

2007

- 橋本 誠, 竹野研二, 原 浩貴, 御厨剛史, 池田卓生, 綿貫浩一, 下郡博明, 菅原一真, 山下裕司: TTX を用いた両側一過性可逆性前庭入力遮断モデルの機能回復過程—行動観察, VOR, VCR による評価— 第 106 回 日本耳鼻咽喉科総会・学術講演会 大阪 2005.5.
- 御厨剛史, 竹本 剛, 田中邦剛, 竹野研二, 菅原一真, 下郡博明, 山下裕司: 音響障害に対するテプレノン長期間前投与の至適投与量の検討 第 106 回 日本耳鼻咽喉科総会・学術講演会 大阪 2005.5.
- 折田浩志, 下郡博明, 田中邦剛, 竹本 剛, 山下裕司: エダラボン単独内耳局所投与の影響 第 106 回 日本耳鼻咽喉科総会・学術講演会 大阪 2005.5.
- 下郡博明, 折田浩志, 竹野研二, 御厨剛史, 竹本 剛, 田中邦剛, 山下裕司: 種々薬剤の内耳局所投与治療における安全性 第 106 回 日本耳鼻咽喉科総会・学術講演会 大阪 2005.5.
- 竹野研二, 下郡博明, 田中邦剛, 竹本 剛, 御厨剛史, 折田浩志, 山下裕司: 一側前庭入力—過性遮断モデルにおけるジアゼパムの前庭代償への影響 第 106 回 日本耳鼻咽喉科総会・学術講演会 大阪 2005.5.
- 菅原一真, ルーベル エドウィン: 前庭有毛細胞死における JNK の役割 第 106 回 日本耳鼻咽喉科総会・学術講演会 大阪 2005.5.
- 橋本 誠, 折田浩志, 菅原一真, 綿貫浩一, 下郡博明, 山下裕司, 池田卓生: めまい外来における赤外線 CCD 検査システムの現況 第 31 回 中国地方部会連合講演会 出雲 2005.6.
- 山下裕司: 内耳への直接的薬物療法—基礎と臨床— 第 17 回 北北海道耳鼻咽喉科懇話会 旭川 2005.6.
- 田中邦剛: 音響障害とフリーラジカル 第 4 回 山口神経科学懇話会 宇部 2005.7.
- 橋本 誠: 不安に関連しためまい・耳鳴 第 15 回 山口県うつ病治療研究会 小郡 2005.7.
- 菅原一真, 山下裕司: ネオマイシンに暴露された前庭感覚細胞における JNK の活性化について 第 23 回 頭頸部自律神経研究会 大阪 2005.8.
- 山下裕司: めまいの診断と治療—最近の進歩— 宇部市医師会生涯教育講座 宇部 2005.9.
- 御厨剛史, 菅原一真, 田中邦剛, 橋本 誠, 下郡博明, 山下裕司: テプレノン長期間経口投与の音響障害に対する保護効果の検討 第 50 回 日本聴覚医学会総会ならびに学術講演会 東京 2005.9.
- 橋本 誠, 菅原一真, 田中邦剛, 池田卓生, 福本世界, 山下裕司: 若年発症の対側型遅発性内リンパ水腫症例 第 50 回 日本聴覚医学会総会ならびに学術講演会 東京 2005.9.
- 田中邦剛, 菅原一真, 御厨剛史, 橋本 誠, 下郡博明, 山下裕司: 音響障害におけるエダラボンの治療可能時間と蝸牛内フリーラジカルの推移についての検討 第 50 回 日本聴覚医学会総会ならびに学術講演会 東京 2005.9.
- 菅原一真, 橋本 誠, 奥田 剛, 御厨剛史, 池田卓生, 山下裕司: 長期観察し得た強直性脊椎炎に随伴する自己免疫性難聴症例 第 50 回 日本聴覚医学会総会ならびに学術講演会 東京 2005.9.
- 池田卓生, 山下裕司: 山口県内における聴覚発達チェックリストの利用状況について 第 50 回 日本聴覚医学会総会ならびに学術講演会 東京 2005.9.
- 橋本 誠, 郷久鉞二, 岡 孝和, 羽白 誠, Lu Zheng: 様々な診療科に遭遇する GAD—パネルディスカッション— めまい・耳鳴と不安障害との関連 第 3 回 GAD 研究会 福岡 2005.10.
- Kazuma Sugahara, Takefumi Mikuriya,

- Tsuyoshi Takemoto, Kuniyoshi Tanaka, Hiroshi Yamashita : The protection of inner ear by heat shock response 25th Politzer Society Meeting ソウル (韓国) 2005.10.
- ・ Hiroshi Yamashita, Kuniyoshi Tanaka, Tsuyoshi Takemoto, Kazuma Sugahara, Hiroaki Shimogori : The protective effect of edaravone on noise-induced inner ear damages 25th Politzer Society Meeting ソウル (韓国) 2005.10.
  - ・ 山下裕司 : めまい・難聴における最近の知見 第 37 回 日耳鼻新潟県地方部会学校保健研修会 新潟 2005.10.
  - ・ 田中邦剛, 菅原一真, 竹本 剛, 御厨剛史, 竹野研二, 下郡博明, 山下裕司 : 音響障害と AMPA 障害の急性期における蝸牛内ハイドロキシラジカル産生の推移 第 15 回 日本耳科学会総会学術講演会 大阪 2005.10.
  - ・ 御厨剛史, 菅原一真, 田中邦剛, 竹本 剛, 竹野研二, 下郡博明, 山下裕司 : テプレノン長期間経口投与による音響障害からの内耳保護効果とフリーラジカルとの関連の検討 第 15 回 日本耳科学会総会学術講演会 大阪 2005.10.
  - ・ 御厨剛史, 菅原一真, 田中邦剛, 竹本 剛, 竹野研二, 下郡博明, 山下裕司 : テトロドトキシンを用いた一側末梢前庭再入力モデル作成の試み 第 15 回 日本耳科学会総会学術講演会 大阪 2005.10.
  - ・ 菅原一真, エドウィン ルーベル, 山下裕司 : アミノグリコシドで誘導された有毛細胞障害における JNK の役割 第 15 回 日本耳科学会総会学術講演会 大阪 2005.10.
  - ・ 新井紹之, 菅原一真, 竹本 剛, 田中邦剛, 御厨剛史, 下郡博明, 山下裕司 : ネオマイシンによる有毛細胞死に対する エダラボンの効果 第 15 回 日本耳科学会総会学術講演会 大阪 2005.10.
  - ・ 下郡博明 : 内耳への直接的薬物投与法の開発—動物モデル作成とその評価— 第 15 回 日本耳科学会総会学術講演会 大阪 2005.10.
  - ・ 橋本 誠 : 山口大学感覚器センターにおける耳鼻咽喉科の役割 山口県めまい・難聴治療研究会 小郡 2005.10.
  - ・ 折田浩志, 竹野研二, 下郡博明, 御厨剛史, 山下裕司 : サブスタンス P を用いた末梢前庭興奮モデルの作成 第 64 回 めまい平衡医学会総会・学術講演会 東京 2005.11.
  - ・ 菅原一真, エドウィン ルーベル, 山下裕司 : アミノグリコシドで誘導された有毛細胞障害における JNK の役割 第 64 回 めまい平衡医学会総会・学術講演会 東京 2005.11.
  - ・ 竹野研二, 下郡博明, 折田浩志, 廣瀬敬信, 山下裕司 : 一側末梢前庭再入力モデルにおけるジアゼパムの影響 第 64 回 めまい平衡医学会総会・学術講演会 東京 2005.11.
  - ・ 橋本 誠, 池田卓生, 折田浩志, 菅原一真, 下郡博明, 山下裕司 : 視刺激検査における眼球運動画像解析の試み 第 64 回 めまい平衡医学会総会・学術講演会 東京 2005.11.
  - ・ 下郡博明, 折田浩志, 竹野研二, 山下裕司 : 末梢前庭 AMPA 障害に対する種々抗酸化剤の効果 第 64 回 めまい平衡医学会総会・学術講演会 東京 2005.11.
  - ・ 新井紹之, 菅原一真, 竹本 剛, 田中邦剛, 下郡博明, 山下裕司 : 前庭有毛細胞死に対するエダラボンの保護効果-in vitro-の検討 第 64 回 めまい平衡医学会総会・学術講演会 東京 2005.11.
  - ・ 橋本 誠, 折田浩志, 菅原一真, 竹野研二, 田中邦剛, 山下裕司 : カルバマゼピン内服によりめまい・耳鳴, 眼振の消失した神経血管圧迫症候群の 1 例 第 31 回 中国四国地方部会連合学会 高知 2005.12.
  - ・ 山下裕司 : 内耳への直接的薬物治療—基礎と臨床— 第 4 回 阪神めまい・難聴研究会 兵庫 2006.1.

