

1 1. ラット前庭刺激の血中 ACTH, corticosterone, AVP 濃度に対する影響について

三谷健二, 堀井 新, 北原 紘, 宇野敦彦, 久保 武
(大阪大学大学院耳鼻咽喉科)

【はじめに】

末梢前庭障害や動揺病では, 前庭自律神経反射による嘔気, 嘔吐など不快な症状を引き起こすことより, 全身的なストレス反応が惹起されると考えられる. また, メニエール病や動揺病患者の血漿 vasopressin(AVP)が高値であるとの報告があり, 前庭刺激が視床下部での AVP 産生を促進している可能性が示唆される. 本研究では, 動揺病動物モデルである過重力負荷ラットの血漿 ACTH, corticosterone(CORT)値を測定し, そのストレス状態を評価した. また, 全身麻酔下のラットに電気刺激あるいは温度刺激を加えた直後に採血を行い, 前庭刺激が直接血漿 AVP 値に与える影響を検討した.

【方法】

(1) 過重力負荷のラット血漿 ACTH, CORT 値への影響

動物は Wistar 系ラット (6 週齢, 雄) を用いた. 4 日以上 of ハンドリングの後 Pentobarbital(40mg/kgi.p.)による全身麻酔下にシリコンカテーテルを右頸静脈に挿入し皮下を通して後頭部に留置した. 2 日間へパリン活水を通すと同時に採血操作に慣れさせた. その後遠心加速度負荷装置にてラットの鉛直下向きに 2G の重力を負荷した. 負荷時間は, 1 時間, 3 時間, 2 週間で 2 週間の負荷中には 1, 3, 5, 7 日目に約 20 分間回転を止め餌と水の補給と同時に採血も行った. 採血した血液は直ちに遠心分離し血漿を凍結保存した. 血漿 ACTH 値は IRMA kit (三菱化学ヤトロン), 血漿 CORT 値は RIA kit (Amersham)にて測定した.

(2) 前庭刺激 (電気刺激と温度刺激) のラット血漿 AVP 値への影響

動物は Wistar 系雄ラット(180g<)を用いた. Urethane 全身麻酔下に正円窓に電極をいれ negative square wave (1Hz, 200ms)を 30 分間通電した. 電流は 50 μ A, 200 μ A, 500 μ A の 3 通りで行い, 対照群には麻酔のみ施行した. また温度刺激は urethane 全身麻酔下に中耳腔に留置したテフロンチューブより毎分 5ml の流速で 37 $^{\circ}$ C, 45 $^{\circ}$ C, 4 $^{\circ}$ C の水を 30 分間注入した. 実験終了直後に断頭採血を行い RIA にて血漿 AVP を測定した.

【結果】

(1) 1 時間の過重力負荷後の血漿 ACTH 値は 923 \pm 66.7 pg/ml(mean \pm S.E.), 対照群は 260 \pm 74.3pg/ml であり, 過重力負荷群で有意に高値であった. また血漿 CORT 値も, 1 時間過重力負荷群が 51.1 \pm 3.20 μ g/dl, 対照群は 21.4 \pm 5.54 μ g/dl であり過重力負荷群で有意に高値だった. 3 時間の過重力負荷でも同様に血漿 ACTH 値(317 \pm 17.4pg/ml, 対照 116 \pm 27.0pg/ml), 血漿 CORT 値(50.1 \pm 2.94 μ g/dl, 対照 8.24 \pm 2.51 μ g/dl)ともに高値であったが, 1 時間負荷に比べ早期に正常化した (図 1). 2 週間の過重力負荷中の血漿 CORT 値は 1 日目に最高値を示したあと次第に減少し 2 週間目には正常化した. 血漿 ACTH 値に変化は見られなかった (図 2).

(2) 200 μ A, 500 μ A の前庭電気刺激により血漿 AVP は上昇した. また 4 $^{\circ}$ C の前庭冷水刺激では血漿 AVP 値の有意な上昇, 37 $^{\circ}$ C の温水刺激では上昇傾向を認めた.

[考案・結論]

過重力負荷によりラットの血漿 ACTH, 血漿 CORT 値が上昇したことより, 重力環境の変化という前庭刺激がストレス内分泌系である hypothalamus-pituitary-adrenal cortex axis (HPA axis)を賦活化したことが分かった. また長時間の過重力負荷により血漿 ACTH 値, 血漿 CORT 値ともに正常化し, 前庭刺激に順応する過程で HPA axis も順応していることが示唆された. 過重力負荷は, ラットに異味症を引き起こし動揺病の動物モデルとして有用である. 本実験で見られた血漿 CORT の変化は動揺病によって惹起されたストレス状態を反映していると考えられる.

前庭電気刺激では刺激電流の増加に応じて, また温度刺激ではより強い冷水刺激でラットの血漿 AVP 値が上昇していることより, 前庭刺激が AVP 神経系を賦活化していることがわかった. AVP は視床下部室傍核および視索上核で産生されるが, 前庭から視床下部へは polysynaptic な神経経路があり, 我々は前庭刺激により視床下部におけるヒスタミン遊離の増加を報告した. AVP 静脈投与は嘔吐を誘発し, AVP V-1 antagonist は動揺病予防に有効だとの報告があり, 前庭刺激による血漿 AVP 値の増加は前庭自律神経反射のメカニズムの一端を担っていると思われる.

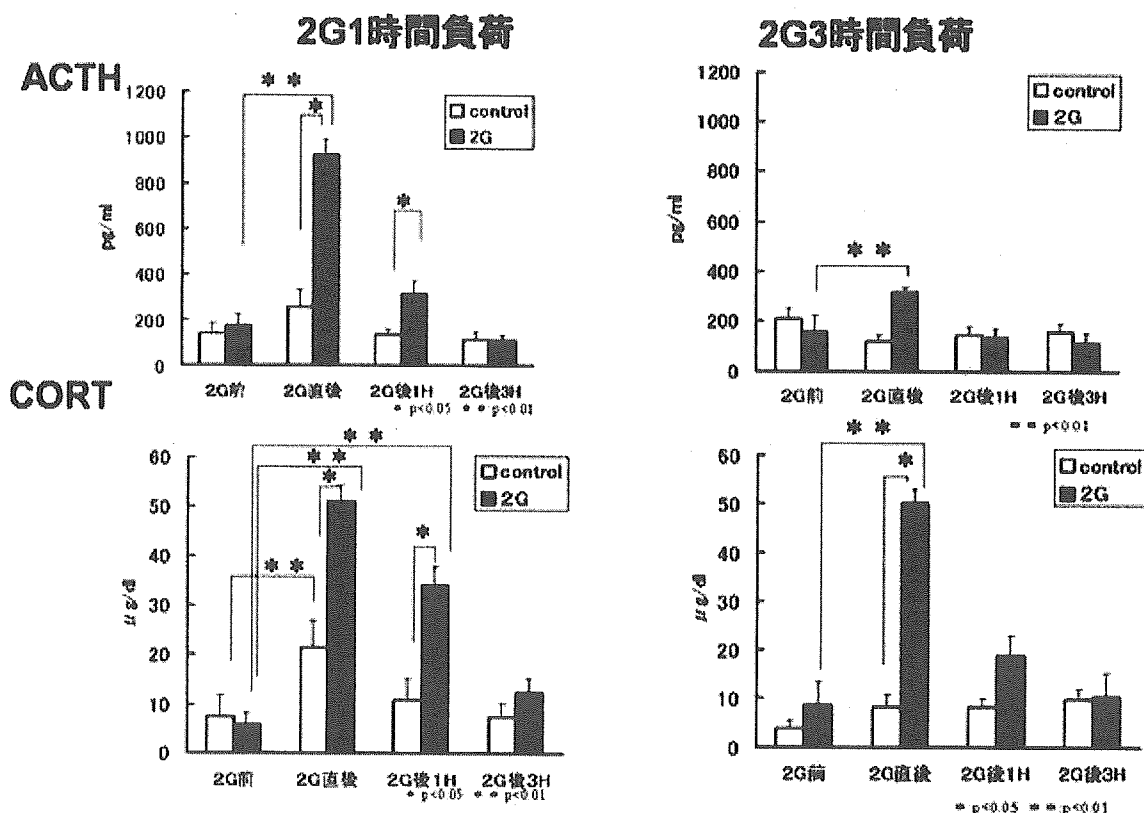


図 1

1 時間および 3 時間の過重力負荷にてラット血漿 ACTH, corticosterone 値は上昇した.

