

から翻訳された蛋白質は前 2 種は同一であるが、700base の短い配列は CTP をコードする新たな mRNA と考えられる。現時点ではこの mRNA は内耳組織でしか検出されておらず、CTP が外リンパ特異的に存在するメカニズムの解明の大きな手がかりになると考えられる。

II. 臨床研究

1. CTP 検出法の精度管理

外リンパ瘻の診断マーカーについては β 2-トランスフェリンや β トレースプロテイン、GM1, AP30, 蛍光物質髄注などの報告があるが、いずれもアブミ骨手術中に採取した外リンパでさえ陽性率はいずれも 0~29% と非常に低く、臨床応用に至っていない。我々は CTP に着目し、今まで外リンパ瘻の診断マーカーとしての可能性を報告してきた。そして検査法を改良し症例数を増やすことで、実際に臨床応用可能な感度、特異度、再現性を実現し得たと考えている。また非特異的の少ない抗体の作成を計画するなど、検査法の改良を追求し、更なる検査の精度管理を進めていく予定である。

2. 外傷性外リンパ瘻の診断・治療

今まで外傷性外リンパ瘻の手術は、主に内耳障害（前庭、蝸牛障害）に対する治療的手術であった。しかし慢性・遅発性外リンパ瘻のように徐々に難聴が増悪するケースでは、難聴が増悪する前に治療する、予防的手術の必要性がある。今回報告した 2 症例のように、明らかな内耳障害のない状態でも外リンパ瘻と術前から診断できる CTP 検出法は予防的手術の適応を決める上で極めて重要な検査法となりうると考えられた。

3. 特発性外リンパ瘻の診断・治療

外リンパ瘻の病歴、症状、検査所見は突発性難聴、メニエール病と類似する点が多く見られる。8 症例とも突然の難聴で発症した症例やめまいと難聴を繰り返す症例であったが、圧外傷の既往がある症例が多く、詳細な問診が重要で

ある。また圧迫眼振陽性の症例が 2 例あり、重要な検査所見と考えられた。

術後聴力改善に関しては、発症から手術までの期間が長いほうが聴力改善は不良といわれている。しかし発症から手術まで期間が長くても聴力が改善した症例もあり、経過が長くとも聴力改善の可能性があることが示された。

メニエール病や遅発性内リンパ水腫を特異的に診断する方法は未だ見いだされていない。特異的診断法が確立していない現状では、器質的疾患、原因既知の疾患が含まれていないか十分鑑別する必要がある。特発性外リンパ瘻、なかでも慢性外リンパ瘻はメニエール病や遅発性内リンパ水腫に臨床経過、検査所見が類似しており、なおかつ的確な診断と内耳窓閉鎖術、瘻孔閉鎖術などで著明な治療効果が望める疾患であることが示された。

4. STARD に則った CTP 検出法の評価

外リンパ瘻のように診断技術が確立していない疾患においては、CTP 検査の診断精度を評価することは容易ではない。比較対象となる golden standard が無いからである。そこで、我々は一般耳鼻咽喉科臨床の定義とは異なるが、「診断精度の評価」という特殊な目的のために definite PLF を定義した。すなわち definite PLF は目視で外リンパ漏出が明らかな外科的外リンパ瘻であるアブミ骨手術と人工内耳の内耳窓開窓術である。non-PLF は外リンパ瘻である可能性が限りなくゼロに近い症例として、外リンパ瘻を思わせる聴力変動、平衡機能障害を一切訴えないアブミ骨手術症例、人工内耳手術症例の開窓直前の中耳洗浄液、伝音難聴の伝音再建手術症例の中耳洗浄液と定義した。

その結果得られた診断精度は感度 91.5%、特異度 98.2% であり、非常に良好な結果であった。

E. 結論

めまいを伴う遺伝性難聴（非症候性優性遺伝

性難聴 DFNA9) の病因遺伝子, COCH 遺伝子に関する臨床的, 分子生物学的・基礎的研究を進めた. 本研究成果は, メニエール病や遅発性内リンパ水腫の臨床の現場で実際に役立つことが期待される.

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- ・ Li L, Ikezono T, Watanabe A, Shindo S, Pawankar R, Yagi T: Expression of full-length Cochlin p63s is inner ear specific. *Auris Nasus Larynx*. 32(3): 219-23, 2005.
- ・ Ikezono T, Shindo S, Ishizaki M, Li L, Tomiyama S, Takumida M, Pawankar R, Watanabe A, Saito A, Yagi T: Expression of cochlin in the vestibular organ of rats. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*. 67(5): 252-8, 2005.
- ・ Robertson NG, Cremers CW, Huygen PL, Ikezono T, Krastins B, Kremer H, Kuo SF, Liberman MC, Merchant SN, Miller CE, Nadol JB, Jr., Sarracino DA, Verhagen WI, Morton CC.: Cochlin immunostaining of inner ear pathologic deposits and proteomic analysis in DFNA9 deafness and vestibular dysfunction. *Hum Mol Genet*, 2006.
- ・ 池園哲郎: 外リンパろうの診断マーカーとしての Cochlin-Tomoprotein(CTP). *臨床検査* 49(11): 1259-1263, 2005.
- ・ 池園哲郎: 「末梢前庭器から前庭神経核へ-最近の知見-」 1.COCH 遺伝子とめまい. *Equilib Res* 64 (1) :1-11, 2005.
- ・ 池園哲郎: 聴力改善手術 7.外リンパろう. *耳鼻咽喉科・頭頸部外科* 77, No.(5): 162-173, 2005.
- ・ 池園哲郎 メニエール病と外リンパ瘻 内耳窓閉鎖術で改善する慢性外リンパ瘻を見

逃さないために めまい診療のコツと落とし穴 p30-31 中山書店 2005.5.30 発行

- ・ 池園哲郎 良性発作性頭位めまい症 診療アップデート p132-135 日経メディカル編 日経BP社 2005.11.14 発行
 - ・ 池園哲郎: Dejerine syndrome (延髄傍正中部 syndrome) . *耳鼻咽喉科・頭頸部外科*, 78(5): 90-91, 2006.
 - ・ 池園哲郎: 耳鼻咽喉科救急医療マニュアル 救急疾患の診断と治療 外リンパ瘻. *JOHNS*, 22(3): 345-350, 2006.
 - ・ 池園哲郎: トピックス「COCH 遺伝子と cochlin 蛋白—外リンパ瘻の診断における有用性」日本耳鼻咽喉科学会専門医通信第90号 p14-15. 2007.2
 - ・ 池園哲郎: 外リンパ瘻 今日の耳鼻咽喉科・頭頸部外科治療指針第3版 医学書院 2008.3
 - ・ 池園哲郎: 外リンパ瘻 今日の治療指針 2008年度 p1096-97. 医学書院 2008.1
 - ・ 池園哲郎: 外リンパ瘻 日本学術会議 感覚器医学研究連絡委員会 感覚器医学ロードマップ 感覚器障害の克服と支援を目指す10年間 (分担執筆)
 - ・ Mizuta K, Ikezono T, Iwasaki S, Araia M, Hashimoto Y, Pawankar R, Watanabe T, Shindob S, Mineta H. Ultrastructural co-localization of cochlin and type II collagen in the rat semicircular canal *Neuroscience Letters* (Accepted)
- ### 2. 学会発表
- ・ Ikezono T : Round table discussion "Treatment of Meniere's Disease" The importance of differential diagnosis of Meniere's disease, especially versus PLF. The 18th World Congress of the International Federation of Otorhinolaryngological Societies (IFOS) (2005.6.25-6.30, Rome, Italy)
 - ・ Ikezono T : Inner Ear Proteomics and its Application as a Novel diagnostic test for