- Kuniyoshi Tanaka, Tsuyoshi Takemoto, Kazuma Sugahara, Takefumi Mikuriya, Kenji Takeno, Hiroshi Orita, Makoto Hashimoto, Hiroaki Shimogori, Hiroshi Yamashita : Post-exposure application of the antioxidant edaravone reduces noise-induced hearing loss in guinea pigs. 29th Association for Research in Otolaryngology Baltimore, Maryland (USA) 2006.2.
- Takefumi Mikuriya, Kazuma Sugahara, Tsuyoshi Takemoto, Kuniyoshi Tanaka, Kenji Takeno, Hiroaki Shimogori, Hiroshi Yamashita : Geranylgeranylacetone attenuates the cochlea damage from noise injury in the guinea Pig. 29th Association for Research in Otolaryngology Baltimore, Maryland (USA) 2006.2.
- Hiroshi Orita, Kenji Takeno, Hiroataka Hara , Hiroaki Shimogori , Hiroshi Yamashita : Safety of edaravone on the inner ear in the guinea pig. 29th Association for Research in Otolaryngology Baltimore, Maryland (USA) 2006.2.
- Kenji Takeno, Hiroaki Shimogori, Hiroshi Orita , Kuniyoshi Tanaka , Tsuyoshi Takemoto, Takefumi Mikuriya, Hiroshi Yamashita : Influence of diazepam in unilateral vestibular reInput model using tetrodotoxin with osmotic pump. 29th Association for Research in Otolaryngology Baltimore, Maryland (USA) 2006.2.
- Hiroaki Shimogori, Kazuma Sugahara, Takefumi Mikuriya , Kenji Takeno , Hiroshi Orita, Hiroshi Yamashita : Effect of local application of vitamin E on AMPA-induced vestibulotoxicity in the guinea pig. 29th Association for Research in Otolaryngology Baltimore, Maryland (USA) 2006.2.
- Tsuguyuki Arai, Kazuma Sugahara, Takefumi Mikuriya, Tsuyoshi Takemoto, Hiroaki Shimogori, Hiroshi Yamashita : Edaravone protects vestibular hair cells against neomycin ototoxicity in vitro 29th Association for Research in Otolaryngology Baltimore, Maryland (USA) 2006.2.
- Kazuma Sugahara, Takefumi Mikuriya, Tsuguyuki Arai, Kuniyoshi Tanaka , Tsuyoshi Takemoto, Hiroaki Shimogori, Hiroshi Yamashita: Celastrol protects the vestibular hair cells against the ototoxicity of aminoglycoside 29th Association for Research in Otolaryngology Baltimore, Maryland (USA) 2006.2.
- 山下裕司: めまい・難聴における最近の知見 第30回長門・下関地区めまい研究会 下関 2006.4.
- 御厨剛史, 菅原一真, 竹本 剛, 田中邦剛, 竹野研二, 下郡博明, 山下裕司: Heat shock protein 誘導剤(テプレノン)を用いた音響障害からの内耳保護についての分子生化学的検討 第107回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 品川 2006.5.
- 新井紹之, 菅原一真, 竹本 剛, 田中邦剛, 御厨剛史, 下郡博明, 山下裕司: 有毛細胞保護に対するエダラボン至適濃度の検討 第107回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 品川 2006.5.
- 菅原一真, 新井紹之, 御厨剛史, 下郡博明, 山下裕司: 熱ショック応答誘導物質を用いた有毛細胞保護の試み 第107回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 品川 2006.5.
- 竹野研二, 下郡博明, 折田浩志, 山下裕司: 一側前庭再入力モデルにおける前庭代償の影響に関する検討 第107回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 品川 2006.5.
- 折田浩志, 竹野研二, 新井紹之, 御厨剛史,

- 下郡博明, 山下裕司: 一側末梢前庭興奮モデル作成の試み 第 107 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 品川 2006. 5.
- 下郡博明, 折田浩志, 新井紹之, 竹野研二, 御厨剛史, 山下裕司: ビタミン E と内耳障害 第 107 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 品川 2006. 5.
- 橋本 誠, 折田浩志, 竹野研二, 菅原一真, 下郡博明, 山下裕司: 前庭神経炎経過中の頭振り眼振, カロリック反応の経時的変化について—赤外線 CCD 検査システムによる解析— 第 32 回中国地方部会連合講演会 鳥取 2006. 6.
- 橋本 誠, 折田浩志, 菅原一真, 竹野研二, 下郡博明, 山下裕司: カルバマゼピン内服に依存してめまい・耳鳴, 眼振所見が推移した神経血管圧迫症候群症例 第 68 回耳鼻咽喉科臨床学会総会および学術講演会 金沢 2006. 6.
- 下郡博明: メニエール病の治療戦略—基礎研究と臨床研究の接点を求めて— 日本めまい平衡医学会夏期セミナー 東京 2006. 7.
- 橋本 誠, 菅原一真, 田中邦剛, 山下裕司: 長期間観察をしえた, 小児の内リンパ水腫二症例の検討 第 6 回耳鳴りと難聴の研究会経団連会館 東京 2006. 7.
- 菅原一真, 御厨剛史, 新井紹之, 下郡博明, 山下裕司: 熱ショック応答誘導物質を用いた前庭感覚細胞保護 第 24 回頭頸部自律神経研究会 大阪 2006. 8.
- 橋本 誠, 菅原一真, 御厨剛史, 田中邦剛, 広瀬敬信, 折田浩志, 下郡博明, 山下裕司: 音響障害に対するエダラボン投与の検討: 経正円窓膜的投与と全身的投与について 第 24 回頭頸部自律神経研究会 大阪 2006. 8.
- 折田浩志, 竹野研二, 新井紹之, 御厨剛史, 下郡博明, 山下裕司: 一側末梢前庭興奮モデルの試み 第 24 回頭頸部自律神経研究会 大阪 2006. 8.
- 菅原一真, 御厨剛史, 橋本 誠, 広瀬敬信, 下郡博明, 山下裕司: DBA/2J マウスの加齢による内耳の変化について 第 51 回日本聴覚医学会総会ならびに学術講演会 山形 2006. 9.
- 橋本 誠, 菅原一真, 下郡博明, 田中邦剛, 御厨剛史, 広瀬敬信, 山下裕司: 音響障害に対するエダラボンの経正円窓膜的投与と全身的投与の効果についての検討 第 51 回日本聴覚医学会総会ならびに学術講演会 山形 2006. 9.
- 御厨剛史, 菅原一真, 田中邦剛, 広瀬敬信, 橋本 誠, 山下裕司: モルモット蝸牛における音響負荷とテプレノンによる Heat shock protein 70 mRNA の発現の変化の検討 第 51 回日本聴覚医学会総会ならびに学術講演会 山形 2006. 9.
- 広瀬敬信, 菅原一真, 御厨剛史, 橋本 誠, 下郡博明, 山下裕司: 音響障害におけるコエンザイム Q10 の音響障害に対する保護効果の検討 第 51 回日本聴覚医学会総会ならびに学術講演会 山形 2006. 9.
- 御厨剛史, 菅原一真, 竹本 剛, 田中邦剛, 竹野研二, 下郡博明, 山下裕司: テプレノンによって前誘導された Heat shock protein の音響負荷後の変化の検討 第 16 回日本耳科学会総会学術講演会 青森 2006. 10.
- 竹野研二, 下郡博明, 山下裕司: 一側 TTX 直接内耳投与モデルにおける中枢の経時的変化に関する検討 第 16 回日本耳科学会総会学術講演会 青森 2006. 10.
- 折田浩志, 竹野研二, 新井紹之, 御厨剛史, 下郡博明, 山下裕司: サブスタンス P 内耳直接投与による末梢前庭興奮モデル 第 16 回日本耳科学会総会学術講演会 青森 2006. 10.
- 新井紹之, 菅原一真, 竹本 剛, 田中邦剛, 御厨剛史, 下郡博明, 山下裕司: エダラボンのネオマイシンによる有毛細胞死に対する保護効果 第 16 回日本耳科学会総会学術

