg/day)を投与し、治療前、4週間および8週後にSelf rating Depression Scale (SDS)およびめまいアンケートを行った。他覚所見については同時期に各種眼振検査や体平衡機能検査、必要に応じてENGを行い異常所見の有無について検討した。SSRIによる治療前の結果では、SDS高値は47名中18名でめまいを訴える患者にうつ状態を合併することが多いことが示唆された。またアンケートの結果から、SDS高値群において全般的に日常生活支障度が高いことが判明し、これらの精神的背景を有する群ではうつに対する治療を積極的に考慮する必要性が示唆された。器質疾患の有無に関わらずSDS高値群ではSSRIは患者のうつ状態を改善させるだけでなく、めまいによる自覚症状(日常生活障害度)の改善に有用であることが判明した。Group IIは器質疾患を持つがSDSは低値である群であり、SSRIはめまいの自覚症状に無効であった。これらの患者にはまず器質疾患に対する適切な薬物治療やリハビリテーションが必要であると思われる。Group IVは器質疾患もなくSDSも低値である群である。この群ではめまいアンケートによると治療前の日常生活支障度が軽く、そのためにアンケートによる改善の検出に限界があった可能性が考えられる。

⑤GM鼓室内投与によるめまい発作の抑制率は、GM投与前の1ヶ月平均発作回数2.31回から投与後は0.17回になりめまい係数は7.4%であった。同時に行った患者の満足度に関するアンケートでもGM投与により日常生活の支障度は減少し自覚的にも満足している事が判明した。GM投与の主な副障害は投与後のふらつきであるが、93%の患者では中枢性の代償により1年後には軽快していた。壺型の

多い遅発性内リンパ水腫をのぞく 33 例の聴力(250, 500, 1000, 2000Hz の平均)は全体で平均すると投与前 49.1dB, 投与後 45.7dB で変化無く, 3 例で 20dB 以上の低下を示したが, GM 投与の副作用というよりも原疾患の悪化によるものと考えられた. 一方, 20dB 以上の聴力の改善を認めた例が 6 例あり, めまいの改善に伴い聴力も改善したと思われる. 難治性メ病では, 保存的治療にもかかわらずめまい発作を繰り返し, 日常生活に支障を来している. GM 鼓室内投与によってめまい発作回数の抑制, 患者の自覚的満足度の面からその有効性が確認された. 主な副障害は一過性のふらつきであるが, 大多数の症例では 1 年後には軽快していた. GM 鼓室内投与は難治性メ病に対して, 簡便, 有用でかつ比較的安全な治療法である事が結論できる.

C. 結論

①前庭破壊や過重力負荷で空間記憶に障害を受けた動物は運動量の増加により固有覚や遠心コピーを増加させ, 障害された空間識を補っている可能性があると考えられた.

②本研究では, Microarray 法という一度に 1 万種以上の遺伝子の発現を比較できる最新の方法を用いて, 一側内耳破壊後に前庭神経核で発現に左右差を生じる遺伝子を特定することができた. この結果よりめまい治療の薬剤選択の根拠を明らかとした.

③カリウムチャンネルである KCNE1, KCNE3 遺伝子の内 2 種類の一塩基変異 (KCNE1 遺伝子上の 112A, KCNE3 遺伝子上の 198C) は, メ病群において統計学的に有意に高率に認められた. メ病確実例においては, コントロール群に比し KCNE1, 3 遺伝子に一塩基変異を有する割合が有意に高く, メ病の発症に何らかの遺伝的背景を与える可能性が推察された.

④めまいを訴える患者は比較的高率にうつ状態を合併しており, このような患者の治療にはその精神的背景も考慮する必要がある. 特にうつ傾向のある患者の治療において SSRI はうつ状態の改善のみならずめまいによる日常生活障害の改善に有用な薬剤であると言える.

⑤GM 鼓室内投与は難治性病に対して, 簡便, 有用でかつ比較的安全な治療法であると結論できる.

D. 研究発表

1. 論文発表

1) 堀井 新, 久保 武. 前庭系の空間認知におけ

る役割:特に海馬との関連について.

Equilibrium Res 2004; 63: 251-261,

2) 北原 紘, 近藤 千雅, 西村 洋, 森鼻 哲生, 奥村 新一, 三代 康雄, 久保 武. 外リンパ瘻に続発した内リンパ水腫例. *耳鼻臨床* 2003; 96: 517-521,

3) Nakagawa A, Uno A, Horii A, Kitahara T, Kawamoto M, Uno Y, Fukushima M, Nishiike S, Takeda N, Kubo T. Fos induction in the amygdala by vestibular information during hypergravity stimulation. *Brain Res* 2003;986: 114-23.

4) Horii A, Kitahara T, Smith PF, Darlington CL, Masumura C, Kubo T. Effects of unilateral labyrinthectomy on GAD, GAT1 and GABA receptor gene expression in the rat vestibular nucleus. *Neuroreport*. 2003; 14: 2359-63.

5) Russell NA, Horii A, Smith PF, Darlington CL, Bilkey DK. Bilateral peripheral vestibular lesions produce long-term changes in spatial learning in the rat. *J Vestib Res*. 2003;13:9-16.

6) Nakagawa A, Uno A, Horii A, Kitahara T, Kawamoto M, Uno Y, Fukushima M, Nishiike S, Takeda N, Kubo T. Fos induction in the amygdala by vestibular information during hypergravity stimulation. *Brain Res*. 2003; 986:114-23.

7) Kitahara T, Kondoh K, Morihana T, Okumura S, Horii A, Takeda N, Kubo T. Steroid effects on vestibular compensation in human. *Neurol Res*. 2003;25:287-91.

8) Horii A, Russell NA, Smith PF, Darlington CL, Bilkey DK. Vestibular influences on CA1 neurons in the rat hippocampus: an electrophysiological study in vivo. *Exp Brain Res*. 2003 Dec 10 [Epub ahead of print]

9) Russell NA, Horii A, Smith PF, Darlington CL, Bilkey DK. Long-term effects of permanent vestibular lesions on hippocampal spatial firing. *J Neurosci*. 2003;23:6490-8.