- PLF -Impact on the treatment of inner ear diseases. Nippon Medical School-Soul National University Joint Meeting (2005.6.4, Tokyo, Japan)
- ・ Ikezono T, Shindo S, Ishizaki M, Li L, Tomiyama S, Takumida M, Pawankar R, Watanabe , Saito A, Yagi T: Expression of cochlin in the vestibular organ of rats. The 11th Japan-Korea joint meeting of Otorhinolaryngology-Head and neck surgery (Busan, Korea), 2006.4.
 - ・ Ikezono T, Shindo S, Sekiguchi S, Li L, Pawankar R , Yagi T : A Novel Perilymph-Specific Protein for PLF Diagnosis. The American Academy of Otolaryngology—Head and Neck Surgery Annual Meeting .2007.09
 - ・ Shindo S , Ikezono T , Yagi T : Isoform-Specific Analysis of Cochlin in the Developing Rat. The American Academy of Otolaryngology—Head and Neck Surgery Annual Meeting .2007.09
 - ・ 池園哲郎 新藤晋 李麗淑 相田瑞恵 杉崎一樹 後藤裕一 馬場俊吉 八木聰明 : 頭部外傷と内耳障害. 第 106 回日本耳鼻咽喉科学会総会 (2005.5.19-21. 大阪)
 - ・ 池園 哲郎, 新藤 晋, 李 麗淑, 松田 帆, 小泉 康雄, 齋藤 明彦, 馬場 俊吉, 八木 聰明. 本当にメニエール病か 慢性外リンパ瘻との鑑別診断. 第2回東京メニエール病カンファレンス (2005.6.11,東京)
 - ・ 池園哲郎, 新藤晋, 李麗淑, 関根久遠, 八木聰明: CTP 検出法を臨床検査として確立するためのクオリティーコントロール. 第63回日本平衡神経科学会総会 (2005.11.24-11.25, 東京)
 - ・ 新藤晋, 池園哲郎, 李麗淑, 八木聰明: 発生過程における Cochlin 発現の検討-ウェスタンブロッティングを用いて-. 第 63 回日本平衡神経科学会総会(2005.11.24-11.25, 東京)
 - ・ 加藤政利, 野原秀明, 緒方たつ子, 斉藤公一, 本間博, 新藤晋, 池園哲郎, 八木聰明: エア-カロリックテストの検討. 日本医科大学医学会 (2005. 東京)
 - ・ 池園哲郎: 臨床セミナー 外リンパ瘻. 第 107 回日本耳鼻咽喉科学会. 2006.5.
 - ・ 池園哲郎, 新藤 晋, 李 麗淑, 関根久遠, 斉藤明彦, 八木 聰明: 前庭における Cochlin 発現. 第 65 回めまい平衡医学会. 2006.11.
 - ・ 関根久遠, 池園哲郎, 李麗淑, 新藤 晋, 八木聰明: Cochlin mRNA の解析. 第 65 回めまい平衡医学会. 2006.11.
 - ・ 池園哲郎, 新藤晋, 相田瑞恵, 李麗淑, 関根久遠, 稲井俊太, 八木聰明: アブミ骨奇形に伴う小児の変動性難聴. 第 16 回日本耳科学会. 2006.10.
 - ・ 新藤晋, 池園哲郎, 稲井俊太, 八木聰明: 迷路気腫を伴った術後性外リンパ瘻の一例. 第 16 回日本耳科学会. 2006.10.
 - ・ 荒井真木, 水田邦博, 池園哲郎, 橋本泰幸, 岩崎聡, 渡邊高弘, 峯田周幸: Cochlin と Collagen type II のラット半規管での局在. 第 16 回日本耳科学会. 2006.10.
 - ・ 関根久遠, 池園哲郎, 松田 帆, 中澤裕子, 新藤 晋, 李 麗淑, 小泉康雄, 齋藤明彦, 馬場俊吉, 八木聰明: 内リンパ水腫疾患と診断されていた慢性外リンパ瘻の 2 症例. 第 6 回耳鳴りと難聴の研究会. 2006.07.
 - ・ 池園哲郎, 新藤 晋, 李 麗淑, 関根久遠, 小泉康雄, 齋藤明彦, 小津千佳, 杉崎一樹, 中村 毅, 椎葉恭子, 中澤裕子, 八木聰明: 中耳真珠腫による内耳瘻孔深達度の新しい診断法. 第 108 回日本耳鼻咽喉科学会総会学術講演会. 2007.04.
 - ・ 長谷川 純, 池園哲郎, 新藤 晋, 八木聰明 : 末梢性顔面神経麻痺の血清抗体価による分類についての検討. 第 17 回日本耳科学会総会. 2007.10.
 - ・ 杉崎一樹, 池園哲郎, 新藤 晋, 稲井 俊太, 渡辺 淳, 八木聰明 : 耳硬化症の 3 姉妹. 第 17 回日本耳科学会総会. 2007.10.

- ・新藤 晋, 池園哲郎, 関根久遠, 李麗淑, なし
八木聰明: 感音成分憎悪のないアブミ骨外傷による外リンパ瘻確実例. 第17回日本耳科学会総会. 2007.10.
- ・池園哲郎: 教育講演 外リンパ液・脳脊髄液の漏出によるめまい. 第66回日本めまい平衡医学会総会 2007.11

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

特許出願

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

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

特許出願

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

研究要旨 めまい・平衡障害、難聴などは内耳の感覚細胞の障害に起因することが多い。しかし内耳の感覚細胞は一度障害を受けると回復困難とされている。一方、メニエール病などを含めた内耳障害の治療が困難な理由に、内耳への薬物投与の困難性が挙げられる。内耳障害に対する有効な薬物はこれまでいくつか報告されているが、実際の臨床にほとんど応用されていなかった。この最大の理由は、有効な薬物を内耳に到達させることが困難であることが挙げられる。我々はこれまで動物を使い、内耳へ直接薬物を投与する方法を報告してきた。今回は内耳保護薬物の中でインスリン様細胞成長因子（IGF-1）を生体吸収性徐放ゲルを担体として障害内耳に投与する研究を行い、その有効性が確認されたので、ヒトを対象とした臨床試験を開始した。そのプロトコールも紹介する。