- 講演会 青森 2006. 10.
- ・竹野研二, 下郡博明, 山下裕司: 一側 TTX 直接内耳投与モデルの前庭機能経過における中枢の影響に関する検討 第 65 回日本めまい平衡医学会総会 東京 2006. 11.
  - ・橋本 誠, 池田卓生, 松本潤子, 竹野研二, 折田浩志, 菅原一真, 下郡博明, 山下裕司: 視刺激検査における眼球運動画像解析の試み 第 2 報一従来の ENG との比較一 第 65 回日本めまい平衡医学会総会 東京 2006. 11.
  - ・菅原一真, 新井紹之, 竹野研二, 折田浩志, 下郡博明, 山下裕司: ユビキノンによる内耳感覚細胞保護について 第 65 回日本めまい平衡医学会総会 東京 2006. 11.
  - ・下郡博明, 竹野研二, 折田浩志, 山下裕司: 前庭神経節細胞の可塑性に関する研究 第 65 回日本めまい平衡医学会総会 東京 2006. 11.
  - ・折田浩志, 下郡博明, 竹野研二, 山下裕司: 一過性末梢前庭機能亢進モデルの病態に関する研究 第 65 回日本めまい平衡医学会総会 東京 2006. 11.
  - ・新井紹之, 菅原一真, 竹本 剛, 竹野研二, 折田浩志, 橋本 誠, 下郡博明, 山下裕司: エダラボンによる内耳感覚細胞保護について 第 65 回日本めまい平衡医学会総会 東京 2006. 11.
  - ・小口智啓, 鈴木伸嘉, 工 穰, 菅原一真, 原浩貴, 山下裕司, 宇佐美真一: 過重力環境が脳幹に及ぼす影響—マイクロアレイ及び real-time PCR を用いた検討— 第 65 回日本めまい平衡医学会総会 東京 2006. 11.
  - ・橋本 誠, 松本潤子, 菅原一真, 竹野研二, 下郡博明, 山下裕司, 池田卓生: 赤外線 CCD 検査システムによる ETT・OKP—赤外線 CCD 検査システムによる解析— 第 32 回中国四国地方部会連合学会 松江 2006. 12.
  - ・Yoshinobu Hirose, Kazuma Sugahara, Takefumi Mikuriya Makoto Hashimoto, Hiroaki Shimogori, Hiroshi Yamashita : Effect of coenzyme Q10 on noise-induced hearing loss in guinea pigs 30th Association for Research in Otolaryngology Denver, Colorado (USA) 2007.2.
  - ・Takefumi Mikuriya, Kazuma Sugahara, Tsuyoshi Takemoto, Kenji Takeno, Makoto Hashimoto, Yoshinobu Hirose, Hiroaki Shimogori, Hiroshi Yamashita : Long-term pretreatment by geranylgeranylacetone upregulates heat shock proteins and ameliorates noise injury 30th Association for Research in Otolaryngology Denver, Colorado (USA) 2007.2.
  - ・Makoto Hashimoto, Kazuma Sugahara, Yoshinobu Hirose, Takefumi Mikuriya, Kuniyoshi Tanaka, Hiroaki Shimogori, Hiroshi Yamashita : The effects of systemic or topical administration of edaravone on attenuating noise induced hearing loss 30th Association for Research in Otolaryngology Denver, Colorado (USA) 2007.2.
  - ・Hiroaki Shimogori, Kazuma Sugahara, Takefumi Mikuriya, Kenji Takeno, Hiroshi Yamashita : Effects of vitamin E on AMPA-induced vestibulotoxicity in the guinea pig 30th Association for Research in Otolaryngology Denver, Colorado (USA) 2007.2.
  - ・Kenji Takeno, Hiroaki Shimogori, Kazuma Sugahara, Takefumi Mikuriya, Hiroshi Orita, Yoshinobu Hirose, Hiroshi Yamashita : Evaluation of phosphorylated form of camp/calcium response element binding protein expression in the guinea pig brainstem in unilateral vestibular re-input model using tetrodotoxin with osmotic pump 30th Association for Research in Otolaryngology Denver, Colorado (USA) 2007.2.

- ・ Kazuma Sugahara, Yoshinobu Hirose, Takefumi Mikuriya, Tsuguyuki Arai, Tsuyoshi Takemoto, Makoto Hashimoto, Hiroaki Shimogori, Hiroshi Yamashita : Coenzyme Q10 protects the vestibular hair cells against the ototoxicity of aminoglycoside 30th Association for Research in Otolaryngology Denver, Colorado (USA) 2007.2.
- ・ 下郡博明, 竹野研二, 折田浩志, 山下裕司: 前庭神経節細胞の可塑性・障害法, 治療薬による変化 第 108 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 金沢 2007.5.
- ・ 折田浩志, 下郡博明, 菅原一真, 竹野研二, 山下裕司: サブスタンス P 投与による末梢前庭機能亢進モデルの検討 第 108 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 金沢 2007.5.
- ・ 橋本 誠, 池田卓生, 松本潤子, 菅原一真, 下郡博明, 山下裕司: ImageJ を用いた video-oculography (VOG) 第 108 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 金沢 2007.5.
- ・ 菅原一真, 広瀬敬信, 御厨剛史, 下郡博明, 山下裕司: コエンザイム Q10 による有毛細胞保護 第 108 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 金沢 2007.5.
- ・ 松本潤子, 橋本 誠, 菅原一真, 山下裕司: BPPV 様の眼振を呈した脳動静脈奇形術後の中枢性頭位めまい症例 第 69 回耳鼻咽喉科臨床学会総会および学術講演会 品川 2007.7.
- ・ 橋本 誠, 池田卓生, 松本潤子, 菅原一真, 下郡博明, 山下裕司: 赤外線 CCD カメラによる指標追跡検査と視運動性眼振検査の試み 第 69 回耳鼻咽喉科臨床学会総会および学術講演会 品川 2007.7.
- ・ 山下裕司: めまい・難聴における最近の知見 日耳鼻広島県地方部会研修会 呉 2007.7.
- ・ 山下裕司: めまい・難聴における最近の知見 第 34 回富山県耳鼻咽喉科臨床研究会 富山 2007.8.
- ・ 山下裕司: めまい・難聴における最近の知見 第 7 回ばんだね ORL フォーラム 名古屋 2007.8.
- ・ 山下裕司: めまい・難聴における最近の知見 第 245 回筑後耳鼻科カンファレンス 久留米 2007.9.
- ・ 橋本 誠, 菅原一真, 御厨剛史, 広瀬敬信, 山下裕司: 両側前庭機能低下症例における聴力の長期経過 第 52 回日本聴覚医学会総会ならびに学術講演会 名古屋 2007.10.
- ・ 折田浩志, 下郡博明, 竹野研二, 菅原一真, 山下裕司: サブスタンス P に投与による末梢前庭機能亢進モデルの機序に関する検討 第 17 回日本耳科学会総会 福岡 2007.10.
- ・ 下郡博明, 折田浩志, 菅原一真, 橋本 誠, 山下裕司: 末梢前庭障害後の前庭神経節細胞の活動性の変化 第 66 回日本めまい平衡医学会総会・学術講演会 大阪 2007.11.
- ・ 宮内裕爾, 菅原一真, 橋本 誠, 新井紹之, 折田浩志, 竹野研二, 下郡博明, 山下裕司: 有毛細胞死におけるミトコンドリアの役割 第 66 回日本めまい平衡医学会総会・学術講演会 大阪 2007.11.
- ・ 折田浩志, 下郡博明, 竹野研二, 橋本 誠, 菅原一真, 山下裕司: サブスタンス P 内耳直接投与による末梢前庭興奮モデルの機序に関する検討 第 66 回日本めまい平衡医学会総会・学術講演会 大阪 2007.11.
- ・ 橋本 誠, 松本潤子, 菅原一真, 下郡博明, 山下裕司: Image J を用いた video-oculography (VOG) における定量的評価の試み 第 66 回日本めまい平衡医学会総会・学術講演会 大阪 2007.11.
- ・ 松本潤子, 橋本 誠, 菅原一真, 下郡博明, 山下裕司: BPPV 様の眼振を呈した脳動静脈奇形術後の中枢性頭位めまいの一例 第 66 回日本めまい平衡医学会総会・学術講演会 大阪 2007.11.
- ・ 橋本 誠, 御厨剛史, 広瀬敬信, 松本潤子,