10) Akiduki H, Nishiike S, Watanabe H, Matsuoka K, Kubo T, Takeda N. Visual-vestibular conflict induced by virtual

- reality in humans. *Neurosci Lett.* 2003; 340:197-200.
- 11) Kitahara T, Fukushima M, Uno Y, Mishiro Y, Kubo T. Up-regulation of cochlear aquaporin-3 mRNA expression after intra-endolymphatic sac application of dexamethasone. *Neurol Res.* 2003;25: 865-70.
 - 12) Morita M, Imai T, Kazunori S, Takeda N, Koizuka I, Uno A, Kitahara T, Kubo T. A new rotational test for vertical semicircular canal function. *Auris Nasus Larynx.* 2003; 30: 233-7.
 - 13) Horii A, Russell N A, Smith P F, Darlington C L, Bilkey D K. Vestibular influences on CA1 neurons in the rat hippocampus: an electrophysiological study in vivo. *Exp. Brain Res* 2004; 155: 245-250.
 - 14) Horii A, Mitani K, Kitahara T, Uno A, Takeda N, Kubo T. Paroxetine, a selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI), reduces depressive symptoms and subjective handicaps in patients with dizziness. *Otol. Neurotol* 2004; 25: 536-543.
 - 15) Horii A, Masumura C, Smith PF, Darlington CL, Kitahara T, Uno A, Mitani K, Kubo T. Microarray analysis of gene expression in the rat vestibular nucleus complex following unilateral vestibular deafferentation. *J. Neurochem* 2004; 91: 975-982.
 - 16) Mitani K, Horii A, Kubo T. Impaired spatial learning after hypergravity exposure in rats. *Cognitive Brain Res* 2004; 22: 94-100.
 - 17) Kitahara T, Li HS, Balaban CD. Localization of the mitochondrial uncoupling protein family in the rat inner ear. *Hear. Res* 2004; 196: 39-48.
 - 18) Kitahara T, Kondoh K, Morihana T, Okumura S, Mishiro Y, Kubo T. Surgical management for special cases of intractable Meniere's disease: unilateral cases with intact canals and bilateral cases. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol* 2004; 113: 399-403.
 - 19) Horii A, Kitahara T, Uno A, Kondo K, Morihana T, Okumura S, Nakagawa A, Mitani K, Masumura C, Kubo T. Vestibular function and vasopressin. *Acta Otolaryngol (Stockh) Suppl* 2004; 553: 50-53.
2. 学会発表
- 1) 堀井 新, 雑賀孝昇, 西池季隆, 北原 紘, 宇野敦彦, 西村将人, 福嶋宗久, 中川あや, 三谷健二, 久保 武. 難治性メニエール病および遅発性内リンパ水腫に対するゲンタマイシン鼓室内投与について. 日本耳鼻咽喉科学会総会, 東京, 2003.5
 - 2) 堀井 新, 三谷健二, 北原 紘, 宇野敦彦, 久保武, 雑賀孝昇, 西池季隆, 西村将人. 難治性メニエール病に対するゲンタマイシン鼓室内投与 - 3. GM 投与後もコントロール不良であった症例の検討- 日耳鼻大阪府地方部会第第 285 回地方会 2003.6.7.
 - 3) 堀井 新, 三代康雄, 今井貴夫, 三谷健二, 川島貴之, 久保 武 Canal plugging を行った両側外側半規管型 BPPV の 1 例. 第 13 回日本耳科学会(幕張)2003.
 - 4) 三谷健二, 堀井 新, 宇野敦彦, 中川あや, 久保武. 過重力負荷がラット空間認知に及ぼす影響について. 第 62 回日本めまい平衡医学会, 横浜 2003.
 - 5) 中川あや, 宇野敦彦, 堀井 新, 三谷健二, 久保武. 過重力負荷誘発動揺病におけるラット扁桃体および孤束核 Substance P 神経系の役割. 第 62 回日本めまい平衡医学会, 横浜 2003.
 - 6) 堀井 新, 三谷健二, 北原紘, 宇野敦彦, 武田憲昭, 久保武. SSRI のめまい疾患に対する有用性について: うつおよびめまいアンケートを用いた検討. 第 105 回日本耳鼻咽喉科学会総会(広島)2004.5.13-15.
 - 7) 中川あや, 宇野敦彦, 堀井 新, 北原紘, 西池季隆, 三谷健二, 武田憲昭, 久保武. 重力変化による扁桃体・孤束核の神経活性化とラット動揺病. 第 105 回日本耳鼻咽喉科学会総会(広島) 2004.5.13-15.
 - 8) 北原紘, 福嶋宗久, 中川あや, 宇野敦彦, 堀井新, 久保武, 金子武. 一側内耳破壊後の内側前庭神経核における Fos-enkephalin シグナル伝達. 第 22 回頭頸部自律神経研究会 2004.8.28.
 - 9) 堀井 新. 教育講演: 空間認知機構における前庭系の役割. 第 63 回日本めまい平衡医学会(高崎)H16.11

- 10) 三谷健二, 堀井 新, 増村千佐子, 中川あや, 久保 武. ラット過重力負荷のストレスホルモンに対する影響. 第 63 回日本めまい平衡医学会(高崎)H16.11
- 11) 増村千佐子, 堀井 新, 北原 紘, 宇野敦彦, 三谷健二, 久保 武. 前庭代償過程における前庭神経核カルシウム関連遺伝子発現の変化: Microarray および RTPCR 法を用いた解析. 第 63 回日本めまい平衡医学会(高崎)H16.11
- 12) 北原紘, 久保武. 内耳における痛み受容体 TRPV の役割. 第 14 回日本耳科学会, H16.10
- 13) 土井勝美, 松代直樹, 堀井新, 久保武, 布施愉香, 西村将人, 雑賀孝昇, 西池季隆. メニエール病患者ゲノムの遺伝子解析. 第 103 回日本耳鼻咽喉科学会総会(平成 14 年 5 月 16-18 日, 東京)
- 14) 土井勝美, 福嶋宗久, 中川あや, 久保武, 西村将人, 西池季隆, 杉山視夫, 雑賀孝昇. 内リンパ嚢手術と内リンパ水腫. 第 61 回日本めまい平衡医学会(平成 14 年 10 月 31 日・11 月 1 日, 富山)
- 15) 佐藤崇, 土井勝美, 松代直樹, 堀井新, 久保武, 西池季隆, 西村将人, 雑賀孝昇. メニエール病確実例におけるゲノム解析. 第 61 回日本めまい平衡医学会(平成 14 年 10 月 31 日・11 月 1 日, 富山)
- 16) Horii A. Symposium: Vestibulo-hippocampal interaction and its role in a spatial navigation. 23rd Barany Society Meeting (2004, Paris)
- 17) Horii A, Mitani K, Kitahara T, Uno A, Takeda N, Kubo T. Role of SSRIs in the treatment of dizziness. 23rd Barany Society Meeting 2004, Paris.
- 18) Uno A, Nakagawa A, Horii A, Mitani K, Takeda N, Kubo T. Effects of an NK1 receptor antagonist on motion sickness in rats and its putative sites of action. 23rd Barany Society Meeting 2004, Paris.
- 19) Mitani K, Horii A, Kubo T. Impaired spatial learning after hypergravity exposure in rats. 23rd Barany Society Meeting 2004, Paris.
- 20) Kitahara T, Li H-S, Balaban CD. Effects of dihydroxybenzoate on kanamycin distribution in kanamycin-treated mice. 27th Annual ARO Midwinter Meeting in Florida, February, 2004
- E. 知的財産権の出願・登録状況
- 1) 特許取得
なし.
- 2) 実用新案登録
なし.
- 3) その他
なし.