A. 研究目的

めまい・平衡障害、難聴などは内耳の感覚細胞の障害に起因することが多い。しかし、内耳感覚細胞は一度障害を受けると回復困難で、そのため内耳障害に起因する難聴、めまい・平衡障害は治療が困難である。現在はこれらの急性期の病態に副腎皮質ステロイドの大量投与で多少の回復を認めるのみである。しかし、動物を使用した研究、特に内耳の感覚細胞などを培養系で研究した結果では内耳の感覚細胞を保護、障害を回復させる物質はいくつか報告されている。問題は内耳への投与方法である。In vivo の系では全身投与する場合は内耳に作用させるためには大量頻回投与しか方法が無い。また、臨床応用を考えた場合、副作用の問題がある。理想的には必要な物質を必要な部位に、必要な量だけ、適切な期間投与することである。われわれはこれまで徐放性のハイドロゲルに内耳保護作用のある薬物を組み込み、内耳に薬物が投与できるかを研究してきた。今回は実際内耳保護効果があると考えられる薬物をこの徐放性ハイドロゲルに組み込み、内耳障害動物モデルに投与し、内耳障害が軽減されるかを検討した。動物実験において内耳への薬物局所投与が有効であるとの結果を受け、ヒトに対し、急性高度難聴の際、内耳への薬物局所投与の臨

床応用を開始した。

B. 研究方法

これまで in vitro の系で内耳保護作用があると報告されている薬物として、IGF-1 (insulin like growth factor)を障害を与えた動物の内耳に投与した。内耳に障害を与え、難聴を引き起こしたモルモットに IGF を組み込んだ徐放性ハイドロゲルを正円窓に留置した。その後内耳を摘出し、内耳の有毛細胞の障害の、またラセン神経節細胞の障害を検討した。機能的には電気刺激聴性脳幹反応（EABR: electrically stimulated auditory brain stem response）を測定した。以上の研究は京都大学動物実験倫理委員会の規定に従って行った。ついで急性高度難聴者に対する臨床応用のプロトコールを作成した。

C. 研究結果

IGF-1 を投与した動物の内耳ラセン神経節細胞の障害はコントロールに比べ有意に減少した。また、機能的には IGF-1 を投与した動物の聴力閾値の上昇を有意に抑えることができた。

臨床応用に向けて作成した急性高度難聴に対するプロトコールは図1のごとくである。

急性高度難聴の診断
突発性難聴の確実例または疑い例（1973年厚生省特定疾患突発性難聴調査研究班が定めた突発性難聴診断基準に基づき判定）

↓
ステロイド治療（プレドニゾロンの経口投与）

↓
ステロイド治療の効果判定

↓
患者選択（主な適格標準）

- 1) 誘発耳音響放射検査にて蝸牛有毛細胞障害が示されている
- 2) ステロイド治療の開始日から1週間以上後の有効性判定において、不変と判定されている
- 3) 急性高度難聴の発症後30日未満である
- 4) 同意取得時において、年齢が20歳以上である

↓
インフォームド・コンセント

↓
登録

↓
プロトコル治療（登録後4日以内）

- 1) IGF-1含有ゼラチンハイドロゲルの調製（手術1時間前）
- 2) 手術（IGF-1として300 μ g中耳の正円窓窩へ局所投与）
- 3) 患側耳を上とした側臥位に30分安静

↓
効果判定（術後12週目）

↓
経過観察（術後24週目まで）

図 1

D. 考察

内耳の感覚細胞などを保護する薬物はいくつか報告されているが、内耳へ効果的にこれらを投与する方法は皆無であった。今回使用した方法は動物実験の段階では内耳に薬物を効果的に投与し、しかも全身的な副作用は認められなかった。これにより内耳の有効に薬物を投与する方法が開発されたと考えられる。

E. 結論

内耳には特殊な解剖学的構造があり、内耳保護に効果のある薬物があってもそれが内耳に到達しないことが問題である。今回使用した徐放性ハイドロゲルを用いたIGF-1投与方法は内耳に薬物を効果的に投与する新しい方法である。本法を利用すればこれまで回復困難とされていた内耳障害に対し、効果的な治療方法になりうる可能性がある。

F. 健康危険情報

特記すべき問題点なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- ・ Nakagawa T, Ito J. Cell therapy for inner ear diseases. *Curr Pharm Des* 2005;11:1203-1207.
- ・ Endo T, Nakagawa T, Kita T, Iguchi F, Kim TS, Tamura T, Iwai K, Tabata Y, Ito J. A novel strategy for treatment of inner ears using a biodegradable gel. *Laryngoscope* 2005;115:2016-2020.
- ・ Tamura T, Kita T, Nakagawa T, Endo T, Kim TS, Ishihara T, Mizushima Y, Higaki M, Ito J. Drug delivery to the cochlea using PLGA nanoparticles. *Laryngoscope* 2005;115:2000-2005.
- ・ Iwai K, Nakagawa T, Endo T, Matsuoka Y, Kita T, Kim TS, Tabata Y, Ito J. Cochlear protection by local IGF-1 application using biodegradable hydrogel. *Laryngoscope* 2006;116:526-533.
- ・ Okano T, Nakagawa T, Kita T, Endo T, Ito J. Cell-gene delivery of brain-derived neurotrophic factor to the mouse inner ear. *Mol Ther* 14 2006;866-871.
- ・ Sekiya T, Holley MC, Kojima K, Matsumoto M, Helyer R, Ito J. Transplantation of conditionally immortal auditory neuroblasts to the auditory nerve. *Eur J Neurosci* 2007;25:2307-2318.
- ・ Sharif S, Nakagawa T, Ohno T, Matsumoto M, Kita T, Riazuddin S, Ito J. The potential use of bone marrow stromal cells for cochlear cell therapy. *Neuroreport*. 2007;18:351-354.
- ・ Sekiya T, Kojima K, Matsumoto M, Holley MC, Ito J. Rebuilding lost hearing using cell transplantation. *Neurosurgery* 2007;60:417-433

2. 学会発表

- ・ Ito J. A novel method for treatment of inner ear using new drug delivery system. CORLAS Meeting Moscow, Aug.28, 2006
- ・ Ito J. Treatment of inner ear diseases using new drug delivery system COSM Meeting, San Diego (USA), April 27, 2007
- ・ A strategy for treatment of inner ear diseases using new drug delivery system. The 9th Us-Japan Symposium on Drug Delivery System, Maui (USA), Dec. 16, 2007

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 1. メニエール病と診断された 49 例と対照 100 例について検討した。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。POMS スコアによるメニエール病患者のストレスの程度と自覚症状とを比較した。HSP70 遺伝子のプロモーター領域の SNP はメニエール病に深く関与すると考えられた。自覚的視性垂直位検査 (Subjective Visual Vertical, SVV) 検査を内耳性疾患に施行した。SVV の値が 2.0 度以上を呈した症例は 187 例であった。その内メニエール病 13 例であった。メニエール病では健側向き眼振 (麻痺性眼振) 時の SVV の偏位方向は患側向きが多く、患側向き眼振 (刺激性眼振) 時の SVV は健側向きに偏位する傾向があった。メニエール病症例の SVV の偏位方向は、眼振と同様に患側耳の刺激状態、麻痺状態の指標となることが示唆された。