- 山下裕司: 特発性両側前庭機能低下症例における聴力の長期低下 第 33 回中国地方部会連合講演会 岡山 2007.12.
- 山下裕司: めまい・難聴における最近の知見 日耳鼻高知県地方部会・高知県耳鼻咽喉科医会合同学術講演会 高知 2008.1.
- 山下裕司: めまい・難聴における最近の知見 第 22 回御茶ノ水耳鼻咽喉・頭頸科治療研究会 東京 2008.1.
- Yukio Watanabe: New Treatment Strategies for Meniere's Disease. 25th Politzer Society Meeting Symposium, 2005, 7, Seoul, Korea.
- Shojaku H, Zang Lui Ri, Tsubota M, Fujisaka M, Watanabe Y Effect of the vestibular deafferentiation and cochlear destruction on the sound-evoked myogenic potentials on the sternocleidomastoid muscle in guinea pigs Annual Meeting of Society for Neuroscience, 2005, 11, Washington D.C., USA.
- Tsubota M., Shojaku H., Hori E., Fujisaka M., Nishijo H., Ono T., Yamamoto H., Watanabe Y. : Sound-evoked myogenic potentials on the sternocleidomastoid muscle in monkeys. 35th. Ann. Meet. Soc. Neurosci., 2005, 11, Washignton D.C. , USA.
- Watanabe Y., Shojaku H, Tsubota M, Mizukoshi K. :Effect of the parabolic flight on the vestibular evoked myogenic potentials (VEMP) in humans. 24th Barany Society Meeting, 2006, 6, Uppsala, Sweden.
- Shojaku H, Kobayashi K, Tsubota M, Ishimaru H, Fujisaka M, Watanabe Y. : Delay of p13 latency of the VEMP in patients with inner ear injury. 24th Barany Society Meeting. 2006.6 Uppsala, Sweden.
- 將積日出夫, 張瑞麗, 渡辺行雄: 強大音によるモルモット胸鎖乳突筋誘発筋電位. 第 106 回日本耳鼻咽喉科学会, 2005, 5, 大阪.
- 浅井正嗣, 小林健二, 渡辺行雄: 歩行中の頭部運動解析. 第 106 回日本耳鼻咽喉科学会, 2005, 5, 大阪.
- 渡辺行雄, 將積日出夫, 坪田雅仁: 前庭誘発筋電位に対する放物線飛行の影響に関する実験系の構築. 第 107 回日本耳鼻咽喉科学会, 2006, 5, 東京.
- 將積日出夫, 坪田雅仁, 渡辺行雄: 前庭誘発筋電位に対する放物線飛行の影響. 第 107 回日本耳鼻咽喉科学会, 2006, 5, 東京.
- 石丸ひとみ, 將積日出夫, 浅井正嗣, 安村佐都紀, 丸山元祥, 五十嵐良和, 渡辺行雄: 難治性内リンパ水腫疾患に対する中耳加圧療法—鼓室換気チューブ挿入の効果を中心に—. 第 68 回耳鼻咽喉科臨床学会, 2006, 6, 金沢.
- 坪田雅仁, 石丸ひとみ, 將積日出夫, 藤坂実千郎, 渡辺行雄: 後迷路性障害を併発したムンプス難聴症例. 第 16 回日本耳科学会, 2006, 10, 青森.
- 渡辺行雄, 浅井正嗣, 上田直子: 周波数分析を応用した重心動揺図評価法の検討. 第 6 回姿勢と歩行研究会, 2007, 3, 31, 東京.
- 將積日出夫, 坪田雅仁, 藤坂実千郎, 渡辺行雄: 強大音刺激によりサル胸鎖乳突筋に誘発される筋電位-本筋電位の起源と今後への応用. 第 108 回日本耳鼻咽喉科学会, 2007, 5, 17-19, 金沢.
- 將積日出夫, 坪田雅仁, 藤坂実千郎, 小林健二, 渡辺行雄: 特定地区メニエール病確実例の推移. 第 66 回日本めまい平衡医学会, 2007, 11, 大阪.
- 浅井正嗣, 西田 悠, 上田直子, 安村佐都紀, 小林健二, 渡辺行雄: 高齢者の体平衡障害に対する治療経験. 第 66 回日本めまい平衡医学会, 2007, 11, 大阪.
- 安村佐都紀, 坪田雅仁, 將積日出夫, 上田直子, 浅井正嗣, 渡辺行雄: 難治化しためまい症例の QOL の検討. 第 66 回日本めま

い平衡医学会, 2007, 11, 大阪.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

### 1. 特許取得

#### 1)

平成 17 年 7 月 25 日, 「眼球運動撮影装置」  
関根和教・武田憲昭・佐藤 豪, 青野敏博,  
日本国, 特願 2005-213657

#### 2) 国内出願中

発明の名称 : 外リンパ瘻の検出方法

出願番号 : 特願 2003-182860

出願日 : 平成 15 年 6 月 26 日

出願人 : 日本医科大学, 三菱化学株式会社

#### 3) 外国出願中

国際出願番号 : PCT/JP03/08123

出願日 : 2003 年 6 月 26 日

指定国 : 全指定

#### 4) 国内出願中

発明の名称 : 眼振誘発装置

出願番号 : 特願 2005-179515 号

出願日 : 平成 17 年 6 月 20 日

出願人 : 日本医科大学

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

## IV. 分 担 研 究 報 告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

内リンパ水腫形成における水チャネルの役割に関する

臨床的・基礎的研究

主任研究者 竹田 泰三 高知大学教授

研究要旨 内リンパ水腫形成の機序を基礎的、及び臨床的に検討した。基礎的研究では、血管条と内リンパ囊の aquaporin (AQP) と vasopressin type 2 receptor (V2-R) の分布と水動態におけるそれらの役割について検討した。血管条では、AQP1 は中間細胞の細胞膜に、AQP2 は基底細胞基底側の細胞膜に、AQP3 と V2R は基底細胞頂側の細胞膜に、また AQP7 および AQP9 は辺縁細胞管腔側に局在することが確認できた。血管条での水の流入は、これら血管条に発現する AQPs に加え、ラセン靭帯の 3 型線維芽細胞にも発現する AQP1、各細胞間を結ぶ gap junction、辺縁細胞の基底側膜に発現する Na-K-2Cl 共輸送体が一体となって行うことが解明された。内リンパ囊では AQP2, 3, 4, 7, 8, 9 及び V2-R は内腔上皮に、AQP1 は内リンパ囊の上皮下組織に発現した。多数の AQPs が一層の内リンパ上皮に発現するが、内リンパ囊でのこれら AQPs の水代謝における詳細な役割は不明であった。なお、AQP6 は血管条、内リンパ囊、前庭感覚細胞に発現したが、細胞膜には局在しないので水代謝に直接関与するものではないと考えられた。水チャネルの driving force である浸透圧を制御すると考えられている侵害受容体 (TRPV4) は、ラットでは内耳に広く発現することが既に知られているが、ヒト内リンパ囊にも発現することが確認された。この TRPV4 の阻害剤 Gd を鼓室内に負荷すると、血管条の細胞間隙が拡大し、血管条静止電位 (EP) も低下させた。近年、Gd 鼓室内注入による MRI 撮影によって内リンパ水腫を描出する極めて画期的な試みが脚光を浴びているが、Gd の耳毒性についてもある程度の配慮が必要であることを示唆している。内リンパ水腫モデルとしては、内リンパ囊閉塞動物も水腫形成初期に眼振が発現すること、1 型アレルギー刺激でも内リンパ水腫が形成できることが判明し、今後、内リンパ水腫の病態解明に役立つと思われる。臨床的には、メニエール病の血漿 ADH 値の動態についての調査とメニエール病のストレス因子を班員が持つメニエール病確実例に限定してアンケート法によって分析した。血漿 ADH 値については、1) 血漿 ADH 値の日内変動は、午前 9 時と午後 3 時以降に高値をとることが分かった。2) メニエール病症例では血漿浸透圧、血漿 ADH 値とも高値を示すが、発作期に見る血漿 ADH 値の上昇に血漿浸透圧が関与している事実はない。3) メニエール病とその他のめまい疾患でめまい発作期の血漿 ADH 値を比較しても、メニエール病例の ADH 値が有意に高く、めまいによる嘔吐や頭痛とは関連はなかった。4) 一般的に若年性片側聾では ADH 値が高値をとるが、特にその値が高い症例では遅発性内リンパ水腫に移行することが分かった。ストレスアンケートについては、最近のストレス理論に乗っ取り調査票を作成して施行した。ストレスとめまい発作との関係は 61.3% で関わりとの結果が得られた。ストレス対処行動は、メニエール病患者群では、対照群に比して自己抑制行動、熱中行動型が有意に高かった。治療法に関しては、新しい治療法を模索して実験的に検討した、甘味料として用いられている erythritol は、多糖類 pectin を添加すれば、瀉下作用が制御でき、かつ、優れた内リンパ水腫減荷効果を示すことより、新しいメニエール病の治療薬として有望であることが判明した。また、ロイコトリエン拮抗薬であるプラニルカストが 1 型アレルギーによる内リンパ水腫形成を抑制することが示され、今後メニエール病の治療薬として用いられる可能性があることが判断された。

## A. 研究目的

メニエール病をはじめとする内リンパ水腫疾患の病態に vasopressin-aquaporin2 (VP-AQP2) 系が深く関与していることを支持する証拠は多い。本分担研究の第一命題は VP-AQP2 系を含む内耳水代謝機構を基礎的に解明することある。これらの基礎的研究に加えて、メニエール病の病態に VP-AQP2 系が関与していると考え重要な根拠の 1 つである血漿 ADH 上昇の原因を臨床的に調査した。メニエール病の発症とストレスの関係を、ストレスに対する対処行動特性を中心に調査票を作成、日本国内の多施設間だけでなく、海外にまで調査枠を広げて多国間調査も行った。メニエール病の動物モデルとして、内リンパ囊閉塞による実験的内リンパ水腫動物の眼振の観察、アレルギーによる内リンパ水腫形成の可能性について検討した。新しい治療薬の開発を目指して、浸透圧利尿剤(Erythritol), 抗アレルギー剤(プラナルカスト)の内リンパ水腫の減荷効果について検討した。