メニエール病におけるストレス遺伝子, VEMP, 温度眼振の発生メカニズムと
良性発作性頭位性めまい症の発症メカニズムに関する研究

分担研究者 鈴木 衛 東京医科大学教授

研究要旨

1)メニエール病・低音障害型感音難聴における HSP などのストレス遺伝子の発現とストレスとの関係について検討した。2)前庭誘発筋電位(VEMP)がメ病の臨床検査として有用であるかについて検討した。3)摘出内耳を用いて実験的に温度眼振発生のメカニズムについて検索した。4)良性発作性頭位性めまい症(BPPV)におけるめまいの発症メカニズムについて検討した。結果1)profile of mood states スコアによるメ病患者のストレスの程度と自覚症状とを比較した。HSP70とその誘導因子であるHSF1のmRNAレベルでの発現とDNAレベルでの異常について検討した。自覚症状とprofile of mood states スコアとはよく相関した。HSP70のプロモーター領域の SNP はメ病, 低音障害型感音難聴の発症に関係することがわかった。2)メ病では, 約30%の症例でVEMPの異常がみられた。難聴が中等度以上進行している例, とくに61dB 以上の高度難聴例でVEMPの異常が出やすい傾向があった。VEMPはメ病の罹病期間や難聴の程度とある程度相関し病態を反映することから, 機能検査として有用であると考えられた。3)ウシガエル後半規管に温度刺激を与えて誘発される膨大部神経活動電位を記録し, 温度眼振反応のメカニズムを検討した。半規管遮断前後の容積変化の受容器への効果を比較すると, 遮断後は前の約 1.3 倍となった。半規管遮断後は対流の効果は完全に消失したが, 容積変化の効果が増幅された。このことは外側半規管遮断術を施行した臨床例においても確認された。4)摘出卵形囊斑に振子様用回転を加え, 卵形囊上に耳石塊を置く前後で比較した。耳石を置いた直後には一過性の著明な活動電位の上昇がみられた。耳石を置いた状態で振子様用回転を行うと回転による電位は増加した。理学療法によって耳石が卵形囊に変換された後, 一過性にめまい症状が悪化することが多い。返還した耳石が卵形囊の活動を高め, めまいを起こしている可能性が示唆された。

A. 研究目的

- 1)メ病・低音障害型感音難聴において HSP70 の遺伝子と精神的ストレスとがいかに関連するかを検討する。
- 2)前庭誘発筋電位(VEMP)をメ病を中心とした内耳性難聴症例に施行し, その病態をVEMPがどれほど反映し, 臨床検査として有用であるかについて検討する。
- 3)温度刺激検査のメカニズムを明らかにするために, ウシガエル摘出内耳を用いて半規管遮断後の温度刺激下の半規管電位について検討する。臨床例においても半規管遮断後の温度眼振反応を検討する。
- 4)良性発作性頭位性めまい症(BPPV)理学療法後に増悪するめまい症状の発生機序を摘出卵形囊モデルを用いて検索する。

B. 研究方法

- 1)メ病・低音障害型感音難聴と診断された 35 例と対照 20 例を検討した。血液から DNA を抽出し,

mascode system で HSP70 遺伝子の SNP 解析を行った。ストレスの程度は心理テストの Profile of mood states (POMS) で評価した。profile of mood states スコアによるメ病患者のストレスの程度と自覚症状とを比較した。HSP70 とその誘導因子である HSF1のmRNAレベルでの発現とDNAレベルでの異常について検討した。

- 2)47耳のメ病, 18耳の突発性難聴例にVEMPを施行し, 反応の有無について分析した。とくにメ病については, 罹病期間と聴力との関係について重点的に検索した。

- 3)ウシガエル内耳を用い, 後半規管に冷刺激を与えて誘発される膨大部神経活動電位を記録した。半規管遮断による温度刺激反応の変化につき検索した。臨床例において外側半規管遮断術後の温度眼振を記録した。

- 4)両生類摘出卵形囊に振子様用回転刺激を加えて発生する活動電位を測定した。ついで卵形囊斑上に球形囊から摘出した小耳石塊を置き, 同じ刺激下の

電位の変化を調べた。

C. 研究結果

1) 自覚症状と *profile of mood states* スコアとはよく相関した。HSP70 遺伝子のプロモーター領域である-110, 190 の領域に SNP がみられ、190 領域では対照と比べて患者群に遺伝子型 GC が有意に多く、さらに精神的ストレスのある患者群で遺伝子型 GC が有意に多かった。

2) メ病全体では、約30%の症例でVEMPの異常がみられた。61dB 以上の高度難聴例でVEMPの異常が出やすい傾向があった。突発性難聴例では、VEMPが異常の場合は予後不良であった。

3) 半規管遮断前後の容積変化の効果を比較すると、遮断後は遮断前の約 1.3 倍となった。すなわち、半規管遮断後は対流の効果は完全に消失したが、容積変化の効果が増幅される結果となった。外側半規管遮断術を施行した臨床例においてもこのことが確認された。

4) 正常卵形囊の刺激では振子様回転に応じてサイン波状に変化する電位が記録された。卵形囊斑上に耳石を置くと直後に電位は一過性に著しく増加した。耳石を置いた状態で振子様回転を行うと、回転に応じる電位は正常よりも増加した。