2. 感音難聴に伴う難治性両側性前庭障害 2 例に詳しい神経耳科的検査を行い、治療効果を評価した。いずれも内耳自己抗体が陽性で内耳自己免疫病が疑われた。また、高度の平衡障害と特徴的な異常眼球運動を呈した。両側進行性感音難聴を伴い、一側に人工内耳埋め込みを受けている。第 1 例は鼓室内ステロイド注入のみに反応したが、プレドニン、CPA、MTX の併用療法や内リンパ嚢高濃度ステロイド挿入は無効で、今後内耳破壊を予定している。症例によっては、ステロイドの局所投与が難治性めまい例の治療となる可能性が考えられた。また、リドカインを鼓室内に投与すると眼振は出現せず、めまい感もまったくなかった。しかし、冷水による温度刺激により明らかな温度眼振が解発された。温度眼振の解発機序が、感覚細胞レベルだけでなく前庭一次ニューロンである可能性を示唆すると考えた。第 2 例は、プレドニン、CPA の併用に反応し、異常眼球運動と平衡障害は改善し、社会復帰している。今後これらの症例をさらに経時的に追跡調査していくことが難治性前庭疾患の病態解明と治療の確立につながるものと考えられる。

3. 難治性の良性発作性頭位めまい症 (BPPV) の病態について実験した。摘出後半規管に振子様用回転を加え、後半規管神経活動電位を記録した。半規管内に耳石塊を挿入し、半規管結石症とクプラ結石症モデルを作成した。両モデルにおいて回転刺激に対する電位は抑制されたが、クプラ結石症において抑制の程度は著明であった。また、抑制度は半規管内の耳石塊の大きさに比例し、これに伴い難治性となるものと考えられた。難治性 BPPV には半規管遮断術が施行される。半規管遮断術が無効であった症例につき、そのメカニズムを動物実験により検索した。動物実験において、内耳への GM 注入や外リンパ嚢作成後にクプラが収縮するなどの変化が認められた。クプラの収縮が外側半規管遮断無効、温度眼振無反応などの機序と結論した。

A. 研究目的

1) メニエール病において 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。メニエール病の診断に自覚的視性垂直位検査 (Subjective Visual Vertical, SVV) 検査を用い、診断と病期の判定に有用であるかを検

討する。

2) 感音難聴に伴う難治性両側前庭障害例に詳しい神経耳科的検査と免疫学的検査を行い、病態を解明するとともに治療効果を評価する。

3) 良性発作性頭位めまい症 (BPPV) における半規管機能とクプラの形態を検索し、難治性

となる病態生理を明らかにする。

B. 研究方法

1) メニエール病と診断された 49 例と対照 100 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。POMS スコアによるメニエール病患者のストレスの程度と自覚症状とを比較した。同時に HSPA1A 遺伝子の SNP 解析を行った。

SVV の測定は暗所座位で行った。被検者は眼前に設置したバーを任意の角度傾いた位置からジョイパッドを操作し、垂直と感じる位置にあわせた。10 回くり返して行い、その平均値を測定値とした。当科では時計回り方向への偏位を+、反時計回り方向への偏位を-と算出した。

2) 感音難聴に伴う難治性両側前庭障害例に詳しい神経耳科的検査と免疫学的検査を行った。治療としては、鼓室内薬物注入、内リンパ嚢開放術、免疫抑制薬投与、平衡訓練などを行い、効果を症状と検査結果から評価した。

3) ウシガエル摘出後半規管に振子様用回転刺激を加え、発生する活動電位を半規管結石症、クプラ結石症両モデルにおいて測定した。半規管遮断術が無効であった症例につき、そのメカニズムを動物実験により検索し、症例の平衡機能検査結果と比較した。ウシガエル内耳にゲンタマイシン (GM) を注入し、1 週後にクプラと半規管感覚上皮の変化を観察した。また、外リンパ嚢モデルを作成し、同様の検討を行った。

C. 研究結果

1) HSPA1A 遺伝子の 5' 上流、すなわち発現調節領域に相当する部位の SNP 解析を行ったところ、HSP70 遺伝子のプロモーター領域である -110, 190 に SNP がみられた。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。

SVV の値が 2.0 度以上を呈した症例は 187 例であった。その内メニエール病は 13 例、BPPV は 30 例あった。前庭神経炎症例の SVV 偏位角度は大きく、平均値は 7.10° 、メニエール病は平均値 3.57° であった。メニエール病症例については、健側向き眼振がみられた時期に SVV を測定した延べ 17 例の偏位方向は健側向き偏位が 6 例、患側向きが 11 例であった。6 例が 2° 以上偏位し、1 例が健側に偏位し、5 例は患側に偏位した。患側向き眼振がみられた時期に SVV を測定した延べ 14 例について検討した。2 度以上偏位した症例の偏位方向は健側向きが 12 例、患側向きが 2 例であった。 2° 以上偏位した症例は 3 例でいずれも健側向き偏位であった。

2) 内耳自己抗体が陽性で内耳自己免疫病が疑われた 2 症例は、いずれも高度の平衡障害と特徴的な異常眼球運動を呈した。また、両側進行性感音難聴を伴い、一側に人工内耳埋め込みを受けている。第 1 例は、Western blot 法による血清学的検査で内耳蛋白 38kDa, 42kDa, 58kDa に対して陽性反応があった。本例は、鼓室内ステロイド注入のみに反応したが、プレドニン、CPA、MTX の併用療法や内リンパ嚢高濃度ステロイド挿入は無効で、今後内耳破壊を予定している。また、リドカインを鼓室内に投与すると眼振は出現せず、めまい感もまったくなかった。しかし、冷水による温度刺激により明らかな温度眼振が解発された。第 2 例は、Western blot 法で 50kDa, 68kDa が陽性であった。プレドニン、CPA の併用に反応し、異常眼球運動と平衡障害は改善し、社会復帰している。

3) 半規管結石症とクプラ結石症両 BPPV モデルにおいて回転刺激に対する電位は抑制されたが、クプラ結石症において抑制の程度は著明であった。また、抑制度は半規管内の耳石塊の大きさに比例していた。ウシガエルを用いた半規管遮断モデルにおいて、内耳への GM 注入や外リンパ嚢作成後にクプラが収縮するなどの変化が認められた。収縮の程度は軽度から

高度までまちまちであったが、常にクプラ辺縁部から収縮が始まるのが特徴であった。

D. 考察

1) 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。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、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。HSP は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、ストレスによって障害された細胞を修復する働きがある。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と推察した。

メニエール病症例の SVV は麻痺性眼振時に患側、刺激性眼振時に健側へ偏倚する傾向があり、病期を反映すると考えられた。SVV は簡便に施行できる前庭機能検査として患側や病期の判定に有用と考えた。

2) 内耳自己抗体が陽性で内耳自己免疫病が考えられた両側高度前庭機能障害例で、ステロイドの鼓室内注入が有効であったことから、症例によっては、ステロイドの局所投与が難治性めまい例の治療となる可能性が考えられた。また、リドカインを鼓室内に投与すると眼振は出現しなかったが、冷水による温度刺激では反応があったことから、温度眼振の解発機序が、感覚細胞レベルだけでなく前庭一次ニューロンである可能性を示唆すると考えた。第 2 例は、プレドニン、CPA の併用に反応し、異常眼球運動と平衡障害は改善し、社会復帰している。