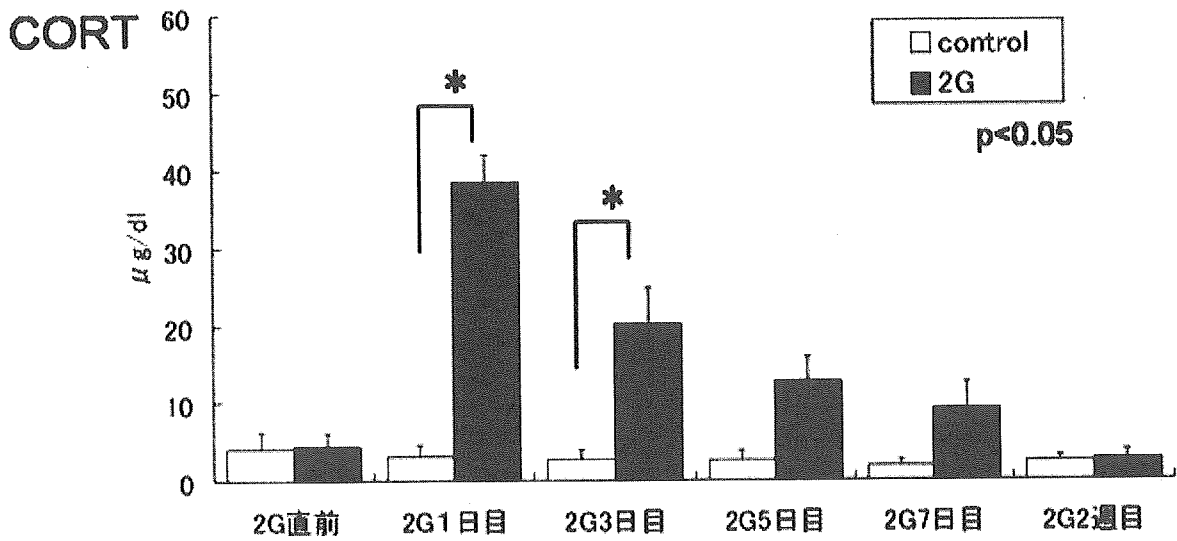
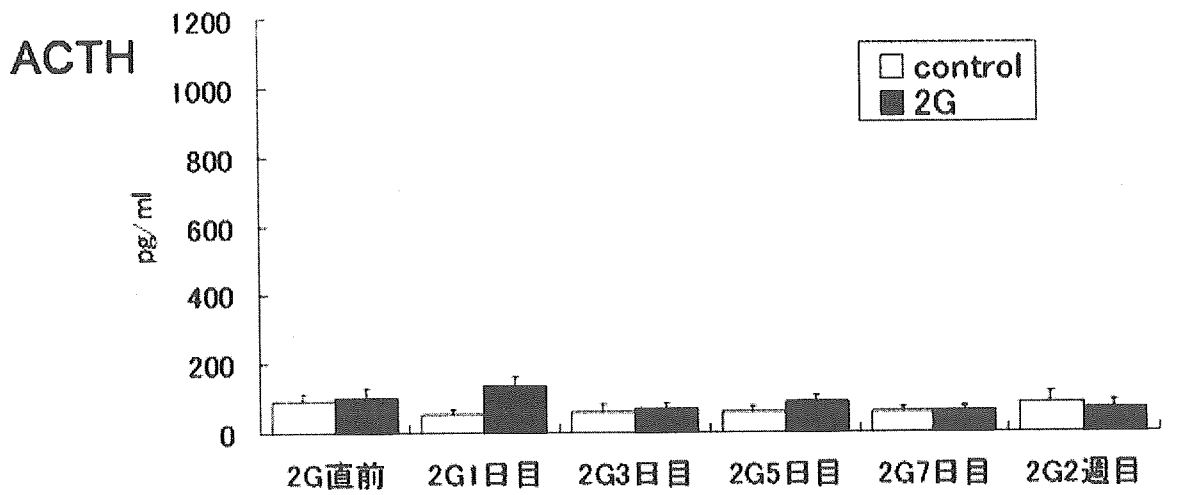


図 2

2週間の過重力負荷中血漿 CORT 値の高値を認めたが時間とともに対照と同等になった。血漿 ACTH 値は過重力負荷中の上昇は認めなかった。

1 2. めまい疾患におけるストレスと抑うつ／不安傾向について

堀井 新, 北原 糺, 宇野敦彦, 三谷健二, 久保 武
(大阪大学大学院耳鼻咽喉科)

【はじめに】

めまい治療上の問題点として、所見のないめまいをどう扱うか、正確に診断を下し治療を行っているにも関わらず治療効果が上がらないめまいをどうするか、の2点が挙げられる。例えば前者には赤外線 CCDカメラの導入による診断技術の向上、後者には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などの新しい治療法の開発などで対処されている。しかし、これらの問題点に関して精神疾患との関連がやや軽視されているきらいがあると思われる。

Staabら(2003年)は精神疾患とめまいとの関係を1.Psychogenic pattern: 精神疾患の身体症状のひとつとしてめまいを訴える場合, 2.Otogenic pattern: めまいを起こす器質疾患により精神疾患が続発しそれが原疾患にも悪影響をおよぼす場合, 3.Interactive pattern: めまいを起こす器質疾患が併存する精神疾患の悪化により増悪する場合, の3つに分類できると証明した。めまい治療上の問題点との関連では、所見のないめまいにPsychogenic patternが含まれている可能性、治療効果が上がらないめまいにOtogenic patternやInteractive patternが含まれており、合併する精神疾患に対する適切な治療が行われていないため治療効果が上がらない可能性、などがあげられる。

本研究ではこれらの問題点を明らかにする目的で、当科を受診しためまい患者を SSRI のひとつであるフルボキサミンを用いて治療した。治療前後のめまいの自覚症状をアンケート法を用いて、うつ／不安障害を Hospital Anxiety Depression Scale (HADS)を用いて評価し、器質疾患の有無とこれらの指標の変化を検討した。

【対象と方法】

対象は当科を受診しためまい患者 60 人で、フルボキサミン 200mg を 8 週間投与し、その前後でめまいアンケート、HADS アンケート、ストレスホルモン（バゾプレッシン、コルチゾール）の測定を行った。60 人の内訳は器質疾患のある group I 30 例（メニエール病 14 例、前庭型メニエール病 2 例、前庭神経炎 3 例、遅発性内リンパ水腫 1 例、その他の末梢性めまい 10 例）と器質疾患を認めない Group II 30 例である。

【結果】

HADS の正常値は anxious および depressive score の合計値が 12 以内とされている。これを基準とすると、Group I の 70%、Group II の 73%で HADS 高値であった。SSRI は全体として Group I、Group II ともにめまいの自覚症状を改善した。両群ともめまい改善群では HADS 値の低下を認めたが、めまい不変群では HADS も低下しなかった（図 1, 2）。Group I のめまい・HADS 不変群は治療前の HADS は低値傾向を示し（図 1）、逆に Group II のめまい・HADS 不変群は治療前の HADS は高値傾向であった（図 2）。治療前後の HADS 値の低下と、自覚症状の改善は有意な相関を示し、自覚症状改善群では HADS が低下し、逆に HADS 低下群では自覚症状も改善した。HADS の内訳では anxious score、depressive score ともに SSRI 投与により低下し、治療の前後とも anxious score と depressive score は有意な相関を示した。治療前のストレスホルモンは、バゾプレッシンは両群とも高値であった。コル

チゾールは正常範囲内ではあるが、Group I で Group II より有意に高かった。SSRI 投与前後で両ホルモンは変化しなかった。

[考察]