D. 考察

1) これまでストレスによって誘導される HSP が内リンパ水腫に関係するとの報告があるが未だ明確な解答はない。今回、自覚症状と *profile of mood states* スコアとを比較すると両者はよく相関した。また、HSP70 はストレス以外の要因でも誘導された。しかし、そのプロモーター領域の SNP はメ病の発症に関係しており、ストレスと発症との関係が示唆された。

2) VEMPは石器系の機能検査として近年注目を集めているが、メ病の難聴の程度とある程度相関し病態を反映することから、メ病の機能検査として有用であると考えられた。突発性難聴では、VEMPが異常の場合は予後不良であり、前庭障害の程度が病態と相関することが推測された。

3) 温度刺激検査は繁用される平衡機能検査の一つであるが、末梢前庭レベルのメカニズムに関してもいまだ不明の点が多い。今回の実験から、半規管遮断により容積変化の効果が増強されることがわかった。半規管遮断後は対流の効果は消失するが、なお温度眼振反応はよく解発されることが知られている。今回示されたように遮断後の容積変化効果の増強がこ

のメカニズムに関与しているものと考えられた。

4) BPPV においては半規管結石症などの病態を考慮した理学療法が考案され、効果をあげている。これにより発作性のめまいは著明に抑制されるが、不安定感などの軽いめまい症状は一時的に悪化したり、数日間持続することが多い。今回の実験で、卵形囊斑上に耳石を置いた直後とそれ以後しばらく卵形囊神経放電は増加または減少した。このような神経放電の変化が理学療法後のめまい増強に関与するものと考えられた。

E. 結論

メ病の自覚症状と *profile of mood states* スコアとはよく相関した。HSP70 のプロモーター領域の SNP はメ病、低音障害型感音難聴の発症に関係していた。

2) メ病では、難聴が中等度進行している例でVEMPの異常を示す傾向があった。とくに、61dB 以上の高度難聴例で高率にVEMPは異常をしめした。

3) 半規管を遮断するとリンパの容積変化効果が増強され、これが温度眼振反応のメカニズムの一つであることが確認された。

4) BPPV の理学療法後のめまい症状の増悪に、返還した耳石が関与することが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 鈴木 衛:耳鼻咽喉科からみた高齢者のめまい. 日本老年医学会雑誌 2002;39:509-510
- 2) 鈴木 衛, 小川恭生, 大塚康司, 井上 斉, 廣井理人, 高田大輔:眼振の推移からみた半規管遮断術の効果. 耳鼻臨床 2002;95:1017-1020
- 3) Otsuka K, Suzuki M, Furuya M. Model experiment of benign paroxysmal positional vertigo mechanism using the whole membranous labyrinth. Acta Otolaryngologica 2003;123:515-518
- 4) Furuya M, Suzuki M, Sato H. Experimental study of speed-dependent positional nystagmus in benign paroxysmal positional vertigo. Acta Otolaryngologica 2003;123:709-712
- 5) 鈴木 衛:半規管遮断術後の温度眼振反応. Equilibrium Res 2003;62:190-193
- 6) 市村彰英, 鈴木 衛, 堀口利之, 湯川久美子, 小川恭生, 北島尚治:下眼瞼向き眼振症例の検

- 討. *Equilibrium Res* 2003;62:302-307.
- 7) 市村彰英, 鈴木 衛, 堀口利之, 北島尚治: 方向交代性頭位眼振症例の検討. *Equilibrium Res* 2003;62:88-95.
 - 8) 萩原 晃, 鈴木 衛: 聴覚検査と平衡機能検査の接点. *臨床検査* 2003;47:1151-1156.
 - 9) 鈴木 衛: 良性発作性頭位性めまい症. 今日の治療指針. 医学書院 2004;1018-1019.
 - 10) 北島尚治, 鈴木 衛, 堀口利之, 市村彰英, 小川恭生, 清水重敬, 竹之内 剛: 頭位変換療法後のBPPVの経過について. *Equilibrium Res* 2004;63:28-33.
 - 11) 鈴木 衛: 外側半規管型BPPV. *日耳鼻専門医通信* 2004; 81:16-17.
2. 学会発表
- 1) Suzuki M: A model experiment of BPPV mechanism using the intact membranous labyrinth. CORLAS meeting 2002年8月, Nijmegen, The Netherlands
 - 2) 鈴木 衛, 小川恭生, 大塚康司, 井上 斉, 廣井理人, 高田大輔: 半規管遮断後の頭位性眼振の変化について. 第12回日本頭頸部外科学会総会 2002年1月, 金沢市
 - 3) 大塚康司, 鈴木 衛, 小川恭生, 萩原 晃, 古屋正由, 竹之内 剛: 微細刺激によるクプラの偏移の観察. 第61回日本めまい平衡医学会総会 2002年10月, 富山市
 - 4) 小川恭生, 堀口利之, 清水重敬, 林 賢, 鈴木 衛, 湯川久美子, 市村彰英, 内海裕也: めまいで発症した若年性脳梗塞の2例. 第61回日本めまい平衡医学会総会 2002年10月, 富山市
 - 5) 清水重敬, 市村彰英, 小川恭生, 林 賢, 堀口利之, 鈴木 衛: 方向交代性上向性頭位眼振の患側と眼振方向の関係について. 第61回日本めまい平衡医学会総会 2002年10月, 富山市
 - 6) Otsuka K, Suzuki M, Furuya M, Hagiwara A, Ogawa Y, Takenouchi T: A model experiment of BPPV mechanism using the whole membranous labyrinth. 22th Barany Society Meeting 2002年9月, Seattle, USA
 - 7) Takenouchi T, Ogawa Y, Furuya M, Otsuka K, Suzuki M: Experimental study on hydrodynamics of caloric response. 22th Barany Society Meeting 2002年9月, Seattle, USA
 - 8) Yukawa K, Horiguchi S, Ogawa Y, Ichimura A, Suzuki M: Congenital inner ear malformation without sensorineural hearing loss. 22th Barany Society Meeting 2002年9月, Seattle, USA
 - 9) Furuya M, Suzuki M, Sato H, Otsuka K: Experimental study on speed dependent positional nystagmus of BPPV. 22th Barany Society Meeting 2002年9月, Seattle, USA
 - 10) 鈴木伸弘, 市村彰英, 堀口利之, 小川恭生, 清水重敬, 北島尚治, 井上 斉, 鈴木 衛: 内耳性難聴におけるVEMPの検討. 第104回日本耳鼻咽喉科学会総会 2003年5月, 東京
 - 11) 竹之内 剛, 古屋正由, 大塚康司, 小川恭生, 鈴木 衛: 温度眼振反応に関与する内リンパ動態の実験的研究. 第104回日本耳鼻咽喉科学会総会 2003年5月, 東京
 - 12) 竹之内 剛, 小川恭生, 清水重敬, 鈴木 衛, 市村彰英: めまい疾患における座位頭部前屈位眼振検査の試み. 第62回日本めまい平衡医学会総会 2003年11月, 横浜
 - 13) Otsuka K, Suzuki M, Furuya M, et al: Model experiment of semicircular canal function of BPPV. 23th Barany Society meeting. 2004年7月, Paris, France
 - 14) Inagaki T, Suzuki M, Otsuka K, et al: Functional model of benign paroxysmal positional vertigo using an isolated frog utricle. 23th Barany Society meeting. 2004年7月, Paris, France
 - 15) Suzuki M: Application of basic research for understanding BPPV mechanism. "Influence of basic science research on the otological practice" Amplifon Workshop 2004年9月, Debrecen, Hungary
 - 16) 大塚康司, 鈴木 衛, 稲垣太郎, 北島尚治, 小川恭生, 古屋正由, 竹之内 剛: BPPVにおける半規管反応性の変化について. 第63回日本めまい平衡医学会総会 2004年11月, 高崎市
 - 17) 稲垣太郎, 鈴木 衛, 北島尚治, 小川恭生, 大塚康司, 古屋正由, 竹之内 剛: 摘出卵形嚢を用いたBPPVのモデル実験. 第63回日本めまい平衡医学会総会 2004年11月, 高崎市
- H. 知的所有権の取得状況
なし