今後これらの症例をさらに経時的に追跡調査していくことが難治性前庭疾患の病態解明と治療の確立につながるものと考えられる。

3) BPPV の半規管結石症やクプラ結石症のモデルにおいて回転刺激に対する反応が低下したことは、BPPV の温度眼振反応や VOR が低下すると臨床所見を裏付けるものとなった。反応低下の程度は半規管内に介在する耳石塊の量に依存することから、これがめまい症状や治癒率を左右し、難治性となる要因となることがうかがわれた。動物実験において、内耳への GM 注入や外リンパ瘻作成後にクプラが収縮するなどの変化が認められた。クプラの収縮が外側半規管遮断無効、温度眼振無反応などの機序と結論した。温度刺激検査は一侧の半規管機能検査として重要であるが、これまで CP などの判定はクプラが正常であるとの前提のもとにされてきた。今回の実験で明らかになったように、感覚上皮が正常でもクプラに異常があれば CP を呈する可能性がある。温度眼振の解釈を見直すことも必要と考えた。

E. 結論

1) HSP70 遺伝子のプロモーター領域の SNP はメニエール病の発症に関与すると考えられた。SVV は簡便に施行可能な前庭機能検査であり、メニエール病の病期を反映すると考えられた。

2) 内耳自己抗体が陽性で内耳自己免疫病が疑われた 2 症例は、いずれも高度の平衡障害と特徴的な異常眼球運動を呈した。また、両側進行性感音難聴を伴い、一侧に人工内耳埋め込みを受けている。第 1 例は鼓室内ステロイド注入のみに反応したが、プレドニン、CPA、MTX の併用療法や内リンパ嚢高濃度ステロイド挿入は無効で、今後内耳破壊を予定している。第 2 例は、プレドニン、CPA の併用に反応し、異常眼球運動と平衡障害は改善し、社会復帰した。

3) BPPV における半規管機能低下にクプラ結石症や半規管結石症が関与し、クプラ自体の形態的变化が BPPV の難治化や半規管遮断術

無効に関与することが示唆された。また、半規管感覚上皮が正常でもクプラに異常があれば温度刺激検査でCPを呈する可能性があり、温度眼振の解釈を見直すことも必要と考えた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- ・鈴木 衛：短期間で画像所見が変化した小脳腫瘍例。めまい診療のコツと落とし穴。高橋正紘編 中山書店 2005：66-67
- ・鈴木 衛：BPPV 理学療法後のめまいへの留意点。めまい診療のコツと落とし穴。高橋正紘編 中山書店 2005：112
- ・鈴木 衛：良性発作性頭位めまい症の病態と治療。日医雑誌 2005, 134：1477-1480
- ・大塚康司, 鈴木 衛, 古屋正由, 小川恭生, 萩原 晃, 竹之内剛：微細刺激によるクプラの偏移の観察。Equilibrium Res 2005, 64：100-105
- ・北島尚治, 鈴木 衛：BPPV の理学療法。JOHNS 2005, 21：1107-1109
- ・Takenouchi T, Suzuki M, Furuya M, Otsuka K, Ogawa Y：Contribution of endolymphatic fluid shift to caloric response in plugged semicircular canals. ORL 2006, 67：266-271
- ・Kitajima N, Kitajima A, Bai R, Sasaki M, Imagawa M, Kawamoto E, Suzuki M, Uchino Y：Axonal pathways and projection levels of anterior semicircular canal nerve activated vestibulospinal neurons in cats. Neuroscience Letters 2006, 406：1-2
- ・Inagaki T, Suzuki M, Otsuka K, Kitajima N, Furuya M, Ogawa Y, Takenouchi T：Model experiments of BPPV using isolated utricle and posterior semicircular canal.. Auris Nasus Larynx 2006, 33：129-134
- ・鈴木 衛：良性発作性頭位めまい症に関与する耳石の基礎的知見。Equilibrium Res 2006, 65：91-103
- ・鈴木 衛：めまい診療のポイント。特集 高齢者の感覚器官疾患。Geriatric Medicine 2006, 44：787-790
- ・大塚康司, 鈴木 衛：実験的にみた難治性BPPV のメカニズム。Equilibrium Res 2006, 65：156-160
- ・岡本伊作, 市村彰英, 鈴木 衛：上眼瞼向き眼振を認めた多発性硬化症の一例。Equilibrium Res 2006, 65：104-109
- ・小川恭生, 鈴木 衛, 市村彰英, 萩原 晃, 北島尚治, 稲垣太郎, 湯川久美子, 清水重敬, 竹之内剛：外側半規管型良性発作性頭位めまい症の臨床的検討。耳鼻臨床 2006, 99：905-911
- ・北島尚治, 鈴木 衛：睡眠時無呼吸症候群と起立性調節障害との関連性。耳鼻臨床 2006, 99：723-730.
- ・北島尚治, 鈴木 衛：BPPV と再発。JOHNS 2006, 22：187-190
- ・久米淳子, 小川恭生, 萩原 晃, 市村彰英, 鈴木 衛：めまいで発症した椎骨動脈解離の4例。耳鼻臨床 2006, 99：623-633
- ・Suzuki M, Hagiwara A, Ogawa Y, Ono H：Rapid-prototyped temporal bone and inner-ear models replicated by adjusting computed tomography thresholds. J Laryng Otol 2007, 121：1025-1028
- ・鈴木 衛：良性発作性頭位めまい症の診断と治療。総合臨床 2007, 56：365～366
- ・鈴木 衛：専門講座 良性発作性頭位めまい症。日耳鼻 2007, 110：646-649
- ・小川恭生, 萩原 晃, 北島尚治, 稲垣太郎, 清水雅明, 古瀬寛子, 許斐氏元, 湯川久美子, 鈴木 衛：救急外来を受診しためまい症例の臨床統計。耳鼻臨床 2007, 100：17-24
- ・許斐氏元, 萩原 晃, 小川恭生, 市村彰英,