所見のないめまいの73%でHADS高値であり、Psychogenic patternと思われた。この群のめまい改善群ではHADSも低下しており、SSRIが精神疾患に作用し、めまいを改善したものと思われる。この群のめまい不変群は治療前のHADSが高値傾向にあり、なおかつSSRIによる低下も認めなかったため、やはり治療抵抗性のPsychogenic patternであると考えられる。所見のあるめまいでもその70%でHADS高値であり、Organic or Interactive patternであると思われる。この群でもめまい改善群ではHADSは低下しており、併存する精神疾患の治療によりめまいが改善したものと考えられる。この群のめまい不変群は治療前のHADSは低値傾向であり、器質疾患に対する適切な治療を優先すべきと思われる。SSRIはHADSの低い器質疾患を持つめまいには無効であったことから、その中枢前庭セロトニン系を介しためまい改善のメカニズムは考えにくいと思われる。

治療前後ともにHADSと自覚症状の強さに相関があり、HADS低下群ではめまいも改善し、逆にめまい改善群ではHADSも低下していることから、めまい疾患と精神疾患の間には両方向性の(bidirectionalな)関連があり、いわゆるvicious cycle (悪循環)を形成するものと思われる。

ストレスはめまいに関連する精神疾患の発症に大きく関わっていると想像されるが、めまいの改善した群でもストレスホルモンは低下せず、めまい疾患による症状のみがストレス源になっているわけではないと思われる。

[結論]

めまいを訴える患者では器質疾患の有無にかかわらず精神疾患を合併している比率が高く、合併する精神疾患がめまい治療の妨げになっている場合が多い。これは、めまい疾患と精神疾患の間には両方向性の関連(vicious cycle)があるためであり、SSRIは精神疾患に作用しこの悪循環を断ち切ることにより、めまいを軽減する。

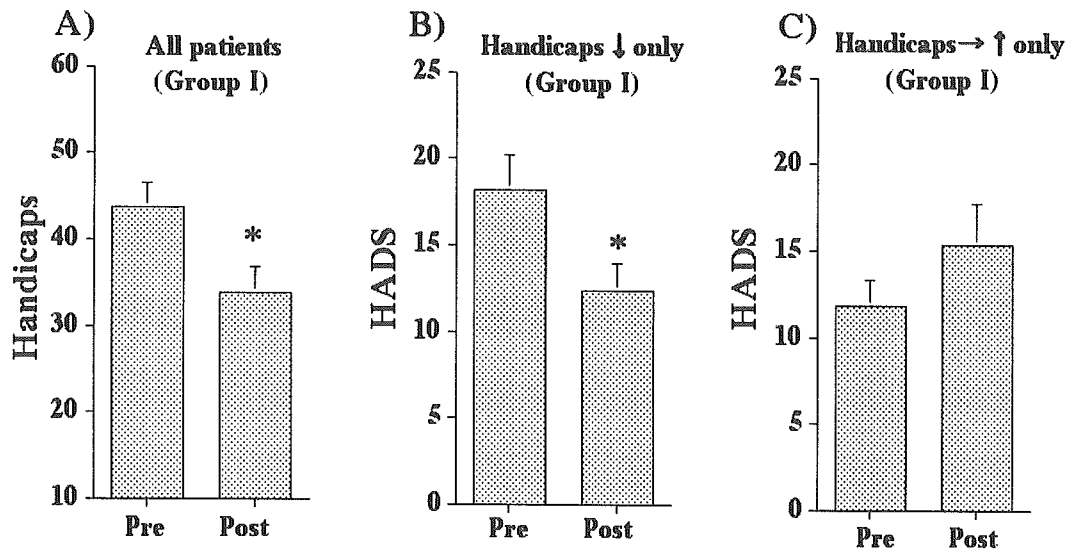


图 1

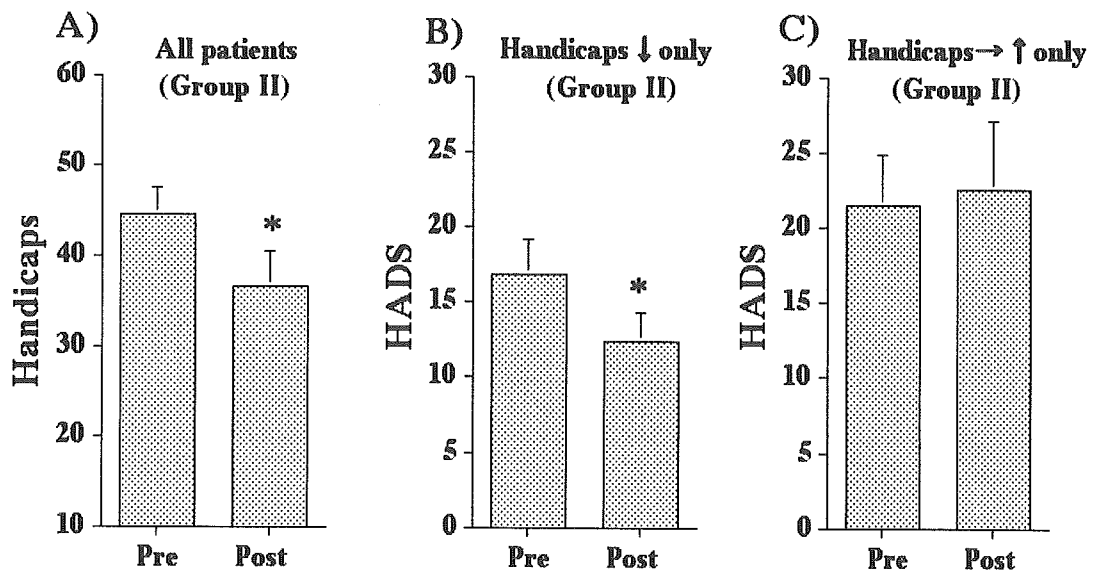


图 2

13. メニエール病確実例の内リンパ嚢に発現する遺伝子 —DNA マイクロアレイによる解析—

土井勝美, 佐藤 崇, 倉増俊宏, 北原 糺, 久保 武
(大阪大学大学院耳鼻咽喉科)

【はじめに】

多因子疾患であるメニエール病の本態である内リンパ水腫は、蝸牛血管条・半規管膨大部暗細胞における内リンパ液の産生と内リンパ嚢における内リンパ液の吸収の不均衡により生じると推察されているが、その形成機構は現在も十分には解明されていない¹⁾。これまで我々は、血管条および内リンパ嚢に発現するカリウムチャネルKCNE遺伝子に焦点をしばり、メニエール病確実例において同遺伝子のSNP解析を行ってきた。その結果、KCNE1およびKCNE3遺伝子上のSNPのパターンは、メニエール病の発症すなわち内リンパ水腫の形成に大きな影響を与えることが確認された²⁾。KCNE遺伝子上のバリエーションは、メニエール病発症の決定因子ではないが、その危険因子となる可能性が示唆されたのである。同時に、KCNE遺伝子上のSNPのパターンが、メニエール病確実例におけるいくつかの臨床的な特徴と相関を有することも判明した。

もちろん、多因子疾患であるメニエール病の発症には、KCNE 遺伝子上のバリエーション以外の多くの遺伝的な素因と、ストレス・食事・生活パターン等のさまざまな環境因子が複雑に絡み合っているものと推察される³⁾。メニエール病の遺伝的素因をさらに詳細に検討するためには、膨大な数の遺伝子の中から、内リンパ水腫の形成に深く関与する可能性が高い遺伝子群を抽出し、上述の手法により、同遺伝子群における変異・バリエーションとの相関を効率良くスクリーニングしていく必要がある。そこで、本研究では、メニエール病確実例の内リンパ嚢に発現する多数の遺伝子の動態を、同時に網羅的に観察することが可能なDNA マイクロアレイ法を用いて解析することとした。

【対象と方法】

当科で手術を受けたメニエール病確実例、聴神経腫瘍の症例よりヒト内リンパ嚢の採取を行った。本研究の目的、内容、成果等に関して各症例に十分な説明を行い、各症例より文書によるインフォームドコンセントを得た。採取したヒト内リンパ嚢より total RNA の抽出を行った後、電気泳動にて 18S rRNA および 28S rRNA の 2 つのピークがあることを確認し、さらに cRNA を 1000~2000 倍に増幅した上で、2 種類の Affymetrix 社製 Gene chip とのハイブリダイゼーションを行った (図 1)。Gene chip の 1 つは、Human Genome (HG) Focus Array で、chip 上の 8793 遺伝子の発現量が、もう 1 つの chip は、U133plus2,0 Array で、こちらは 47000 遺伝子の発現量が一度に測定可能である。得られたデータは、解析ソフト Gene Spring を使用して処理を行った。