メニエール病の病態と治療に関する研究

分担研究者 工田 昌也 広島大学講師

研究要旨 メニエール病の新しい治療薬剤の開発を目的として、各種薬剤の作用機序ならびに内耳障害の軽減効果について検討し、それを基に臨床応用を行った。基礎的にはフリーラジカル、アポトーシスの制御が内耳障害の軽減に有効であり、薬剤の投与経路としては局所投与が全身投与よりすぐれることが明らかとなった。臨床的にはメ病による聴力変動は両側性に生じることが多く、メ病の病因にストレスなどの全身的要因が大きく関与していることが明らかとなった。新しい治療についてはゲンタマイシン鼓室内注入療法の最適なプロトコルを検討すると共に、難治性メ病に対して抗酸化剤を治療に応用し、抗酸化剤がめまいの制御聴力の改善に有効であることを明らかにした。

A. 研究目的

メ病の病態の解明とそれに基づく治療法の開発を目標にする。具体的には難治症例に対するめまいの制御と聴力の回復を目的とした薬物療法を開発するため、基礎的研究として内耳障害とフリーラジカル、アポトーシスとの関連を明らかにし、それをもとに内耳障害を軽減するために薬剤の新しいスクリーニング法を開発し、内耳障害治療のための各種薬剤の効果と併用方法を検討する。その結果にもとづいて臨床的検討として、メ病の治療指針を確立するとともにメ病に対する新しい治療法を開発し実際に臨床応用する。これらの試みによりメ病の聴力障害や他の内耳障害に対する新しい治療法が開発されると思われる。

B. 研究方法

実験には主として成熟、有色モルモット、ラットを使用した。

1)メ病の新しい治療薬剤の検討

i)内耳障害とアポトーシスとの関連について Vibrant Apoptosis Assay Kit を使用し、2mg/ml ゲンタマイシン(GM)負荷による感覚細胞のアポトーシスの発現、末梢前庭器での caspase, calpain の発現について検討し、GGA による前庭器での HSP70 の発現を免疫組織学的に検討した。

ii)各種薬剤の感覚細胞障害軽減作用

各種薬剤(L-NAME, D-methionine, BDNF, leupeptin, D-mannitol, イソソルビド)の前庭器でのフリーラジカル抑制作用を DAF-2DA, DHTMRos を用いて検討した。それに加えてアポト

ーシス制御, HSP 誘導による感覚細胞の障害予防効果を calpain 阻害剤(leupeptin), caspase-3 阻害剤(Z-DEVD-FMK), イソソルビド, HSP70 誘導剤(2-Deoxy-D-glucose (2DG), GGA)を使用し, GM 添加 0, 1, 2, 4, 8 時間後の感覚細胞生存率を LIVE/DEAD system を使用し検討した。薬剤の併用効果の検討では L-NAME, D-methionine, BDNF, leupeptin, Z-DEVD-FMK, 2DG, GGA 各々単独あるいはその組み合わせによる障害予防効果を検討した。また、抗酸化剤のエダラボンの内耳障害軽減作用について ABR を指標として in vivo で の検討も行った。

2)ゲンタマイシン鼓室内注入療法の検討

基礎的検討として GM 鼓室内投与による前庭器に対する障害の程度を系時的に観察し、薬剤の中耳腔より内耳への移行を蛍光標識 LPS を用いて蛍光顕微鏡で観察した。また、1997~2003 年の GM 鼓室内投与による治療成績を述べた論文 27 編のレビューを行ない、めまい改善率、聴力低下の割合を検討した。

3)メ病に対する抗酸化剤による治療

コントロール不良のメ病患者 25 例を対象とし、レバミピド(300mg/日)、ビタミン C(600mg/日)、グルタチオン(300mg/日)などの抗酸化剤を8週間以上投与し、その効果のまとめを行った。

(倫理面への配慮)

動物実験に際しては広島大学医学部動物実験規定

を遵守し、臨床では十分なインフォームドコンセントを行い同意の得られた患者を対象とした。

C. 研究結果

今回の研究で内耳障害には感覚細胞のアポトーシスが強く関係しており、アポトーシス関連酵素である calpain, caspase を阻害することより内耳障害が軽減できることが明らかとなった。また、イソソルビドはフリーラジカルの産生を抑制し、内耳障害を軽減すること、GGA の投与により内耳で HSP を安全に誘導でき内耳障害の予防が可能となること、エダラボンが内耳障害を軽減できること、抗酸化剤の投与経路としては局所投与がよりすぐれていることが明らかとなった。