## B. 研究方法

基礎的研究 1 : 内耳水代謝の中心的部位である血管条と内リンパ囊の AQP の分布を組織科学的に検討した。用いた動物は Wistar 系ラットで、内耳の凍結切片を作成、共焦点レーザー顕微鏡 (Zeiss, LSM410), または蛍光顕微鏡 (Zeiss, Axio Vision) で観察した。一次抗体は AQP1-9 (Chemicon 社) で、二次抗体は Alexa 546 anti-rabbit IgG を用いた。

基礎的研究 2 : 血管条の水の動態を探る目的で vasopressin 負荷による血管条の容積変化を形態学的に計測した。実験動物は Hartley 系モルモットを用い、epon 包埋した血管条を光顕的に観測、デジタルマイザーで血管条の面積、長さを計測、平均厚みを求めた。

基礎的研究 3 : 中耳骨胞内にオムニキャストの原液 (Gd 群), 生理食塩水にて 8 倍希釈したもの (1/8Gd 群), もしくは生理食塩水 (コントロール群) を満たし、EP の変化を 1 時間観

察した。その後、固定液にて外リンパ灌流にて組織固定を行い、血管条を摘出し TEM にて観察した。

臨床調査 1 : 入院中のメニエール病, 急性低音性難聴の血漿 ADH 値の日内変動を測定した。

臨床調査 2 : 血漿 ADH 値と血漿浸透圧との関係を検討した。

臨床調査 3 : めまい発作期のメニエール病症例とその他の眩暈症例の血漿 ADH 値を比較検討した。

臨床調査 4 : 若年性片側聾の血漿 ADH 値の長期観察データを統計解析した。

臨床調査 5 : ストレスアンケートを班員全員の協力によって、メニエール病確実例に限定して多施設間調査を行った。同様の調査を多国間でも行った。

メニエール病の動物モデルの検討

実験 1 : 有色モルモットを用い、内リンパ囊閉塞による内リンパ水腫動物の自発眼振を赤外線 CCD カメラにて記録、観察した。

実験 2 : DNP-ascaris を感作抗原として、アレルギー性内リンパ水腫形成有無を形態学的に検討した。

治療薬に関する基礎研究

実験 1 : 甘味料, erythritol の内耳減荷効果を erythritol 単独投与と pectin を添加して投与した場合で比較検討した。

実験 2 : 上記アレルギー性内リンパ水腫動物を用いて、ロイコトリエン拮抗薬であるプラナルカストの水腫形成の抑制効果を検討した。

## C. 研究結果

基礎研究 1 : 血管条では、AQP1 は中間細胞の細胞膜に、AQP2 は基底細胞基底側の細胞膜に、AQP3 と V2R は基底細胞頂側の細胞膜に、また AQP7 および AQP9 は辺縁細胞管腔側に局在することが確認できた。内リンパ囊では AQP2, 3, 4, 7, 8, 9 及び V2-R は内腔上皮に、AQP1 は内リンパ囊の上皮下組織に発現した。AQP6 は血管条、内リンパ囊、前庭感覚細胞に発現したが、細胞膜上には発現を見なかつ

た。なお, vasopressin type2 receptor (V2-R) は血管条では基底細胞に, 内リンパ嚢では上皮細胞に発現した。

基礎研究 2: vasopressin の急性投与群 (60 mU/kg) では血管条に著明な浮腫が認められた。浮腫は中間細胞, 又は細胞間隙に貯留した水によるものと判断された。しかし, 皮下に埋め込んだ浸透圧ミニポンプによる vasopressin の慢性負荷 (1.0 mU/kg/min) では血管条の浮腫は認められなかった。

基礎的研究 3: Gd 群では, 中耳骨胞内にオムニキャストの原液を満たした直後より, EP は速やかに低下し, その後プラトーに達して変化しなかった。しかし, 8 倍希釈したオムニキャストを中耳骨胞に満たした 1/8Gd 群では EP に有意な変化は認められなかった。形態学的には, 血管条の細胞過激の拡大が Gd 群で顕著であったが, 1/8Gd 群では血管条に明確な形態学的変化は認められなかった。

臨床調査 1: 血漿 ADH の日内変動は, 通常, 日中は低く, 夜間に高くなるが, 内リンパ水腫を基礎に持つと考えられるメニエール病, 急性低音性難聴では午後 3 時以降にすでに上昇が認められた。

臨床調査 2: メニエール病では血漿浸透圧, 血漿 ADH 値とも有意に高値を示す。特に, 血漿 ADH は発作期に著明に上昇するが, 血漿浸透圧には有意の変化は認められなかった。

臨床調査 3: メニエール病群とその他のめまい群のめまい発作期の血漿 ADH を対比したが, メニエール病で血漿 ADH は高値であるが, その他のめまい群では血漿 ADH の上昇は認められなかった。血漿 ADH の上昇は, 頭痛, 嘔気, 嘔吐とは関連がなかった。

臨床調査 4: 若年性片側聾 81 例中 17 例 (21%) に DEH の発症が認められた。発症平均年齢は, 19.5 才 (10-50 才) であった。DEH 症例の血漿 ADH 値は高値を示したが, DEH 発症の有無にかかわらず, 血漿 ADH 値は 20 才前後まで異常高値を示した。

臨床調査 5: メニエール病患者群は, 対照群

に比べ, 気晴らし行動が少ない ( $p < 0.01$ ), 我慢行動, 熱中行動が強かった ( $P < 0.01$ )。多国間調査でも我慢行動, 熱中行動が国を問わず強かった。

メニエール病の動物モデルの検討

実験 1: 内リンパ嚢閉塞動物 10 例中の 2 例に自発眼振が観察された。

実験 2: DNP-ascaris を全身感作後, 二回追加免役すると, 24 時間後に内リンパ水腫が形成された。

治療薬に関する基礎研究

実験 1: erythritol 単独投与と pectin 添加投与群間で内リンパ水腫減荷効果を比較した。

Erythritol 単独では瀉下作用が強く, 脱水による血清浸透圧と血漿 ADH の上昇をもたらす。しかし, pectin を添加することにより瀉下作用が抑制され, 血清浸透圧, 血漿 ADH とも上昇は軽度であった。組織学的にも, pectin 添加群では顕著な内耳脱水効果が認められた。一方, erythritol 単独投与群では明確な内耳脱水効果は認められなかった。

実験 2: DNP-ascaris を感作抗原として形成されたアレルギー性内リンパ水腫は, 局所感作と同時にプランルカストを投与すれば水腫の形成は顕著に抑制された。

#### D. 考察

内リンパ水腫形成に AQP が深く関与することは, 内リンパ液の産生, 吸収の主部位と考えられている血管条と内リンパ嚢に, 腎臓と比較しても劣らないほどの多種の AQP が発現することでも推測できる。特に, 血管条, 内リンパ嚢とも AQP2 と V2-R が発現することより, 内耳の水代謝は vasopressin の制御下にあることは間違いない。血管条の水代謝機構は今回の実験でかなり判明してきた。すなわち, 血管条での水代謝は, 血管条に発現する多くの AQPs に加え, ラセン靱帯の 3 型線維芽細胞にも発現する AQP1, 各細胞間を結ぶ gap junction, 辺縁細胞の基底側膜に発現する Na-K-2Cl 共輸送体が一体となっていくこと

が解明された。一方、内リンパ嚢の水代謝機構はまだ手つかずである。今後の検討が待たれる。臨床的には、メニエール病で血漿 ADH が高いので、VP-AQP2 を介して水腫が形成されると考えることは容易である。しかし、メニエール病での血漿 ADH 上昇の機序は未解明である。浸透圧の上昇や頭痛、嘔気、嘔吐が関係ないことは本研究班の調査で分かった。ADH の日内変動が通常とは異なることが、メニエール病での ADH 上昇の機序を解決する 1 つの糸口を与えてくれるかもしれない。

メニエール病の発症にストレスが関与していることは古くからよく言われている。ADH 上昇の一因でもあると考えられるので精力的に調査してきた。メニエール病のストレスは、過労、不眠、精神的過労など外的因子によると考えてきたが、今回の調査を含めて一連のストレス調査で、ストレスに対する対処行動という内的要因に問題があることが判明してきた。