【結果】

1) 聴神経腫瘍症例 (control1) とメニエール病症例 (MD1) の内リンパ嚢に発現する遺伝子量の比較
HG Focus Array の chip 上に存在する 8793 遺伝子の内、control1 および MD1 いずれの内リンパ嚢でも発現が確認できた 7579 遺伝子について、両者間で発現量を比較したところ、MD1 において発現量の低下を示す遺伝子群が多くみられた。発現量の変化閾値を 3 倍もしくは 0.33 倍 (1/3 倍) に設定して検討すると、MD1 において 3 倍以上に発現量の増加を示した遺伝子群が 114 遺伝子 (114/7579=1.5 %)、逆に、

MD1において0.33倍以下に発現量の低下を示した遺伝子群が1214遺伝子 ($1214/7579=16\%$)であった。
2) 聴神経腫瘍症例 (control1) とメニエール病症例 (MD2) の内リンパ嚢に発現する遺伝子量の比較
同様に, HG Focus Array の chip 上に存在する 8793 遺伝子の内, control1 および MD2 の内リンパ嚢のいずれにも発現が確認できた 7399 遺伝子について, 両者間で発現量を比較したところ, MD2 において発現量の低下を示す遺伝子群が多くみられた。MD2 において 0.33 倍以下に発現量の低下を示した遺伝子群は 502 遺伝子 ($502/7399=6.8\%$) であった。

[考察]

今回のDNAマイクロアレイを用いた解析から, 聴神経腫瘍症例の内リンパ嚢における各遺伝子の発現量を基準とすると, メニエール病症例の内リンパ嚢では, その遺伝子発現量が低下する遺伝子群が多数確認された。逆に, 遺伝子発現量が増加する遺伝子群も確認されたが, その数は比較的少なかった。

Control1 と比較して, MD1 では遺伝子発現量が 0.33 倍以下に低下したものが 1214 遺伝子 (16%) あり, また, MD2 でも遺伝子発現量が 0.33 倍以下に低下したものが 502 遺伝子 (6.8%) あった。Control1 と比較して, MD1 と MD2 の両者で遺伝子発現量が 0.33 倍以下に低下したものは 322 遺伝子であった。これらの遺伝子群における発現量の変化が, 新たなる内リンパ水腫の形成に関係するものなのか, あるいは, すでに存在する内リンパ水腫の結果であるのかは, 現時点では不明である。これらの遺伝子群をさらに機能別に分類した上で, 内リンパ水腫の形成に密接な関連を有することが示唆される遺伝子を抽出し, その遺伝子上の変異・バリエーションを解析することで, メニエール病の遺伝的素因についてさらに検討を加えていく予定である。

[結論]

DNA マイクロアレイを用いた解析から, 聴神経腫瘍症例の内リンパ嚢における各遺伝子の発現量を基準とすると, メニエール病症例の内リンパ嚢では, その遺伝子発現量が低下する遺伝子群が多数確認された。これらの遺伝子群の内リンパ嚢における質的・量的変化が, 内リンパ嚢における水・イオン輸送における機能的変化を惹起することで, 内リンパ水腫の形成やメニエール病発症の遺伝的素因となる可能性が推察された。

[参考文献]

- 1) Morrison AW: Anticipation in Meniere's disease. *J laryngol Otol* 1995; 109: 499-502.
- 2) Doi K, Sato T, Kuramasu T, Hibino H, Kitahara T, Horii A, Matsushiro N, Fuse Y, Kubo T: Meniere's disease is associated with single nucleotide polymorphisms in the human potassium channel genes, *KCNE1* and *KCNE3*. *ORL* 2005; 67: 289-293.
- 3) Lynch M, Cameron TL, Knight M, Kwok TY, Thomas P, Forrest SM, Giersch ABS, Briggs RJS, Pyman BC: Structural mutational analysis of antiquitin as a candidate gene for Meniere's disease. *Am J Med Genet* 2002; 110: 397-399.

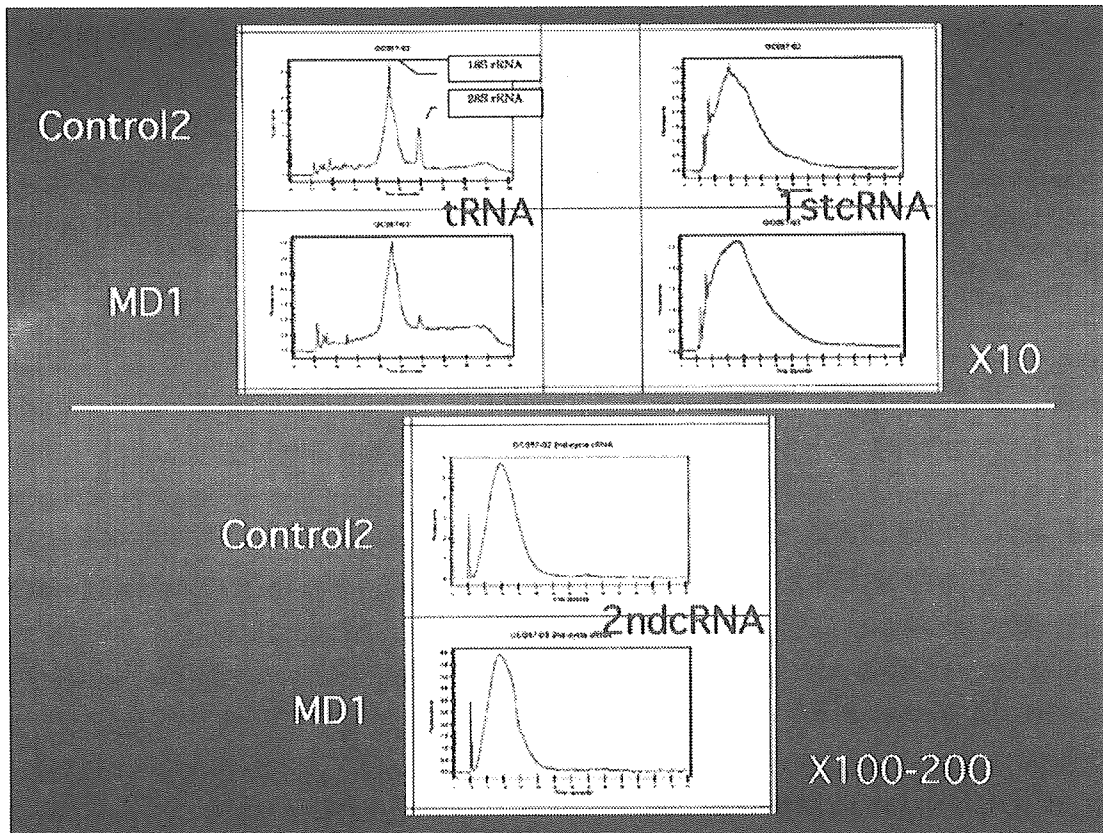


図1) 聴神経腫瘍症例 (control2) およびメニエール病症例 (MD1) の内リンパ嚢より抽出したtotal RNA, cRNAの量的・質的解析

1 4. メニエール病患者における HSPA1A 遺伝子の SNP 解析

河口幸江, 萩原 晃, 林 賢, 鈴木 衛
(東京医科大学耳鼻咽喉科)

【はじめに】

メニエール病の発症にはストレスが関与するという報告は多いが、それがどのように発症に関与するかは明確でない。そこで、ストレスタンパク HSP70 の一遺伝子 HSPA1A の SNP (single nucleotide polymorphism) 解析を行うことでメニエール病とストレスの関連について検討した。さらにその結果と精神的ストレスおよび臨床所見との関連について検討したので報告する。

【対象と方法】

対象は厚生省研究班の診断基準に従いメニエール病と診断された患者 49 例である。平均年齢 44.5 歳、男性 20 例、女性 29 例であった。めまい・難聴のない健常者 100 例を対照とした。