メ病の治療薬剤に関してはフリーラジカル抑制剤 (NO 合成阻害剤, 活性酸素消去剤), ニューロトロフィン, アポトーシス制御剤 (calpain, caspase 阻害剤), HSP 誘導剤などが考えられる。これらの薬剤について *in vitro* での GM 障害予防効果を基に検討した結果、ともにフリーラジカル系を制御する NOS 阻害薬と radical scavenger あるいはアポトーシスを制御するニューロトロフィンと calpain inhibitor という作用機序の類似する薬剤の組み合わせでは併用効果は認められなかったが、NOS 阻害剤あるいは radical scavenger + ニューロトロフィンあるいは calpain inhibitor という異なった作用機序を有する薬剤の組み合わせでは、それぞれ単独で使用するよりも高い効果を得ることができた。さらに HSP 誘導剤に関してはフリーラジカル制御剤との併用が有効であった。

メ病の治療としての GM 鼓室内投与の検討では中耳腔より高率に薬剤が内耳に移行すること、蝸牛、前庭の両方に障害が生じ、delayed ototoxicity が存在することなどが明らかにされており、今回の基礎的検討もこれらを確認するものであった。また、過去の報告での聴力障害の発現頻度を見てみると、1 回投与量、総投与量が少ないほど難聴の発生が少ないという当然の結果であり、fixed dose 法と経過を見ながら行う titration 法との比較では titration 法で有意に聴力低下の割合が少なかった。

新しい薬剤によるメ病の治療としての抗酸化剤によるメ病の治療効果は1年以上経過した時点でめまいは著明改善:16/25, 改善:5/25, 軽度改善:0/25, 不変:4/25, 悪化 0/25 であり、聴力は改善:12/27, 不変:14/27, 悪化 1/27, 耳鳴は改善:17/27, 不変:

10/27, 悪化:0/19, 能力低下は改善:18/25, 不変:7/25, 悪化:0/25 であった。また、抗酸化剤投与 4 週間、8 週間での成績の比較では投与開始後 4 週という比較的早い時期に効果が現れた。聴力に対する効果を周波数別に検討してみると 125, 250, 500, 1000Hz では危険率1%以下, 2kHz では危険率5%以下で有意に聴力が改善していたが, 4, 8kHz では聴力の有意な改善は認められなかった。以上のことよりメ病患者の治療への抗酸化剤による治療の有効性が確認された。

D. 考察

メ病の病態の解明とそれに基づく治療法の開発を目的に、まず、内耳障害の機序をフリーラジカル、アポトーシスの面から解析した結果、内耳障害にはフリーラジカルやアポトーシスが関与していること、これらを制御することで内耳障害の予防や治療が可能となることが判明した。また、実際の治療に当たっては、薬剤は局所投与のほうが望ましく、障害作成後早期に対処することでより効果が上がることが確認され、今回の結果と我々のこれまでの検討をもとに実際のメ病の治療を考えると、レバミピド、ポラプレジンク、ビタミン C、エダラボンなどのフリーラジカル抑制剤に加えて、GGA などの HSP 誘導剤、イソソルビドなどが現在臨床的に使用可能な薬剤と考えられ実際の臨床応用の結果を検討すべきと思われた。

メ病の治療としての GM 鼓室内投与を行うにあたっては難聴の出現を完全になくすことは不可能であるがその頻度を軽減させるために、治療効果を減らさないという条件下で使用する GM の量をできるだけ減らすことが必要になる。このことから現在の時点で推奨される方法としては鼓膜穿刺により 1 回投与量は 10mg 未満とし、経過をみながら 3~4 週おきに投与を繰り返し、めまい発作の消失、聴力障害の出現、前庭機能低下のサインの出現などを投与終了の目安として、総投与量は 50mg 未満とするのが妥当であると考えられた。

基礎的検討により内耳障害の軽減には抗酸化剤が有用であることが判明し、実際の臨床応用としてメ病難治症例に対してめまいの制御と聴力の回復を目的として抗酸化剤による治療をおこなった。その結果めまいのみならず難聴の改善する症例が存在することが明らかとなり、今後の発展が十分に期待されると考えられた。

E. 結論

新しいメ病の治療薬としてはフリーラジカル, アポトーシスを制御する薬剤が有効であることが判明した。また, 臨床的にはメ病の治療としての GM の鼓室内投与は titration 法によるものが推奨されること, 抗酸化剤が治療薬として有効であることが明らかとなった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 工田昌矢:内耳障害と一酸化窒素.耳喉頭頸 2002;74:255-264.
- 2) 工田昌矢:めまいの薬物療法.MB ENT 2002; 13:46-51.
- 3) 工田昌矢:めまいの薬物療法. 耳喉頭頸 2002; 74:94-99,
- 4) 工田昌矢:前庭器障害と NO. Equilibrium Res 2002;61:99-103.
- 5) Takumida M, Anniko M: Simultaneous detection of both nitric oxide and reactive oxygen species in guinea pig vestibular sensory cells. ORL 2002;64:143-147.
- 6) Takumida M, Anniko M: Nitric oxide in the inner ear. Curr Opin Neurol 2002;15:11-15.
- 7) Takumida M, Anniko M: Brain-derived neurotrophic factor and nitric oxide synthase inhibitor protect the vestibular organ against gentamicin ototoxicity. Acta Otolaryngol ,2002;121:10-15.
- 8) 工田昌矢, 清水 顕, 大谷真喜子, 竹田泰三:メニエール病の新しい薬物療法. Equilibrium Res 62: 2003;132-138.
- 9) 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.
- 10) Shimizu A, Takumida M, Anniko M, Suzuki M: Calpain and caspase inhibitors protect vestibular sensory cells from gentamicin ototoxicity. Acta Otolaryngol. 2003;123: 459-465,.
- 11) Takumida M, Anniko M, Shimizu A,

Watanabe H: Neuroprotection of vestibular sensory cells from gentamicin ototoxicity obtained using nitric oxide synthase inhibitors, reactive oxygen species scavengers, brain-derived neurotrophic factors and calpain inhibitors. Acta Otolaryngol 2003;123:8-13.