メニエール病の治療薬は isosorbide が有名である。理論的には、現在市販されている薬剤では他に変わる薬がないため、味の点で薬物コンプライアンスが低いにもかかわらず用いられている。Pectin を添加した erythritol は味、内耳脱水効果の点でも極めて優れた特性を有し、将来、メニエール病の治療薬になる可能性は高い。

メニエール病の発症にどの程度アレルギーが関与しているか不明であるが、限られた症例ではロイコトリエン拮抗剤、プランルカストが有効な場合もあるかもしれない。

## E. 結論

内リンパ水腫の形成に VP-AQP2 系の水代謝機構が関与している可能性は高い。ただ、メニエール病に見る ADH 上昇の機序は不明である。メニエール病患者にはストレスに対する対処行動に問題があることが判明した。蓄積したストレスが、血漿 ADH を挙げている可能性は否定できない。

## F. 健康危険情報

内リンパ水腫を MRI で描出するために行う Gd 鼓室内注入は、内耳の VP-AQP2 システムを阻害することにより、何らかの内耳障害を及ぼす可能性がある。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- Kakigi A, Okada T, Takeda T, Taguchi D, Zinchuk V. Endocytosis of cationized feritin in the marginal cells of the stria vascularis. *Acta Histochem Cytochem* 2005; 38: 373-380.
- Fukushima K, Takeda T, Kakigi A, Takeda S, Sawada S, Nishioka R, Azuma H, Taguchi D. Effects of lithium on endolymph homeostasis and experimentally induced endolymphatic hydrops. *ORL* 2005; 67: 282-288.
- Takeda T, Takeda S, Kakigi A. Meniere's disease & Inner Ear Homeostasis Disorders (ed. by David Lim). Hormonal role on the formation of endolymphatic hydrops in Meniere's disease. *House Ear Institute*. 2005. pp45-46.
- Fukushima K, Kakigi A, Sawada S, Takeda T, Takeda S. Meniere's disease & Inner Ear Homeostasis Disorders (ed. by David Lim). The effects of lithium on the expression of aquaporin-2 in the inner ear. *House Ear Institute*. 2005. 167-168.
- Kakigi A, Fukushima K, Takeda T, Takeda S, Sawada S. Meniere's disease & Inner Ear Homeostasis Disorders. Ed by David Lim. The effects of lithium on cochlear fluid volume. *House Ear Institute*. 2005. 165-166.
- Kakigi A, Salt AN, Takeda T. Meniere's disease & Inner Ear Homeostasis Disorders (ed. by David Lim). Effect of artificial endolymph injection into the cochlear duct on perilymph potassium. *House Ear Institute*. 2005. 175-176.

- ・竹田泰三. 遅発性内リンパ水腫. ENTONI 2005; 47: 60-66.
  - ・竹田泰三. メニエール病の病態と治療. 日医雑誌 2005; 134: 1471-1474.
  - ・竹田泰三. 内リンパ水腫における最近の知見. Equilibrium Res 2005; 64:115-122.
  - ・Akinobu Kakigi, Taizo Takeda, Shouichi Sawada, Daizo Taguchi. Antidiuretic hormone and osmolality in isosorbide therapy and glycerol test. ORL 2006; 68: 217-220.
  - ・Takeda T, Takeda S, Kakigi A, Okada T, Nishioka R, Taguchi D. A comparison of dehydration effects of V2-antagonist (OPC-31260) on the inner ear between systemic and round window applications. ORL 2005; 67: 282-288.
  - ・Kakigi A, Nakatani H, Takeda T. Hearing changes in the contralateral ear with juvenile unilateral profound hearing loss of unknown origin. International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology Extra 2006; 1: 192-195.
  - ・Kakigi A, Okada T, Takeda T, Taguchi D, Nishioka R. Endocytosis of microperoxidase in the marginal cells of stria vascularis. Auris Nasus Larynx. 2007; 34: 39-43.
  - ・Taguchi D, Takeda T, Kakigi A, Takumida M, Nishioka R, Kitano H. Expression of aquaporin-2, vasopressin type 2 receptor, transient receptor potential channel vanilloid (TRPV)1, and TRPV4 in the human endolymphatic sac. Laryngoscope 2007; 117: 695-698.
  - ・Kakigi A, Okada T, Takeda T, Taguchi D, Nishioka R. Presence and regulation of epithelial sodium channels in the marginal cells of stria vascularis. Acta Otolaryngol 2008; 128:233-238.
  - ・Taguchi D, Takeda T, Kakigi A, Okada T, Nishioka R, Kitano H. Expression and immunolocalization of Aquaporin-6 (Aqp6) in the rat inner ear. Acta Otolaryngol 2008; (in press).
  - ・Kakigi A, Okada T, Takeda T, Taguchi D, Nishioka R, Nishimura M. Actin filaments and microtubules regulate endocytosis in marginal cells of the stria vascularis. Acta Otolaryngol 2008; (in press)
  - ・Kakigi A, Nishimura M, Takeda T, Okada T, Murata Y, Ogawa Y. Effects of injected gadolinium into the middle ear on the stria vascularis. Acta Otolaryngol 2008; (in press).
  - ・Takeda T, Kakigi A, Nishoka R, Taguchi D, Nishimura M. Plasma antidiuretic hormone in cases with the early onset of profound unilateral deafness. Auris Nasus Larynx. 2008; (in press).
2. 学会発表
- ・Takeda T, Takeda S, Kakigi A. Mini-Symposium 1: Endolymph Regulation and Mechanism of Hydrops :Hormonal Role on the formation of Endolymphatic Hydrops in Meniere's Disease. 5th International Symposium of Meniere's Disease & Inner Ear Homeostasis Disease. Los Angel CA, U.S.A., 2005. April.
  - ・Fukushima K, Kakigi A, Sawada S, Takeda T, Takeda S. The effects of lithium on the expression of aquaporin-2 in the inner ear. 5th International Symposium of Meniere's Disease & Inner Ear Homeostasis Disease. Los Angel CA, U.S.A., 2005. April
  - ・Kakigi A, Fukushima K, Takeda T, Takeda S, Sawada S. The effects of lithium on cochlear fluid volume. 5th International Symposium of Meniere's Disease & Inner Ear Homeostasis Disease. Los Angel CA, U.S.A., 2005. April

- Kakigi A, Salt AN, Takeda T. Effect of artificial endolymph injection into the cochlear duct on perilymph potassium. 5th International Symposium of Meniere's Disease & Inner Ear Homeostasis Disease. Los Angel CA, U.S.A., 2005. April.
- Takeda T. Round Table Treatment of Meniere's Disease (Moderator: Anniko M): Aquaporin-mediated inner ear fluid homeostasis and its role in the formation of endolymphatic hydrops. XVIII World Congress of International Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies. Rome, Italy, 2005, June.
- Takeda T, Kakigi A, Takeda S, Nishioka R, Sawada S, Azuma H, Fukushima K. Effects of lithium on endolymph homeostasis and experimentally-induced endolymphatic hydrops. 42nd Workshop on Inner Ear Biology. Tubingen, Germany, 2005. September.
- Kakigi A, Taguchi D, Takeda T. Vestibular function of experimental endolymphatic hydrops in guinea pig. 42nd Workshop on Inner Ear Biology. Tubingen, Germany, 2005. September
- Takeda T. Symposium 10: Vertigo, recent progress of evaluation (Modulator: J Thomsen). The treatment of Meniere's disease and inner ear homeostasis. 25th Politzer Society Meeting. Seoul, Korea, 2005, October.
- Takeda T, Nishioka R, Kakigi A, Taguchi D. Expression of aquaporin-2, -3, -4, -6 and vasopressin type 2 receptor in the lateral wall of the cochlea. 43rd Inner Ear Biology Workshop. September 18-20, 2006, Montpellier, France.
- Taguchi D, Kakigi A, Takeda T, Nishioka R, Takumida M, Kitano H. Expression of AQP2, vasopressin type 2 receptor, TRPV1 and TRPV4 in the human endolymphatic sac. 43rd Inner Ear Biology Workshop. September 18-20, 2006, Montpellier, France.
- 柿木章伸, 竹田泰三: 若年性片側聾症例の血漿 ADH 値. 第 51 回日本聴覚医学会総会・学術講演会. 山形, 2006. 9.
- 西岡利恵: ラット内耳血管条における水チャンネルの発現. 第 16 回日本耳科学会総会・学術講演会. 青森, 2006. 10.
- 田口大藏: ラット内耳における Aquaporin-6 の発現と局在. 第 16 回日本耳科学会総会・学術講演会. 青森, 2006. 10.
- Kakigi A. Mini-symposium 6-3. Diagnosis and current treatment: The effects of osmotic diuretics on endolymphatic hydrops. 2nd Shanghai International Conference on Physiological Biologics-audition & vision. November 3-7, 2006, Shanghai, China.
- Takeda T. Mini-symposium 6-1. Pathophysiology, diagnosis, and current treatment of Meniere's disease: Aquaporin-mediated Inner Ear Fluid Homeostasis and Meniere's disease. 2nd Shanghai International Conference on Physiological Biologics-audition & vision. November 3-7, 2006, Shanghai, China.
- 柿木章伸: メニエール病の基礎科学と内リンパ水腫 (モーニングセミナー). 第 65 回めまい平衡医学会総会・学術講演会. 東京, 2005. 11.
- 柿木章伸, 田口大藏, 竹田泰三: 内リンパ水腫モルモットの自発眼振. 第 65 回めまい平衡医学会総会・学術講演会. 東京, 2005. 11.
- 田口大藏, 柿木章伸, 竹田泰三, 西岡利恵, 工田昌矢, 北野博也: ヒト内リンパ囊における AQP2, V2-R, TRPV1 および TRPV4 の発現. 第 65 回めまい平衡医学会総会・学術講演会. 東京, 2005. 11.