当院の倫理委員会で本研究の承認を得た後、その指針に従い患者にインフォームドコンセントを行い文書による同意を得て採血した。その血液より Qiagen 社の抽出キットを用いて末梢血リンパ球より DNA を抽出した。抽出した DNA は島津製作所の masscode system を用いて HSP70 の一遺伝子である HSPA1A 遺伝子の SNP 解析を行った。そして、心理テストの POMS(profile of mood states)を全例に行い、精神ストレスの程度を測定した。

【結果】

HSPA1A 遺伝子の SNP 解析で、mRNA 発現調節領域である -110C または A と 190G または C の SNP があつた。-110 では患者群で C/C が 9 例 (18.4%)、C/A が 26 例 (59.2%)、A/A が 14 例 (28.6%)、対照群で C/C が 10 例 (10.0%)、C/A が 50 例 (50.0%)、A/A が 40 例 (40.0%) であり、患者対照間に有意差はなかったが、190 は患者群で G/G が 19 例 (38.8%)、G/C が 28 例 (57.1%)、C/C が 2 例 (4.1%)、対照群で G/G が 69 例 (69.0%)、G/C が 28 例 (28.0%)、C/C が 3 例 (3.0%) であり、C を一つ以上持つもの (G/C または C/C) が患者群に有意に多かった ($p < 0.001$) (表 1)。

精神的ストレスの評価として今回用いた心理テストの POMS は不安、抑うつ、怒り、活気、疲労、混乱の 6 項目の気分を評価でき、基準値より得点が高い場合その気分が強いと評価される。ただし活気のみは基準値より低い場合に活気が低下していると判断する。患者と対照全例に施行し、それぞれの気分において基準値を超える症例数の割合を調べたところ、すべての気分において患者群の割合が高かつた (図 1)。活気の低下のみが患者対照間で有意差があつた。HSPA1A 遺伝子 190C を持つものの割合は、POMS 陽性患者と対照間で有意差はなかった。

つぎにめまい発作と聴力について比較検討した。メニエール病患者で HSPA1A 遺伝子 190G 群と 190C 群間でめまい発作頻度、回数および病悩期間の比較では差はなかった (表 2)。聴力については AAO-HNS の診断基準に従い、最も悪い時期の聴力の 4 分法で病期分類を行った。HSPA1A 遺伝子 190G 群と 190C 群で聴力の平均値と 1 期から 4 期までの症例数の割合で差はなかった (図 2)。

【考察・結論】

近年、様々な分野で疾患の発症の仕組みを解明するためにゲノム研究が進んでいる。そのなかでも、遺伝情報のバリエーションである遺伝子多型が様々な疾患に関与することが明らかになってきている。

遺伝子多型は、顔貌や体格が千差万別であるように遺伝情報である塩基配列での個人間の違いを意味し、SNP, RFLP (restriction fragment length polymorphism), VNTR (variable number of tandem repeat), マイクロサテライトなどがある。そのうち SNP はゲノム中に 300 万から 1000 万か所と他のものと比べて非常に多く存在すると推測されており、判定法が比較的容易であることからとくに注目されている。

SNP の中には遺伝情報として発現に関与しないものも多いが、発現の調節領域や翻訳領域にある SNP は生命活動に必要なタンパクの過不足が生じたりタンパクの性質が変化する可能性があり、その結果疾患を引き起こしたり疾患の重症度に影響したりすると考えられている。遺伝子多型とは遺伝病において決定因子となる遺伝子とは異なり、多因子疾患における一つの因子にすぎないが、特定の疾患に有意に多い SNP はその疾患の発症の危険因子として関与すると考えられている。

これまでメニエール病の発作には様々なストレスが関与しているとの報告があり、CMI などの心理調査で一定の傾向がみられることは報告されている¹⁾が、科学的な根拠は明らかでない。ADH などのストレスホルモンを測定することでストレスとの関連をみる研究もされているが、特異的なものは見出されていない。そこで今回はストレスタンパクである heat shock protein (HSP) に着目し、その遺伝子の SNP 解析を行うことでメニエール病とストレスの関連について検討した。

HSP のうちストレス誘導性の代表である HSP70 の SNP 解析は、パーキンソン病などの他疾患においても報告されている。HSP70 の遺伝子は HSPA1A, HSPA1B, HSPA1L の 3 つの遺伝子から構成されており、今回、HSPA1A 遺伝子の 5' 上流、すなわち主に発現調節領域にあたる部位の SNP 解析を行ったところ、健常者と比べて有意に多い SNP190C が見出された。以上のことから、HSPA1A 遺伝子の 190C はメニエール病の発症に関与する一因であると考えられる。しかし、HSPA1A 遺伝子の 190C は、今回の検討ではめまい発作や聴力などの臨床所見において有意差がなかったため、メニエール病の重症度との関連は明らかにならなかった。

ストレスを客観的に評価するためにメニエール病患者と対照に POMS を行った。POMS は一つの気分だけ測定する SDS や MAS とは異なり、6 つの気分を簡便に評価できるテストで、神経症などによる気分感情の変調、癌患者の QOL、産業ストレス・疲労などの広い範囲の評価に用いられている。今回、メニエール病患者では不安、抑うつ、怒り、活気の低下、疲労、混乱すべてにおいて強く出る傾向はあったが有意差はなく、HSPA1A 遺伝子の SNP190C の有無でも POMS の結果に有意差がなかった。北原らも CMI では一定の傾向がみられなかったと報告しており、心理テストでストレスを評価するのは難しいと考えられる。これは現代社会では大多数が多少なりともストレスを感じているためではないかと思われる。

HSP は温熱刺激、酸化剤、アルコール、グルコース飢餓、炎症など様々なストレスによって誘導されるタンパクである。そして HSP は細胞が様々なストレスに曝された時にストレス応答を引き起こし、ストレス刺激によって障害された細胞を修復する働きがある³⁾。HSPA1A 遺伝子の SNP190C があることから、HSP70 の発現量に異常が起こり、ストレス刺激に対するストレス応答が適切になされず細胞が障害されることが、メニエール病の発症の一因になっているのではないかと推察された。

この推察をもとに、今後は遺伝子 (mRNA) の発現やタンパクの発現・機能を検索する必要がある。現段階でメニエール病患者に HSPA1A 遺伝子の SNP190C が多く存在したことは本疾患とストレスの関連を示唆する科学的根拠の一つであろう。

[参考文献]

- 1) 北原正章, 他: 心身医学的にみたメニエール病. 耳鼻臨床, 70 (増 5), 1977.

- 2) Wu YR, et al.: Analysis of heat-shock protein 70 gene polymorphism and the risk of Parkinson's disease. Human Genetics 114 : 236-241, 2003
- 3) 伊藤要子 : 温熱療法の新しい臨床応用 (予備加温療法) - 加温により誘導される HSP70 の生体防御作用 -. 放射線生物研究, 33, 4, 1988.

図表の説明

表 1 HSPA1A 遺伝子の SNP 解析

図 1 POMS

メニエール病患者および対照の POMS において基準値を超えた症例数の割合

表 2 SNP とめまい発作

メニエール病患者における HSPA1A 遺伝子の SNP 別のめまい発作・病悩期間

図 2 SNP と聴力

メニエール病患者における最悪化時の聴力を 4 分法で示した。HSPA1A 遺伝子の SNP 別の病期別症例数の割合と聴力平均を示す。

Genotype	HSPA1A -110			HSPA1A 190		
	C/C	C/A	A/A	G/G	G/C	C/C
メニエール病 (例)	9	26	14	19	28	2
n=49 (%)	18.4	59.2	28.6	38.8	57.1	4.1
対照 (例)	10	50	40	69	28	3
n=100 (%)	10.0	50.0	40.0	69.0	28.0	3.0