- 12) Takumida M, Anniko M: Localization of endotoxin in inner ear following inoculation of endotoxin in the middle ear. Acta Otolaryngol 2004;124:772-777.
- 13) Takumida M, Anniko M: Functional significance of nitric oxide in the inner ear. In Vivo. 2004;18:345-50.
- 14) 工田昌矢:中耳炎による内耳障害の発症機序と治療について. Otol Jpn 2004;14:36-38.
- 15) Takumida M, Anniko M: Heat shock protein 70 delays gentamicin-induced vestibular hair cell death. Acta Otolaryngol; in press
- 16) 工田昌矢:末梢前庭器におけるフリーラジカル. Equilibrium Res; in press.

2. 学会発表

- 1) 工田昌也, 長谷川淳一, 平田 思, 夜陣絃治:抗酸化剤によるメニエール病の治療.第 64 回耳鼻咽喉科臨床学会.2002. 6, 神戸.
- 2) 工田昌矢:内耳有毛細胞の薬剤による治療.ワークショップ「感覚器障害と再生医学」. 第 23 回日本炎症・再生医学会. 2002. 7, 東京
- 3) 工田昌也, 清水 顕, 夜陣絃治:ゲンタマイシンによる前庭感覚細胞障害の各種薬剤による予防効果.第 12 回日本耳科学会.2002. 10, 東京.
- 4) 工田昌矢:薬物療法.シンポジウム「メニエール病研究に関する最近の話題—治療を中心に—」第 61 回日本めまい平衡医学会. 2002. 10, 富山
- 5) 清水 顕, 鈴木 衛, 工田昌矢:ゲンタマイシン前庭毒性に対する Calpain inhibitor, Caspase inhibitor の効果. 第 61 回日本めまい平衡医学会.2002. 10, 富山
- 6) Takumida M, Anniko M: Free radicals and inner ear disorders –basic research and clinical trials. 40th Workshop on Inner Ear Biology, 2003,9,Granada
- 7) 工田昌矢:内耳感覚細胞障害のメカニズムと治療. 第 2 回愛媛めまい・難聴フォーラム. 2003,9,

松山

- 8) 工田昌矢:メニエール病の薬物療法-基礎から臨床への提言-. 第9回東海メニエール病研究会. 2003,9,名古屋
- 9) 工田昌矢:急性・慢性中耳炎の合併症とその治療 1.内耳波及 ①基礎. 第13回日本耳科学会シンポジウム. 2003,10 東京
- 10) 工田昌矢:メニエール病の薬物療法-基礎から臨床への提言-. 福岡地区耳鼻咽喉科専門医会学術講演会. 2003,10,福岡
- 11) 工田昌矢, 夜陣紘治:HSP 誘導による前庭感覚細胞障害の予防. 第62回日本めまい平衡医学会.2003,10,横浜
- 12) 工田昌矢, 夜陣紘治:抗酸化剤による老人性難聴の治療効果. 第14回日本耳科学会 2004,10 京都
- 13) 工田昌矢, 夜陣紘治:メニエール病の聴力変動-特に対側聴力との関係-. 第62回日本めまい平衡医学会.2004,11,高崎

11. 知的所有権の出願・登録状況
なし

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病態生理, 治療について検討した. 蝸牛血管条の基底細胞と内リンパ囊上皮に, バソプレッシンで制御されるアクワポリン2とバソプレッシンの2型受容体(V2-R)が局在することを組織科学的に示した. 臨床結果と併せて, 内リンパ水腫形成にはバソプレッシン-アクワポリン2系が深く関与していることを解明した. 内リンパの産生過剰によって鼓室階, 前庭階の外リンパ腔が高カリウム化することを示し, メ病の病態生理に水腫に起因する外リンパ腔の高カリウム化が深く関与していることを示した. 内リンパ囊閉塞モルモットの VOR gain を計測, 経時的に低下する傾向があることを示し, 内リンパ水腫は前庭機能に傷害を与えることを見出した. 水腫の減荷は, Vasopressin (VP) - aquaporin2(AQP)系の阻害剤である塩化リチウム, VP 2型レセプター(V2R)の拮抗薬(OPC-31260), 浸透圧利尿剤や抗酸化剤が有効であることを実験的に示した. また, ヒスタミンが蝸牛神経の伝達物質である可能性を示し, ヒスタミン類似物質がメ病の治療薬と用いられる基礎的裏付けをした.

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, 10の実験を施行した. 実験1では, バソプレッシン-アクワポリン2(VP-AQP2)による水代謝系の局在を検討した. 実験2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が関与しているかどうかを検討した. 実験3では, 内リンパ囊閉塞モルモットの VOR を記録し, 水腫動物の前庭機能を評価した. 実験4, 5, 6, 7, 8, 9では, 内リンパ水腫疾患の治療の基礎的裏付けを得る目的で行った. 実験4では, 内耳におけるヒスタミンレセプターの局在を, 実験5では, V2-antagonist (OPC-31260)の全身投与, 鼓室投与が及ぼす内リンパ水腫減荷効果を検討, 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. 実験6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 系を阻害し, 内リンパ液の産生を抑制するかどうかを検討した. 実験7では, edaravone (radical scavenger)が内リンパ水腫に及ぼす影響を検討した. 実験8, 9では, 浸透圧利尿剤 isosorbide と erythritol の内耳への影響を見た. Isosorbide では内耳脱水効果の反跳現象の有無を, erythritol では内耳脱水効果の有無について検討した. 実験10では, 血漿ADHと臨床像との関係を検

討した.

B. 研究方法

実験1: Wistar rat の側頭骨の凍結切片を作成, 蛍光抗体法(Alexa 546)にて AQP2 と V2-receptor の免疫染色を行いレーザー顕微鏡で鏡検した. 抗体は Anti-rat AQP2 antibody (Alomone Lab) と Anti-rat V2 receptor (Chemicon)を用いた.

実験2: 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3: 内リンパ囊閉塞モルモットの VOR gain を経時的に追跡した.

実験4: Wistar rat を用いて, H1, H2, H3レセプターの発現と局在を RT-PCR 法と免疫組織学的に調べた.

実験5: 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.

実験6: 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, 内リンパ嚢の 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7: 内リンパ嚢閉塞による内リンパ水腫形成に及ぼす eborabone の影響を検討した. 実験8: isosorbide による内耳脱水効果の反跳現象の有無を内リンパ水腫モルモットを用いて組織学的に検討した.

実験9: erythritol にも浸透圧利尿剤として内耳脱水作用があるかどうかを検討した.

実験10: メ病症例において, グリセロールテスト, および蝸電図検査の結果と血漿 ADH 値の相互関係について検討した.