- ・ 柿木章伸, 田口大蔵, 竹田泰三: メニエール病における血漿浸透圧. 第 69 回耳鼻咽喉科臨床学会学術講演会. 東京, 2007. 7.
  - ・ Takeda T, Nishioka R, Kakigi A, Nishimura M, Okada T, Takeda S and Taguchi D. Expression of Aquaporins and Vasopressin type 2 receptor in the lateral wall of the Cochlea and Inner Ear Fluid homeostasis. 44<sup>th</sup> Inner Ear Biology Workshop. September 17-19, 2007, London, UK.
  - ・ Taguchi D, Takeda T, Kakigi A, Okada T, Nishioka R, Kitano H. Expression and immunolocalization of aquaporin-6 (Aqp6) in the rat inner ear. 44<sup>th</sup> Inner Ear Biology Workshop. September 17-19, 2007, London, UK.
  - ・ 柿木章伸, 西村将彦, 竹田泰三: ガドリニウム造影剤の鼓室内投与における EP の変化 (第 1 報). 第 17 回日本耳科学会総会・学術講演会. 福岡, 2007. 10.
  - ・ 西岡利恵, 竹田泰三, 柿木章伸, 西村将彦: ラット内耳血管条における水チャネルの発現と局在. 第 17 回日本耳科学会総会・学術講演会. 福岡, 2007. 10.
  - ・ 西村将彦, 柿木章伸, 西岡利恵, 竹田泰三: ラットおよびヒト内リンパ囊における AQP サブタイプおよび V2R の発現について. 第 17 回日本耳科学会総会・学術講演会. 福岡, 2007. 10.
  - ・ 竹田泰三: 内リンパ水腫の診断と治療 (ランチョンセミナー). 第 66 回日本めまい平衡医学会総会・学術講演会. 大阪, 2007. 11.
  - ・ 柿木章伸, 西村将彦, 竹田泰三, 土井勝美, 久保 武: OPC-31260 およびブメタニド投与によるモルモット血管条の形態変化について. 第 66 回日本めまい平衡医学会総会・学術講演会. 大阪, 2007. 11.
  - ・ 西村将彦, 土井勝美, 久保 武, 柿木章伸, 竹田泰三: バソプレッシン投与によるモルモット血管条の形態変化について (第 1 報).
- 第 66 回日本めまい平衡医学会総会・学術講演会. 大阪, 2007. 11.
- ・ Kakigi A, Nishimura M, Takeda T, Okada T, Nishioka R. Vasopressin-induced enlargement of the intrastrial space in the stria vascularis. ARO 31<sup>st</sup> Midwinter Meeting February 16-21, 2008, Phoenix, AZ, USA
- 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

**研究要旨** 本研究の目的はメニエール病の病態解明，及びメニエール病の重要な鑑別疾患である外リンパ瘻の確定診断法の確立である。

COCH 遺伝子はめまいを伴う遺伝性難聴（DFNA9）の病因遺伝子である。DFNA9 の臨床症状、所見はメニエール病診断基準と合致しており、メニエール病研究の観点からも近年非常に注目されている。我々は内耳のプロテオーム解析を行なうことで COCH 遺伝子発現を蛋白レベルで解析し、そのアイソフォームを報告してきた。

本研究を大きく下記の I，II に分けて報告する

**I. 基礎研究** DFNA9 の発症メカズム，COCH 遺伝子発現の分子生物学的研究

1. DFNA9 患者組織を用いて DFNA9 発症メカニズムの解明を行ない、内耳に蓄積した異常蛋白が変異 Cochlin であることを世界で初めて証明した。
2. 内耳発達過程における COCH 遺伝子の発現を蛋白レベルから明らかにした。
3. COCH 遺伝子の発現調節の研究を行い、スプライシングバリエーションの存在を明らかにした。

**II. 臨床研究** 内耳特異的蛋白 CTP (cochlin-tomoprotein) をめまい・難聴診断のバイオマーカーとする新たな診断技術の開発

1. CTP の外リンパ発現特異性を利用し、厳密な検査の精度管理システムを構築することで外リンパ瘻確定診断法（CTP 検出法）を開発した。
2. CTP 検出法を用いた臨床例の検討から、外傷性外リンパ瘻が、慢性・遅発性に経過した場合の臨床像を明らかにし、治療的手術のみならず内耳障害の発症を予測し予防する治療法が、本検査によって可能となった。
3. CTP 検出法を用いた臨床例の検討から、特発性外リンパ瘻が、メニエール病、めまいを伴う突発性難聴と誤診されていることを示した。
4. 国際的評価に耐えるべく、STARD statement に沿って CTP 検出法の外リンパ瘻診断精度を評価した。今後 CTP 検出法が内耳疾患の診断・治療に果たす役割が大きいことが示された。

メニエール病、遅発性内リンパ水腫を特異的に診断する診断法はこれまで開発されていない。これらの疾患が除外診断であることに常に留意する必要がある。本研究により、メニエール病の診断・治療に関わる重要な新知見が得られた。

**A. 研究目的**

本研究の目的はメニエール病の病態解明，ならびにメニエール病の重要な鑑別疾患である外リンパ瘻の確定診断法の確立である。

COCH 遺伝子はめまいをきたす遺伝性難聴（DFNA9）の病因遺伝子である。DFNA9 の臨床症状、検査所見は診断基準上メニエール病と診断されることから近年注目されている遺

伝子疾患である。我々は内耳のプロテオーム解析を行なうことで COCH 遺伝子発現を蛋白レベルで解析し、そのアイソフォームを報告してきた。

**I. 基礎研究**

1. DFNA9 患者組織を用いて、本疾患の発症メカニズムに迫る。
2. 内耳発達過程における COCH 遺伝子の発

現を蛋白レベルから検討する。

3. 遺伝子レベルでのバリエーション解析により COCH 遺伝子の本態に迫る。

## II. 臨床研究

1. CTP 検出法による外リンパ瘻の臨床診断法を確立させ、メニエール病、遅発性内リンパ水腫の鑑別診断のエビデンス構築に寄与する

2. CTP 検出法を用いて、外傷性外リンパ瘻の臨床像を明らかにし、メニエール病、遅発性内リンパ水腫の鑑別診断のエビデンス構築に寄与する。

3. 特発性外リンパ瘻の臨床像を明らかにし、メニエール病、めまいを伴う突発性難聴の鑑別診断のエビデンス構築に寄与する。

4. CTP 検出法による外リンパ瘻の確定診断法が今後国際的評価に耐えられるよう STARD statement に沿って CTP 検出法の外リンパ瘻診断精度を評価した。

## B. 研究方法

### I. 基礎研究

#### 1. DFNA9 発症メカニズムの検討

DFNA9 発症メカニズムを解明するため、ハーバード大学ロバートソン医師と共同研究を企画した。P51S 変異をもつ DFNA9 患者内耳組織を用いて免疫組織学的検討、ならびにプロテオーム解析を行った。

2. 内耳発達過程における COCH 遺伝子の発現 (蛋白レベルの検討)

2-i. 発達過程における内耳組織のコクリンアイソフォーム変化

COCH 遺伝子の蛋白産物である Cochlin の発育過程における発現を検討した。4つのアイソフォームの内、p63, p44, p40 を認識する抗 vWF-A1 抗体を使用した。

免疫染色には Wistar 系ラット 生後 6 日目、16 日目、成獣、ウェスタンブロットには Wistar 系ラット 生後 6 日目、13 日目、17 日目、20 日目、24 日目を使用して検討した。

2-ii. 発達過程における外リンパのコクリンアイソフォーム変化

生後 12 日目 (n=4), 生後 19 日目 (n=4), 生後 28 日目 (n=2), 生後 35 日目 (n=2), 生後 70 日目 (n=4) のラットを深麻酔ののち断頭後、すみやかに外リンパを採取した。採取した外リンパをウェスタンブロットで検討した。抗体は p63 と CTP を認識する抗 LCCL 抗体を使用した。