$p > 0.05$
 $p < 0.001$

表1

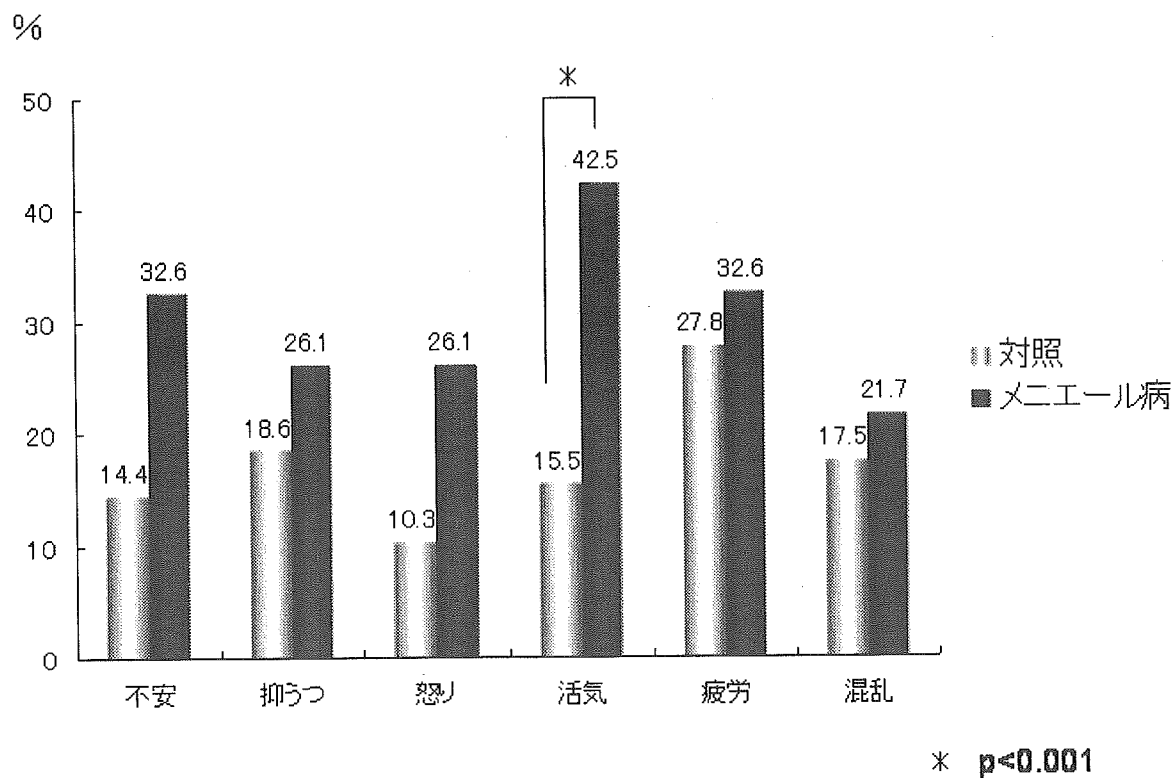


図1

	HSPA1A 190	
	G	C
発作頻度 (回/年)	2.66	1.85
発作回数 (回)	5.42	4.50
病悩期間 (力月)	39.7	45.5

表2

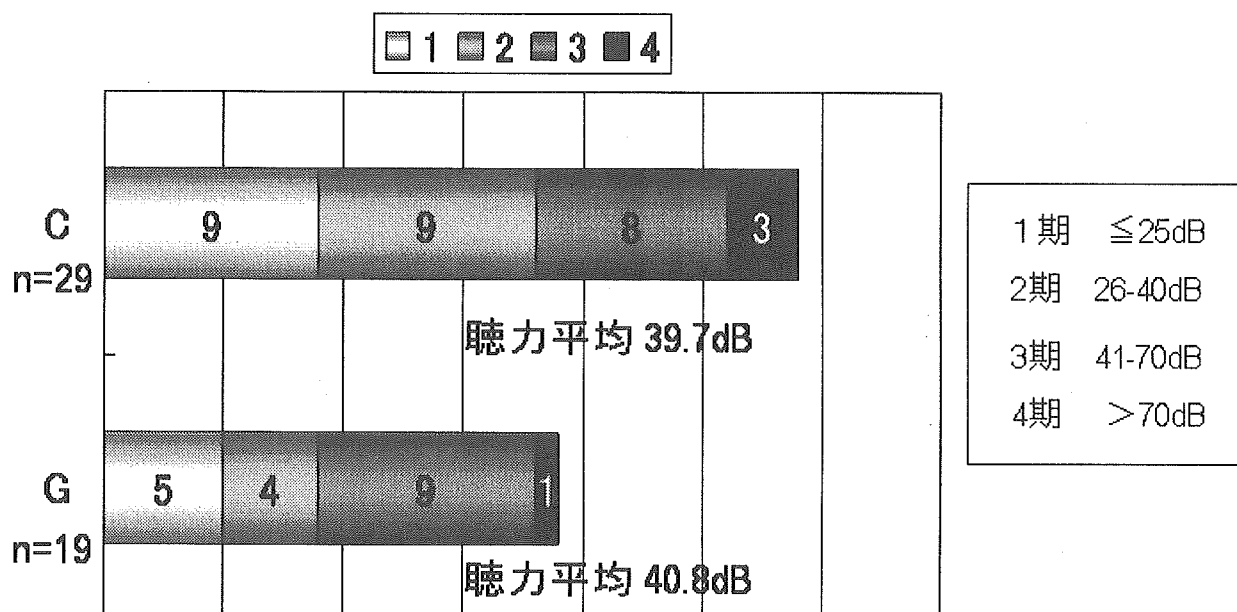


図2

15. BPPVの病態が半規管の活動性におよぼす影響

大塚康司, 鈴木 衛, 稲垣太郎, 北島尚治, 小川恭生
(東京医科大学耳鼻咽喉科)

【はじめに】

良性発作性頭位めまい症(BPPV)は、頻度の高いめまい疾患で、予後は比較的良好であるが、中には難治例もある。BPPVの病態として、半規管結石症¹⁾、クプラ結石症²⁾、耳石器障害が考えられてきたが、典型例では後半規管の半規管結石症が主たる病因とされるようになった。一方、BPPV、とくに外側半規管型患者において前庭眼反射(VOR)の利得が低下するとの報告がある³⁾。また温度刺激検査でCPをみとめた報告も知られている^{4,5)}。このことから、半規管結石症やクプラ結石症が存在する場合、クプラの物理的動特性が変化して半規管の反応性が抑制される可能性が考えられる。

今回、摘出半規管を用いて半規管結石症モデル、クプラ結石症モデルを作成し、振子様回転刺激下の半規管電位の変化について検討した。

【対象と方法】

実験には、体重110~220gのウシガエル(*Rana catesbeiana*)を用いた。エーテル深麻酔後断頭し、Suzuki ら⁶⁾の方法により実体顕微鏡下に後半規管および膨大部神経を摘出した。リンゲル液を満たしたガラス容器の中心から3cmの位置に試料を針で固定した。膨大部稜の底部中央とクプラの頂点を結ぶ直線が回転の中心に向かう位置に置いた。半規管を固定したガラス容器を直径30cmの回転テーブルの中心に固定し、膨大部神経をガラス吸引電極で吸引し、振子様回転運動下に後半規管膨大部神経複合活動電位を計測した。つぎに同側球形囊から採取した耳石塊を半規管に挿入し半規管結石症モデル、その耳石塊をクプラに付着させてクプラ結石症モデルとし、それぞれ同様に実験した。

振子様回転はまず周波数0.1Hz、角度270°、最大角速度84°/秒(図1)、ついで、周波数0.2Hz、角度180°、最大角速度112°/秒で行った。

挿入した耳石塊の大きさは、耳石塊の長さがクプラ側面全長の半分以上となる場合を大耳石塊(実験A)、クプラ全長の半分以下のものを小耳石塊(実験B)と定義した(図2)。誘発された後半規管神経活動電位は、ガラス吸引電極にて誘導し、スパイク密度ヒストグラムに変換した。ヒストグラム上で振子様回転刺激に応じる正弦波波形の最大値と最小値の差を計算し、反応量とした(図3)。半規管結石症とクプラ結石症の反応量を正常の値に対する百分率で表した。

【結果】

実験A, 大耳石塊

周波数0.1Hzの場合、反応量は正常を100とすると半規管結石症では54.6%(n=7)、クプラ結石症では17.7%(n=7)に減少し、クプラ結石症の方がより減少した。また、正弦波波形自体が消失し、自発放電のみを認めるものが半規管結石症では3個、クプラ結石症では5個あった。周波数0.2Hzの場合、半規管結石症では72.5%(n=7)、クプラ結石症では61.8%(n=6)に減少した。また、正弦波波形自体が消失し、自発放電のみを認めるものが半規管結石症、クプラ結石症ともに2個あった。周波数が高くなると反応量減少の程度は軽くなった。