北島尚治, 稲垣太郎, 鈴木 衛: 緊急入院を要しためまい症例の検討. *Equilibrium Res* 2007, 66: 31-36

2. 学会発表

- ・ Yukawa K, Suzuki M, Hagiwara A, Konomi U: Statistics on vestibular emergencies, peripheral and central disorders. XVIII IFOS World Congress. 2005年6月, Rome, Italy
- ・ Otsuka K, Suzuki M, Furuya T, Inagaki T, Kitajima N, Hasegawa G: Model Experiment of semicircular canal function of BPPV by using sinusoidal stimuli. XVIII IFOS World Congress 2005年6月, Rome, Italy
- ・ Suzuki M: Physiological properties of BPPV studied using models of semicircular canal and utricle. International Symposium of Otology. By invitation 2005年6月, Venice, Italy
- ・ 大塚康司, 鈴木 衛, 稲垣太郎, 北島尚治, 竹之内剛, 小川恭生, 長谷川剛: BPPVの病態と半規管の反応性に関するモデル実験. 第106回日本耳鼻咽喉科学会 2005年5月, 大阪市
- ・ 河口幸江, 萩原 晃, 林 賢, 古瀬寛子, 鈴木 衛: メニエール病患者におけるHSP.70の遺伝子解析. 第15回日本耳科学会 2005年10月, 大阪
- ・ 金林秀則, 小川恭生, 鈴木 衛: 3次元モデルで計測した半規管の弯曲について. 第64回日本めまい平衡医学会 2005年11月, 東京
- ・ 長谷川剛, 大塚康司, 稲垣太郎, 許斐氏元, 清水 颯, 鈴木 衛: ゲンタマイシンによるクブラと半規管感覚上皮の形態学的変化. 第64回日本めまい平衡医学会 2005年11月, 東京
- ・ 北島尚治, 市村彰英, 萩原 晃, 小川恭生, 稲垣太郎, 許斐氏元, 鈴木 衛: 外側半規管型BPPV症例における頭位変換療法後の経過について. 第64回日本めまい平衡医学会 2005年11月, 東京
- ・ Otsuka K, Suzuki M, Hasegawa G, Inagaki T, Konomi U, Shimizu A: Morphological change of the cupula and sensory epithelia due to gentamicine intoxication. 24th Barany Society Meeting 2006年6月, Uppsala, Sweden
- ・ Ogawa Y, Suzuki M, Yukawa K, Hagiwara A, Kitajima N, Inagaki T, Ichimura A: Three cases of positional downbeat nystagmus without central findings. 24th Barany Society Meeting 2006年6月, Uppsala, Sweden
- ・ Kanebayashi H, Suzuki M, Ogawa Y: Measurement of helical angle of the human semicircular canals using rapid-prototyped inner ear model. 24th Barany Society Meeting 2006年6月, Uppsala, Sweden
- ・ Kawaguchi S, Hagiwara A, Suzuki M: Analysis of heat-shock protein 70 gene polymorphisms in Meniere's disease. 24th Barany Society Meeting 2006年6月, Uppsala, Sweden
- ・ Suzuki M: Invited lecture. Experimente an der Ampulle bei M. Meniere und BPPN. 6th Hennig Symposium 2006年11月, Berlin, Germany
- ・ 北島尚治, 渡辺雄介, 鈴木 衛: 閉塞性睡眠時無呼吸症候群と起立性調節障害との関連性について. 日本宇宙航空環境医学会 2006年11月, 東京
- ・ 稲垣太郎, 湯川久美子, 市川彰英, 萩原 晃, 小川恭生, 北島尚治, 中村珠理, 鈴木 衛: 内耳疾患の経過中に発症したBPPV症例の検討. 第65回日本めまい平衡医学会 2006年11月, 東京
- ・ Suzuki M: Special Lecture. Functional involvement of semicircular canal cupula and utricle in BPPV. The 9th

- Japan-Taiwan Conference in Oto-Rhino-Laryngology, Head and Neck Surgery 2007年11月, Sendai, Japan
- ・ Otsuka K, Suzuki M, Ogawa Y, Inagaki T : Displacement pattern of the cupula under sinusoidal stimuli. 26th Politzer Society meeting 2007年11月, Cleveland, USA
 - ・ Kawaguchi S, Ulfendahl M, Suzuki M, Hultcrantz M : The waltzing guinea pig, an animal model for clinical vestibular dysfunction . 26th Politzer Society meeting 2007年11月, Cleveland, USA
 - ・ Inagaki T, Yukawa K, Ichimura A, Hagiwara A, Ogawa Y, Kitajima N⁴, Nakamura M, Suzuki M: Clinical study of BPPV-like symptom associated with inner ear disease. The 9th Japan-Taiwan Conference in Oto-Rhino-Laryngology, Head and Neck Surgery 2007年11月, Sendai, Japan
 - ・ 鈴木 衛 : 臨床セミナー 慢性のめまいー耳鼻咽喉科医の役割ー. 第108回日本耳鼻咽喉科学会 2007年5月, 金沢
 - ・ 鈴木 衛 : ランチョンセミナー めまいの治療ー外科的治療を中心にー. 第17回日本耳科学会 2007年10月, 福岡
 - ・ 鈴木 衛 : パネルディスカッション いわゆる良性発作性頭位めまい症ーその病態と問題点ー. 第66回日本めまい平衡医学会 2007年11月, 大阪
 - ・ 湯川久美子, 萩原 晃, 小川恭生, 中村珠理, 河野 淳, 長谷川達哉, 伊藤裕之, 鈴木 衛 : 特発性両側性感音難聴に伴う両側前庭障害例の神経耳科学的所見. 第108回日本耳鼻咽喉科学会 2007年5月, 金沢
 - ・ 大塚康司, 鈴木 衛, 小川恭生, 稲垣太郎 : 振子様刺激によるクプラの偏移の観察. 第108回日本耳鼻咽喉科学会 2007年5月, 金沢
 - ・ 小川恭生, 萩原 晃, 北島尚治, 稲垣太郎,

- 中村珠理, 市村彰英, 湯川久美子, 鈴木 衛 : めまい患者の自覚的視性垂直位 (subjective visual vertical ; SVV)の検討. 第108回日本耳鼻咽喉科学会 2007年5月, 金沢
- ・ 林 麻美, 小川恭生, 萩原 晃, 稲垣太郎, 市村彰英, 湯川久美子, 鈴木 衛 : 自覚的視性垂直位 (subjective visual vertical; SVV)の臨床的検討. 第69回耳鼻咽喉科臨床学会 2007年7月, 東京
- ・ 小川恭生, 萩原 晃, 稲垣太郎, 林 麻美, 山田哲也, 西山信宏, 河野 淳, 湯川久美子, 鈴木 衛 : 耳科手術後の自覚的視性垂直位 (subjective visual vertical; SVV). 第17回日本耳科学会 2007年10月, 福岡
- ・ 北島尚治, 渡邊雄介, 鈴木 衛 : 音響性瞳孔反応解析によるめまい診断法. 第53回日本宇宙航空環境医学会大会 2007年11月, 名古屋
- ・ 小川恭生, 萩原 晃, 稲垣太郎, 林 麻美, 市村彰英, 湯川久美子, 鈴木 衛 : 内耳疾患症例の自覚的視性垂直位 (subjective visual vertical; SVV). 第66回日本めまい平衡医学会 2007年11月, 大阪
- ・ 北島尚治, 湯川久美子, 市村彰英, 萩原 晃, 小川恭生, 稲垣太郎, 林 麻美, 鈴木 衛 : 音響性瞳孔反応解析によるめまい診断法の試み. 第66回日本めまい平衡医学会 2007年11月, 大阪
- ・ 永井賀子, 鈴木 衛, 湯川久美子, 小川恭生, 萩原 晃, 稲垣太郎, 林 麻美 : 水平性眼振を呈した松果体嚢胞の1例. 第66回日本めまい平衡医学会 2007年11月, 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
なし
2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

研究要旨 メニエール病の病態の解明と新しい治療薬剤の開発を目的として、基礎的研究として、内耳での TRPV の発現様式と内耳障害時の変化、内耳血流の変化に対する内リンパ囊の反応を解析するとともに、新しいメニエール病動物モデルの開発を行なった。臨床的検討としては、抗酸化剤の臨床応用について検討し、メニエール病のインターネットによる情報伝達の現状を解析した。その結果、内耳には TRPV1, 2, 3, 4 が存在し、感覚細胞の興奮の調節や内耳での浸透圧の調節に関与すること、TRPV の発現の変化が様々な病態を引き起こす一方で内耳障害軽減に働くこと、内リンパ囊に内耳血流の恒常性を維持する機能があることが明らかとなった。加えて、内リンパ水腫と可逆性の平衡障害を起こすモデルが開発され、今後のメニエール病の病態の解明や治療に大きく役立つものと考えられた。また、抗酸化剤による新しい治療はメニエール病の治療に有効であり、これまでの治療に追加する形で、作用機序の異なる複数の抗酸化剤を併用する形での使用が望ましいことが明らかとなった。さらに、現在のネット上でのメニエール病の情報流通に色々な問題はあつたもののインターネットを積極的に活用し、正確な情報を発信していくことが重要であると考えた。