C. 研究結果

実験1: 蝸牛においては, 血管条基底細胞に V2R 及び AQP2 両者の発現を認めた. また内リンパ嚢においては, V2R は内リンパ嚢上皮細胞の基底側に, AQP2 は頂側に分布していた.

実験2: 前庭・鼓室階において注入量が $2\mu\text{l}$ を超えると, 注入量依存性に K^+ 濃度が増加した.

実験3: 内リンパ水腫動物では, 1 週日以降に VOR gain の低下を認め, 前庭機能低下は内リンパ嚢閉塞後, 比較的早期に発現することが分かった.

実験4: RT-PCR 法では, H1, H2, H3 receptor とともに modiolus のみに発現していた. 免疫染色では, H1, H2, H3 receptor とともにラセン神経節のみに陽性に染まり, 血管条やラセン靭帯, コルチ器などには陽性所見は認められなかった. neurofilament 200kD 抗体との二重染色の結果より, H1, H2, H3 receptor の局在は I 型細胞と判断した.

実験5: 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 p-VP 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

った.

実験6: 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7: edaravone を内リンパ嚢閉塞直後より投与すると, 内リンパ水腫の形成は抑制される. この効果は, edaravone 投与を中止しても持続するが, 一旦形成された水腫は edaravone 投与で減荷することは出来なかった.

実験8: イソソルビドによる内リンパ腔の減荷効果は, 投与後 3 時間目には軽度であるが発現している. 6 時間目では, 内リンパ腔の減荷はさらに進むが (ANCOVA, $P < 0.0001$), イソソルビド投与後 12 時間目では内リンパ腔の減荷効果はほぼ消失していた.

実験9: erythritol 負荷3時間後, 内リンパ嚢閉塞によって生じた内リンパ腔の膨化は erythritol の内耳脱水作用によって抑制された.

実験10: 血漿 AVP が高値を示した症例は39例 (65%) であり, グリセロールテストの陽性例は28例 (47%), 蝸電図で Dominant -SP を示したのは42例 (70%) であった. すべての検査で陰性であったものは1例のみであり, すべてに陽性であったものは13例あった. しかし, 血漿 ADH 値とグリセロールテスト, 蝸電図検査成績とは相関はなかった.

D. 考案

今回の内リンパ嚢閉塞動物の VOR 計測でも分かるように, 内リンパ水腫はその形成初期より内耳障害を示す. 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. 内耳には, VP の 2 型レセプターと VP の調整を受ける AQP2 が局在し, 内耳の水代謝が VP-AQP2 系で制御されていることが判明した. よって, 内リンパ水腫を減荷するには, この制御機構を抑制するのも一つの方法と考えられ

る。実際、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。ただ、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。浸透圧利尿剤も、内リンパ水腫の減荷効果が見られる。従来より、臨床応用されている Isosorbide はグリセロールの持つような反跳現象を示さず、内リンパ水腫の治療薬として優れた特性を有する。Isosorbide より味覚の点で優れている、Erisritol も同様の内耳の減荷作用を持っているので今後の臨床応用が期待できる。強力な OH·radical の scavenger である edaravone も、水腫形成初期に投与すれば、内リンパ水腫形成を恒久的に抑制する。しかし、一旦形成された水腫を減荷する作用は持たなかった。抗酸化剤を内リンパ水腫疾患に用いるのであれば、病期の初期に限定されると考えた。

臨床面では、血漿 VP 値、グリセロールテスト、蝸電図検査を組み合わせればメ病は90%が確定診断でき、血漿 VP 値の計測は診断学的にも極めて重要な意味があると考えられた。

E. 結論

内リンパ水腫疾患の治療は水腫の減荷を目指す事が実験的にも証明された。この目的には、浸透圧利尿剤や VP-AQP2 系を抑制する Li 製剤, V2拮抗剤が有効であることが理論的にも証明された。抗酸化剤も病期の初期には有効であるが、慢性期には無効であることが実験的に立証された。

F. 研究危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kakigi A, Sawada S, Takeda T, Takeuchi S, Higashiyama K, Azuma H. Elevated summing potential in a case of posterior fossa meningioma was normalized by tumor removal. *Auris Nasus Larynx* 2002;29:287-290.
- 2) Sawada S, Takeda T, Kitano H, Takeuchi S, Kakigi A, Azuma H. Aquaporin-2 regulation by vasopressin in the rat inner ear.

Neuroreport 2002;13:1127-1129.

- 3) Kakigi A, Takeuchi S, Ando M, Higashiyama K, Azuma H, Sato T, Takeda T. Reduction in the endocochlear potential caused by Cs(+) in the perilymph can be explained by the five-compartment model of the stria vascularis. *Hear Res.* 2002;166:54-61.
 - 4) Azuma H, Sawada S, Takeuchi S, Higashiyama K, Kakigi A, Takeda T. Expression of mRNA encoding the H1, H2, and H3 histamine receptors in the rat cochlea. *Neuroreport* 2003;14: 423-425.
 - 5) Sawada S, Takeda T, Kitano H, Takeuchi S, Okada T, Ando H, Suzuki M, Kakigi A. Aquaporin-1 (AQP1) is expressed in the stria vascularis of rat cochlea. *Hearing Res* 2003;181: 15-19.
 - 6) Takeda T, Sawada S, Takeda S, Kitano H, Suzuki M, Kakigi A, Takeuchi S. The effects of V2-antagonist (OPC-31260) on endolymphatic hydrops. *Hearing Res* 2003; 182: 9-18,.
 - 7) 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.
 - 8) 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.
 - 9) 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) Kakigi A, Okada T, Takeda T, Sawada S, Takeuchi S. Endocytosis in the epithelial cells of the endolymphatic sac. 39th Inner

Ear Biology

- 2) Takeda T, Sawada S, Takeda S, Kitano H, Suzuki M, Takeuchi S. The effects of V2-antagonist (OPC-31260) on experimental hydrops in guinea pigs. 39th Inner Ear Biology
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) Takeda T, Takeda S, Kakigi A, Sawada S, Azuma H, Okada T, Takeuchi S. A comparison of dehydratic effects of V2-antagonist (OPC-31260) on the endolymphatic space. 41th Inner Ear Biology Workshop.
- 7) Kakigi A, Sawada S, Takeda T, Takeuchi S, Okada T. Immunologicalization of vasopressin V2 receptor and aquaporin-2 in the inner ear. 41th Inner Ear Biology.

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