実験B, 小耳石塊

周波数0.1Hzの場合、半規管結石症では99.4%(n=5)、クプラ結石症では96.1%(n=6)であり、半規管結石症、クプラ結石症ともに明らかな減少はなかった。周波数0.2Hzの場合、半規管結石症では104.9%(n=3)、クプラ結石症では98.2%(n=4)であり、半規管結石症、クプラ結石症ともに明らかな減少は認めなかった。

これらの結果をグラフにしたのが図4である。プロットの小さいのが小耳石塊、大きいのが大耳石塊を示し、実線は周波数0.1Hzを、点線は周波数0.2Hzを示す。小耳石塊では周波数に関わらず、半規管結石症、クプラ結石症ともに反応量は低下していない。大耳石塊では周波数0.1Hzの場合、半規管結石症、クプラ結石症ともに減少しているが、クプラ結石症のほうがより減少している。周波数0.2Hzの場合はやはり反応量は減少しているが、減少の程度は軽くなっている。

[考察]

耳石塊が大きい場合に反応量は減少し、小さい場合は反応量に変化がなかった。臨床的にも外側半規管型BPPVで温度眼振反応やVORの利得が低下する場合としない場合があり、これは耳石塊の大きさに関係していると考えられた。

Sekineら³⁾は外側半規管型BPPV患者のVORが半規管結石症では変化なかったが、クプラ結石症では抑制されたと報告している。今回の実験では半規管結石症のモデルでは反応の抑制が少ないので、内リンパ流動の抑制効果は弱いようである。内リンパの動きが保たれているようであれば反応に大きな変化はないと考えた。しかし、反応がまったく消失したものに関しては、耳石塊が閉塞を起こし内リンパ流動が消失するに至ったと考える。これは半規管を結紮した際に反応が消失した⁷⁾のと同様の機序であろう。このような耳石塊の塞栓は、canalith jam⁸⁾として難治性BPPVの病態の一つと推測されている。また、クプラ結石症モデルで反応が抑制されたのは、耳石塊自体が直接クプラの偏移を妨げたものと考えられる。反応が消失したものは、クプラに固着した耳石がクプラ全体の可動性を奪ったものとする。以上より、クプラ結石症の方が半規管結石症よりもクプラに対する可動性抑制効果が大きいことが判明した。臨床的にもクプラ結石症でめまい症状が強く、長引くことが予測される。

半規管結石症、クプラ結石症ともに回転周波数を上げると反応量減少の程度は軽くなった。これはクプラ結石症の方で顕著であった。つまり、クプラにかなりの負荷がかかっても周波数が高ければクプラは動きうる、すなわちクプラの剛性が増し高周波刺激に反応しやすくなったと考えられた。外側半規管型BPPVでVORの角加速度を上げると利得は上がるとの報告に一致するものとなった。

[結論]

1. 耳石塊が小さい場合では半規管結石症、クプラ結石症ともに明らかな反応量の減少は認めなかった。
2. 耳石塊が大きい場合は半規管結石症、クプラ結石症ともに反応量は減少したが、クプラ結石症の方が反応量減少は著明であった。
3. 半規管結石症、クプラ結石症ともに振子様刺激の周波数を高くすると反応量減少の程度は軽くなった。これはクプラ結石症の方で顕著であった。

[参考文献]

- 1) Hall SF, Ruby RRF, McClure JA.: The mechanics of benign paroxysmal vertigo. J Otolaryngol 1979, 8: 151-8
- 2) Schuknecht HF.: Cupulolithiasis. Arch Otolaryngol 1969, 90: 765-78
- 3) Sekine K, Imai T, Nakamae K, Fujioka H, Takeda N.: Dynamics of the vestibulo-ocular reflex

in patients with the horizontal semicircular canal variant of benign paroxysmal positional vertigo. Acta Otolaryngol 2004, 124: 587-94

- 4) Baloh RW, Honrubia V, Jacobson K.: Benign positional vertigo: clinical and oculographic features in 240 cases. Neurology 1987, 37: 371-8
- 5) Korres SG, Balatsouras DG, Ferekidis E. : Electronystagmographic findings in benign paroxysmal positional vertigo. Ann Otol Rhinol Laryngol 2004, 113: 313-8
- 6) Suzuki M, Harada Y, Sugata Y. : An experimental study on a function of the cupula:Effect of cupula removal on the ampullary nerve action potential. Arch Otorhinolaryngol 1984, 241:75-81
- 7) Suzuki M, Kadir A, Hayashi N. :Experimental model of vertigo induced by detached otoconia. Acta Otolaryngol 1996, 116: 269-72
- 8) Epley JM: Positional vertigo related to semicircular canalithiasis. Otolaryngology-Head and Neck Surgery 1995, 112: 154-161

図説明

図 1. 実験装置の模式図 (周波数 0.1 Hz の場合)

図 2. 半規管結石症とクプラ結石症における大耳石の大きさ (実験 A)

挿入した耳石塊の長さがクプラ側面全長 (両矢印) の半分以上となる場合を大耳石塊 (実験 A), クプラ全長の半分以下のものを小耳石塊 (実験 B) と定義した.

図 3. 反応量

振子様回転刺激に応じる正弦波波形の最大値と最小値の差を反応量とした(両矢印).

図 4. 耳石塊の大きさと周波数ごとの反応量の関係

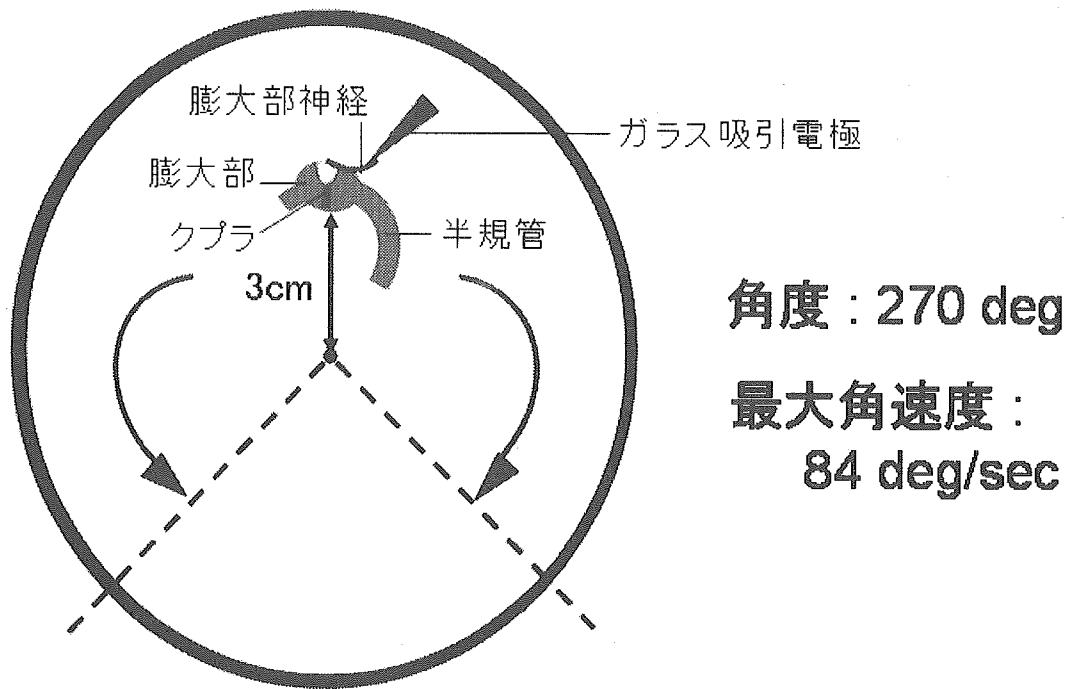


図1

実験 A (大耳石塊)