A. 研究目的

メニエール病の病態の解明と新しい治療法の開発を目的に、基礎的には TRPV の内耳での局在、機能と病態との関連、内リンパ囊の内耳血流の恒常性維持機能について検討し、メニエール病の新しい動物モデルの開発をおこなつた。また、臨床的には抗酸化剤のメニエール病に対する治療効果のまとめを行い、抗酸化剤の有効性、使用方法、今後の展開について検討した。加えてメニエール病のインターネット (IN) による情報伝達の現状を解析し、その問題点と今後の IN の活用法について検討した。

B. 研究方法

1) 内耳での TRPV の局在とその変化

プライエル反射正常の成熟、ハートレー系モルモット (体重 250-300g)、8 週齢の CBA/J マウスを使用した。モルモットはネブタールによる深麻酔下に 4%パラホルムアルデヒドにて灌流固定後、断頭、蝸牛、末梢前庭器、内リンパ囊を摘出した。試料は 1.5% Triton X-100 にて処理した後、抗 TRPV1 抗体、抗

TRPV4 抗体を用いて、LSAB 法により免疫染色を行い JB-4 にて包埋後、4 μ m の厚さで切片を作製し光顕にて観察した。マウスは正常ならびに GM 投与マウスを用い、GM 投与マウスは左耳に GM 5mg を鼓室内投与することにより作製し、2 週間後に使用した。動物はネブタールによる深麻酔下に 4%パラホルムアルデヒドにて灌流固定後、断頭、側頭骨を摘出した。試料は EDTA にて脱灰後、4 μ m の厚さで凍結切片を作製、抗 TRPV1 抗体、抗 TRPV2 抗体、抗 TRPV3 抗体、抗 TRPV4 抗体、抗 BDNF 抗体、抗ニトロチロシン抗体、抗ヒドロキシノネナル抗体を用いて、免疫染色を行い蛍光顕微鏡にて観察した。

低浸透圧刺激による細胞内カルシウムの変化について、対象には TRPV4 の発現が確認された血管条を用い、5 μ g/ml の fluo4-AM を 37°C で 45 分間ローディングし、低浸透圧刺激による細胞内カルシウム濃度の変化を経時的に蛍光顕微鏡にて観察した。

2) 内耳血流の変化による内リンパ囊の変化

実験にはプライエル反射正常，8週齢のCBA/Jマウスを使用した。動物は2群に分け，1群は左耳に1:10,000エピネフリン(epi)，2群は3%ソジウムニトロプルシド(SNP)を経鼓膜的に鼓室内投与した。動物は薬剤の投与終了後，0，30分，1，2，4，24時間後に深麻酔下に断頭，側頭骨を摘出，4%パラホルムアルデヒドにて固定後，EDTAで脱灰，エタノール系列にて脱水後，水溶性レジン(JB-4®)にて包埋した。その後，通常の方法で切片を作製し，光学顕微鏡にて形態学的観察を行なった。

3) メニエール病の新しい動物モデルの開発

実験にはプライエル反射正常，8週齢のCBA/Jマウスを使用した。動物は3群に分け，1群は左耳に大腸菌由来リポポリサッカライド(LPS) 1mgを経鼓膜的に1日1回，5日間連日投与，2群はアルドステロン 100 μ g/100g(体重)を1日1回，5日間連日投与，3群は左耳にLPS，腹腔内にアルドステロンの両者を同様に5日間連日投与した。動物は薬剤の最終投与終了1日後に深麻酔下に断頭，側頭骨を摘出，4%パラホルムアルデヒドにて固定後，EDTAにて脱灰，エタノール系列にて脱水後，JB-4にて包埋した。その後，通常の方法にて切片を作製し，光学顕微鏡にて形態学的観察を行なった。

つぎに，平衡障害の作製のため，3群の動物において薬剤の最終投与終了後，左耳に経鼓膜的にepi(1:10,000)の鼓室内投与を行い，その行動様式を観察すると共に，赤外線CCDカメラを用いて眼振の観察を行なった。

4) 抗酸化剤によるメニエール病の治療

今回，対象とした疾患はメニエール病，老人性難聴，シスプラチン(CDDP)難聴，突発性難聴とした。使用した抗酸化剤は，レバミピド 300mg/日，ビタミンC 600mg/日，グルタチオン 600mg/日，ポラプレジック 150mg/日，などであり，これらを症例に応じて原則として8週間以上経口投与した。メニエール病，老人性

難聴ならびにシスプラチン難聴に対する成績はすでに報告したものをもとに検討した。また，抗酸化剤の一種である α -リポ酸を難治性のステロイド依存性感音難聴の1例に投与し，その効果を検討した。

5) メニエール病の情報伝達とインターネット

今回，INを利用してメニエール病，めまいに関するサイトを閲覧，情報を収集して現在のネット上での問題点，今後のINの活用方法を検討した。検索サイトには主としてGoogleを利用した。

C. 研究結果

1) 内耳でのTRPVの局在とその変化

① モルモット

TRPV1の発現はコルチ器では内外有毛細胞，支持細胞，蝸牛神経節細胞，前庭器では感覚細胞，前庭神経節細胞に認められた。

TRPV4の発現はコルチ器では内外有毛細胞，支持細胞，血管条，前庭器では感覚細胞，前庭神経節細胞，移行上皮，暗細胞，内リンパ嚢上皮細胞で認められた。

血管条のカルシウム濃度は低浸透圧刺激により経時的に上昇し，40-60秒後にピークに達した。

② マウス

TRPV1の発現はコルチ器では内外有毛細胞，支持細胞，蝸牛神経節細胞，前庭器では感覚細胞，神経線維，前庭神経節細胞に認められた。

TRPV2の発現はコルチ器では内外有毛細胞，支持細胞，蝸牛神経節細胞，血管条，前庭器では感覚細胞，神経線維，前庭神経節細胞，暗細胞に認められた。

TRPV3の発現はコルチ器では内外有毛細胞，支持細胞，蝸牛神経節細胞，前庭器では感覚細胞，神経線維，前庭神経節細胞に認められた。

TRPV4の発現はコルチ器では内外有毛細胞，支持細胞，血管条，蝸牛神経節細胞，前庭器では感覚細胞，前庭神経節細胞，暗細胞で認められた。

GM 投与動物では TRPV の発現は、局在部位は正常動物と同様であったが、その蛍光強度は TRPV1, TRPV2 では増加し、TRPV3, TRPV4 では減少していた。