3. COCH 遺伝子スプライシングバリエーションの検討

Wistar 系ラット 10 匹より内耳組織を摘出し、ラットの既知配列(XM\_343058.3) から作成したプライマーを用いて 5'RACE, 3'RACE を行なった。RACE の産物をクローニングし、シーケンスを行なった。

## II. 臨床研究

### 1. CTP 検出法の精度管理

#### A 検査条件の設定

B. 標準品蛋白 (標品) としてのリコンビナント CTP 蛋白の作製

C. 検体検出限界の測定および再現性の検討

D. 臨床例における検討

### 2. 外傷性外リンパ瘻の診断・治療

めまいを主訴とした、感音成分の増悪の無いアブミ骨外傷性外リンパ瘻 2 症例の検討を行ない、「予防的手術」という新たな治療概念の適応について考察を加えた。

### 3. 特発性外リンパ瘻の診断・治療

過去 3 年間に特発性外リンパ瘻を疑われて CTP 検査を施行した 70 症例 100 検体のうち、当科を受診し CTP 陽性であった 8 症例を検討した。

### 4. STARD に則った CTP 検出法の評価

・Definite PLF: 外リンパ漏出が明らかに存在する PLF 確定例として、アブミ骨手術の底板開窓、人工内耳埋込術の蝸牛開窓を (外科的) 外リンパ瘻確定例と定義した。

・Non-PLF: PLF の可能性が極めてゼロに近い症例 として、アブミ骨手術の底板開窓直前、

人工内耳埋込術の蝸牛開窓直前, 伝音難聴の伝音再建術の中耳洗浄液を対象とした。

## C. 研究結果

### I. 基礎研究

#### 1. DFNA9 発症メカニズムの検討

DFNA9 患者内耳の Cochlin 抗体による免疫染色部位は, 同年齢の正常ヒト内耳の Cochlin 発現部位, すなわち異常好酸性物質の沈着部位と非常に似通っていた。特に強く染色されたのは spiral ligament, spiral limbus, stroma of the crista ampullaris, the ampullary wall であった。DFNA9 患者の切片の蛋白解析 (プロテオーム解析 (mass spectrometry 使用)) でも Cochlin が多量に検出された。

#### 2. 内耳発達過程における COCH 遺伝子の発現 (蛋白レベルの検討)

##### 2-i. 発達過程における内耳組織のコクリンアイソフォーム変化

Cochlin は蝸牛ではラセン靱帯やラセン板縁, 神経線維周囲の結合組織に, 前庭では Stroma や感覚細胞下の結合組織に発現を認めた。一方, 蝸牛のコルチ器や血管条, ラセン神経節は染色されず, 同様に前庭の感覚細胞や暗細胞は染色されなかった。また蝸牛, 前庭ともラットの成長につれて, Cochlin の染色性が増強する傾向がみられた。また染色部位を細かくみると, Cochlin が細胞外マトリックスとして存在していることが明らかとなった。ウェスタンブロットでは生後 6 日目ではほとんど Cochlin の発現は認められなかったが, 成長するにつれて Cochlin の発現が増強することが明らかとなった。

##### 2-ii. 発達過程における外リンパのコクリンアイソフォーム変化

Cochlin の 4 つのアイソフォームの内, p63s と CTP の発現が認められた。次に生後発達過程におけるアイソフォームの発現パターンについてみると, p63s は生後 12 日目に強く発現を認めたがその後徐々に減少した。一方,

CTP は生後 12 日目には認められなかったが, その後発現が増加した。

#### 3. COCH 遺伝子スプライシングバリエントの検討

5'RACE 産物の配列を解析した結果, 転写開始部位は Human や Mouse の Signal 配列の約 50base 上流, 3'RACE では転写開始点から約 700base, 約 2000base, 約 2440base 下流の 3 種であった。

## II. 臨床研究

### 1. CTP 検出法の精度管理

CTP 検出法の様々な条件設定をした結果, リコンビナント CTP 標品の検出下限 (a) と, その 1/2 量 (b) を毎回サンプルとともに泳動し, (a) が陽性でかつ (b) が陰性であった検査を採択し, その条件を満たさない場合は再検査とすることで, 検査の精度管理が可能になった。

### 2. 外傷性外リンパ瘻の診断・治療

症例 1 は, CT 正常で聴力検査も伝音難聴のみであったが, CTP 検出法により外リンパ瘻と診断された。症例 2 は受傷 1 ヶ月経過して初診し迷路気腫, アブミ陥入があるにも関わらず, 感音成分の増悪の無かった症例である。この症例も CTP 検出法により外リンパ瘻と診断された。いずれの症例も瘻孔閉鎖術後めまい, 難聴ともに改善した。

### 3. 特発性外リンパ瘻の診断・治療

病歴として圧外傷の既往があった症例は 6 例であった。既往が無かった 2 症例は圧迫眼振陽性であった。めまいを自覚していた症例が 6 例, 眼振を認めた症例は 6 例であった。また病歴, 検査所見から突発性難聴と診断されていた症例が 6 例, メニエール病と診断されていた症例が 2 例であった。変動, 進行する難聴を認めていた症例が 6 例であった。

4. STARD に則った CTP 検出法の評価  
感度 =91.5% (95%CI, 83.5 – 99.5%)  
特異度 =98.2% (95%CI, 96.4 – 100.0%)  
陽性尤度比=50.2  
であった。

#### D. 考察

我々は 1998 年より、内耳に発現する遺伝子を蛋白レベルで解析するためウシ内耳を用いたプロテオーム解析を開始した。発現蛋白の種類、量は各臓器に特異的なパターンを呈する事が知られている。我々は内耳蛋白の中でも特に Cochlin に着目しそのアイソフォーム、p 63, p 44, p 40 を同定、遺伝子発現の多様性を明らかにした。

#### I. 基礎研究

##### 1. DFNA9 発症メカニズムについて

DFNA9 はヒト病理所見、原因遺伝子、臨床所見、蛋白解析がそろって報告されている数少ない遺伝性難聴である。临床上、30~40 代から発症する感音難聴で、徐々に進行し高度感音難聴になる。前庭障害は蝸牛同様、緩徐に進行するため、めまいの特徴は回転性、浮動性めまいを呈し、メニエール病診断基準に合致する症例も存在する。中枢神経疾患では、Alzheimer disease の beta-amyloid precursor protein, Huntington disease の huntingtin, Parkinsons disease の alfa-synuclein など異常蛋白の広範囲な蓄積がみられる。内耳疾患でこのような病理所見は DFNA9 のみで見られる。DFNA9 の家系に対して、分子遺伝学的研究を行い、Positional cloning で候補遺伝子を検索し、変異が見つかったため、COCH が原因遺伝子として同定された。DFNA9 患者の側頭骨を用いた本研究は、分子生物学的、分子遺伝学的研究から得られた成果を、患者組織を用いた蛋白レベルからのアプローチで別角度から証明した貴重な報告である。我々の研究で、好酸性物質は変異した Cochlin そのものであったことが証明された。つまり DFNA9 では、

Alzheimer disease の様に変異蛋白の異常蓄積によって正常機能が徐々に失われていく、dominant negative effect によって難聴、めまいが引き起こされることが示された。

##### 2. 内耳発達過程における COCH 遺伝子の発現 (蛋白レベルの検討)

###### 2-i. 発生過程における内耳組織のコクリンアイソフォーム変化

ラット内耳免疫染色の結果から、発現部位はカリウムイオンサイクルなどに密接に関連しているとされているラセン板縁、ラセン靭帯に発現を認めることが明らかとなった。また成獣レベルに到達する発現時期についても、connexin26 の生後 12 日目や、Na-K ATPase の生後 11 から 14 日目に比べるとやや遅いものの、生後 13 日から 17 日にかけて増加して生後 24 日目に成獣レベルに到達する。発現の部位と発現の時期とを合わせて考えると、内耳の成熟に関係している蛋白である可能性が示唆された。

###### 2-ii. 発達過程における外リンパのコクリンアイソフォーム変化

CTP は内耳が未熟なラットの生後 12 日目の外リンパには発現していないこと、成熟が急速に進んでくる生後 19 日目を以降に発現を認めることが明らかになった。この結果から CTP は内耳の成熟に必要な蛋白である可能性が示唆された。モチーフ解析の点から見ると、CTP の大部分をしめる LCCLmodule は免疫系への関与が提唱されており、内耳免疫の成熟に CTP が関わっている可能性が示された。

##### 3. COCH 遺伝子スプライシングバリエーションについて

COCH 遺伝子から転写された mRNA は全長 cochlin を含み、3'UTR の異なる 2 種と、700base と短く全長 cochlin と 3'末端の異なる 1 種類があることが分かった。これらの mRNA