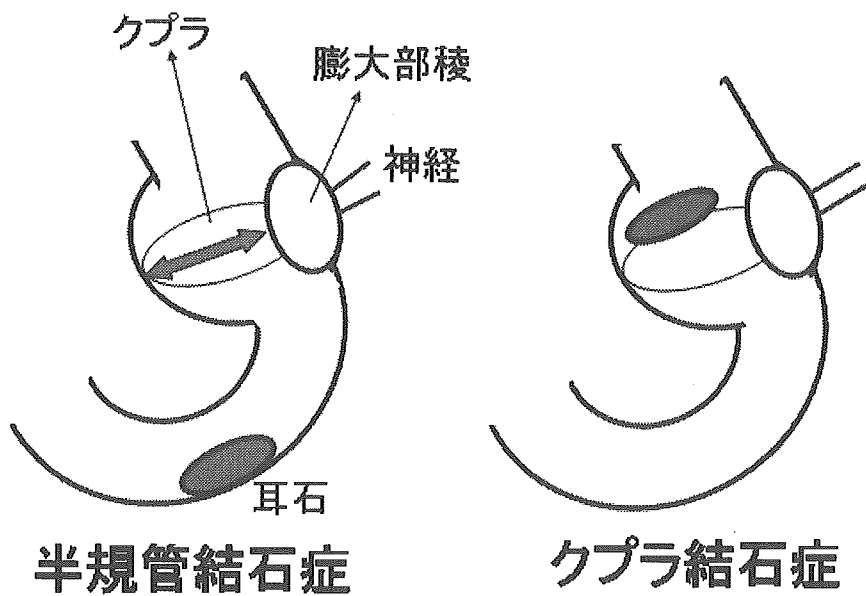


図2

図3

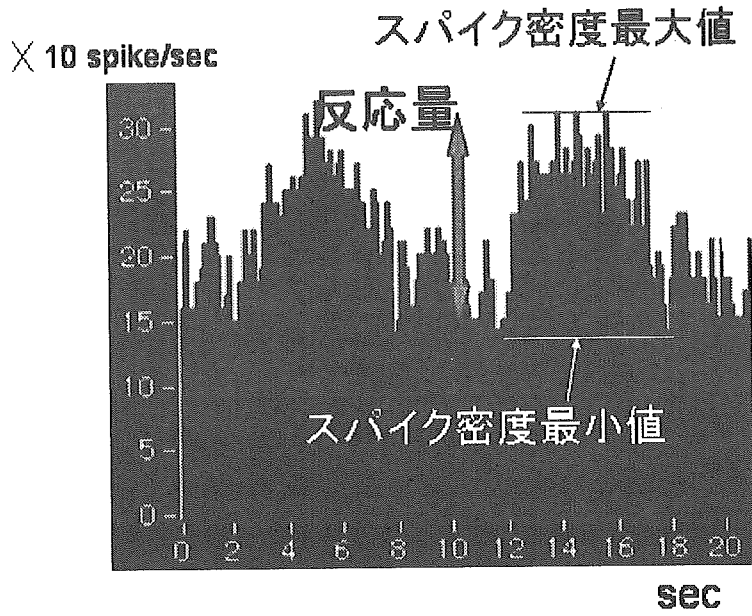
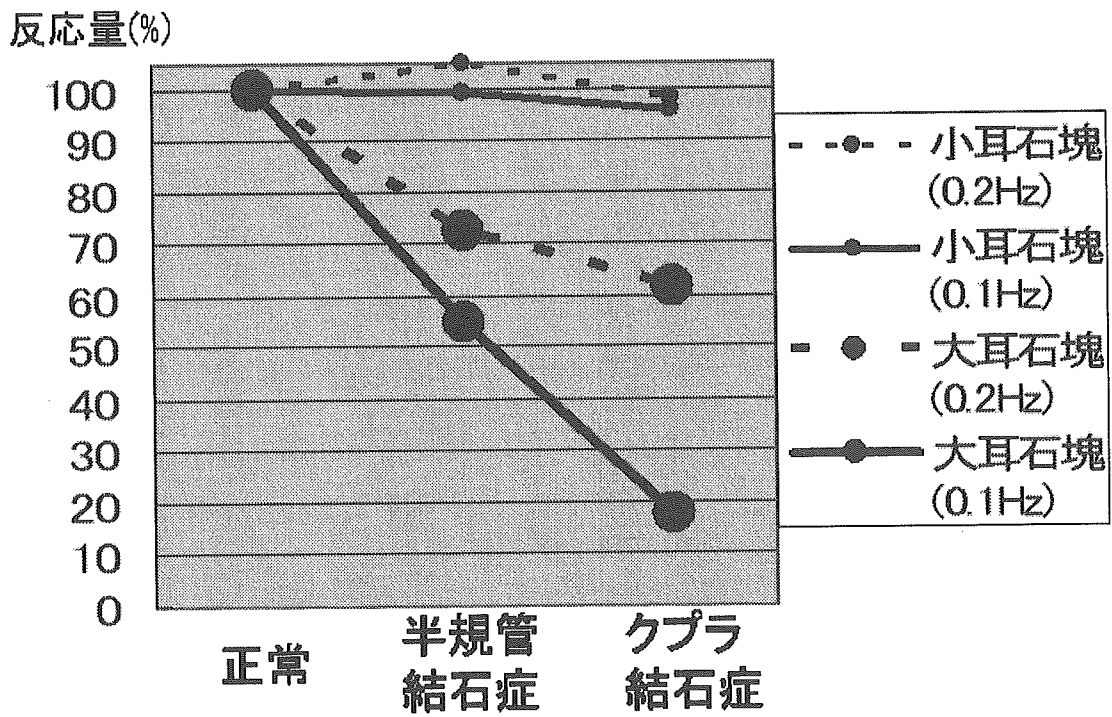


図4



16. 耳毒性薬物による半規管クプラと膨大部の形態学的変化について

長谷川剛, 鈴木 衛, 大塚康司, 稲垣太郎, 許斐氏元, 清水 顕
(東京医科大学耳鼻咽喉科)

【はじめに】

耳毒性薬物による内耳障害は周知の事実で, とくに蝸牛感覚細胞の変化については多くの研究がある。しかし, クプラの変化を検討した報告はきわめて少ない。今回, ゲンタマイシン (GMと略す) を外リンパ腔に注入し, クプラと膨大部感覚上皮の形態的变化について検討したので報告する。

【対象と方法】

体重 150 g 前後のウシガエル (*Rana catesbeiana*) を用いた。すでに報告した方法¹⁾で, エーテル麻酔下に口蓋粘膜を切開し, 右の内耳骨胞を露出した。白色に透見できる球形嚢を指標として, 注意深く微細シリンジを刺入し, 外リンパ腔に GM 0.1ml(4mg) を注入した。左側には生食 0.1ml を注入しコントロールとした。

1 週あるいは 2 週後に深麻酔下に断頭し, 後半規管を摘出した。墨汁でクプラを染色し実体顕微鏡下に形態を観察した。その後, 膨大部感覚上皮を 2.5% グルタルアルデヒドにて固定し走査電顕で観察した。

クプラおよび感覚上皮の障害度を次のように分類し評価した。

クプラの障害度

グレード 0 : 正常形態

グレード I : 中央部に凹みのあるもの

グレード II : 明らかな左右非対称

グレード III : 大きさが 1/3 以下または消失

感覚毛の障害度

グレード 0 : 障害が感覚上皮面積の 20% 以下

グレード I : 障害が 20~50%

グレード II : 障害が 50~80%

グレード III : 障害が 80% 以上

【結果】

GM の内耳内注入によってクプラは左右非対称あるいは著明縮小などの変化を示した。

生食を注入した対照側はクプラ, 感覚上皮ともに正常であった (図 1)。感覚上皮の障害程度も様々であった。クプラと感覚上皮の障害程度を表にしめす。感覚上皮の障害が軽度でクプラの障害が明らかなのは 1 個のみであった。クプラの変化が著明なものは感覚上皮障害が高度のものに多かった (図 2)。とくにクプラの変化が III のものは全例感覚上皮障害も III であった。ただし, 感覚上皮障害が II あるいは III と比較的高度のもの 12 個のうち 6 個でクプラの変化は軽度であった (図 3)。

【考察】

クプラは前庭の機械的受容器の一装置として重要であるが, 脆弱であるため詳しく検討されてこなかった。その主成分は細かい線維状組織とそれを埋めるムコ多糖体であり, 脊椎動物では酷似した形態と