2) 内耳血流の変化による内リンパ囊の変化

① 蝸牛の変化

epi 投与耳では血管条の細胞間隙の拡張や空胞形成が認められた。これらの変化は投与30分後から認められ、2時間後に最大、24時間後には回復した。一方、SNP 投与耳では血管条の変化は認められなかった。これらの血管条の変化に際して内リンパ水腫(EH)やライスネル膜の虚脱などの変化は両群とも認められなかった。

② 内リンパ囊の変化

epi 投与群では内リンパ腔は狭小化し、内リンパ囊上皮細胞間の細胞側間隙(LIS)は拡張し、内リンパ腔内にはSSの出現が認められた。これらの内リンパ腔の狭小化やSSの出現はepi投与30分後から認められ、2時間後に最大、4時間後には逆に内リンパ腔は拡大し、24時間後には回復した。

SNP 投与群では内リンパ腔は拡大し、LISは狭小化した。これらの変化はSNP投与30分後から認められ、1時間後に最大となり、24時間後には回復した。

3) メニエール病の新しい動物モデルの開発

鼓室内にLPS投与を行なった動物では蝸牛に軽度のEHの発現を認めた。EHの程度は上方回転でより強い傾向にあった。内リンパ囊の観察では内リンパ腔の大きさは正常ないし軽度縮小しており、いわゆるSSがしばしば認められた。上皮細胞は円柱形で細胞間のLISの拡張も認められた。

腹腔内にアルドステロン投与を行なった動物では蝸牛に軽度のEHの発現を認めた。EHは上方回転に加えて下方回転でも認められ下方回転ではライスネル膜のfoldingもしばしば認められた。内リンパ囊の観察では内リンパ腔

の大きさは拡大しており、上皮細胞の丈は低くなり、LISは縮小していた。

LPSとアルドステロンの両方の投与を行なった動物では蝸牛に軽度から中等度のEHの発現を認めた。EHの程度はLPS、アルドステロン単独投与群に比較して有意に強く、回転別では上方回転でより強い傾向にあった。内リンパ囊の観察では内リンパ腔の大きさは正常～拡大まで様々であったが、上皮細胞は円柱形でLISの拡張も認められた。

3群の動物のLPS投与耳にepiを投与した動物では投与直後より活動性の減少、epi投与側への偏倚傾向、薬剤投与耳と反対側に向かう眼振が認められ、この異常は30分程度持続した。

4) 抗酸化剤によるメニエール病の治療

① 抗酸化剤の治療効果

難治性メニエール病症例の検討で1年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、突発性難聴の治療効果についてレバミピドの有無で検討した結果、レバミピド併用群では治癒70%、著明改善以上75%、レバミピドを併用しなかった群では治癒50%、著明改善以上69%とレバミピド併用群による治癒率の向上が認められた。また、老人性難聴において治療効果が認められた症例のうち抗酸化剤の内服中止により難聴が悪化し、再開により再び聴力の改善した症例が認められた。

② 聴力障害に対する効果

抗酸化剤による難聴の治療成績は老人性難聴では125, 250, 500, 8000Hzで有意の聴力改善が認められ、抗酸化剤投与前のオーディオグラムと投与後のオーディオグラムを各周波数別に比較し、10dB以上の改善があったものを

改善, 10~10dB を不変, 10dB 以上悪化したものを悪化, とすると改善率は 125Hz で 40%, 250Hz で 37%, 500Hz で 34%, 1kHz で 26%, 2kHz で 6%, 4kHz で 26%, 8kHz で 46% であった. CDDP 難聴では 125, 250, 500, 8000Hz で有意の聴力改善が認められ, 改善率は 125Hz で 69%, 250Hz で 54%, 500Hz で 54%, 1kHz で 31%, 2kHz で 31%, 4kHz で 23%, 8kHz で 46% であった. メニエール病では 125, 250, 500, 1000, 2000Hz で有意の聴力改善が認められ, 改善率は 125Hz で 62%, 250Hz で 59%, 500Hz で 59%, 1kHz で 45%, 2kHz で 28%, 4kHz で 26%, 8kHz で 28% であった.

③抗酸化剤の種類, 使用方法

抗酸化剤の種類, 組み合わせによる聴力の改善効果を検討したところ, レバミピド単独では聴力改善は平均 5.7dB, レバミピド+ビタミン C では 9.3dB, レバミピド+グルタチオンでは 17.3dB, レバミピド+ビタミン C+グルタチオンでは 11.6dB とレバミピド単独よりも複数の薬剤を組み合わせた例で聴力改善が高い傾向があった.

α -リポ酸投与例は 29 歳女性, ステロイド依存性感音難聴症例で左耳に高音漸減型の感音難聴を有しておりステロイド鼓室内注入などにより難聴は軽減していたが妊娠, 出産を契機に再び聴力が悪化, 今度はステロイドに反応せず, レバミピド, ビタミン C などの抗酸化剤にても聴力の改善を認められなかったため, 患者の同意を得て α -リポ酸 600mg/日 を投与開始, 17 週間後には聴力は平均 10.7dB の改善を示した.

5) メニエール病の情報伝達とインターネット

Google で「メニエール病」を検索すると 12,6000 件がヒットし, その先頭に表示されるのは「メニエール病について」という京都大学のホームページ(HP)であった. 「めまい」で検索するとヒット数は 3,220,000 件でその最初

に表示されるのは「日本めまい平衡医学会・めまい, メニエール病専門医」という日本めまい平衡医学会の HP であった. サイトの種類としては, 学会, 大学病院, 一般病院など医療機関の HP, 企業の HP, 個人(医師, 患者自身)の HP などがあり, 個人の HP の特徴として掲示板を開設している HP が数多くあった.

HP のなかの情報の正確さについて, 医療機関の HP については概ね正しい情報が掲載されていた. しかし, 個人の HP 中の医療情報の質はまちまちであり, 必ずしも正しい情報のみが掲載されているわけではなかった.

次に IN の活用状況について, 1) 病気の一般的な情報の収集, 2) 専門医, 病院の検索, 3) ネット上での病気に対するアンケート, などについて検討した.

1) 病気の一般的な情報の収集に関しては検索サイトで「めまい」, 「メニエール病」などの語句で検索を行なうことで比較的信頼性の高い医療機関の HP などを用意に探すことが可能であった.

2) 専門医, 病院の検索では「メニエール病+専門医」で検索を行なうことで容易に, 日本めまい平衡医学会の専門医リストにたどり着くことができ, 自分の居住地での専門医の所在を確認することが可能であった. さらに個人の HP 中には, めまい専門医が勤務する病院の HP に直接リンクさせ, より詳細な医療機関の情報が簡単に獲得できるものも認められた.

3) ネット上でのアンケートについて, 個人の HP 上でメニエール病についての公開アンケートを行なっているものがあり, 305 件の回答が得られ, その結果が公開されていた. アンケートの回答者は女性が 70% 以上, 年齢は 20 代から 40 代の若年層が多く, メニエール病以外のものが混在している, などの問題はあものの, めまいの程度, 誘引, 随伴症状などについては十分な情報が得られた.

最後に掲示板についての検討を行った. 基本的に掲示板はだれもが自由に書き込みが可能なため様々な問題が最も出て来やすい場所

ある。当事者サイトの掲示板では患者自身が自由に意見を書き込むことができ、問題や悩みについてお互いに相談するという形式がほとんどであり、病気についての情報交換、互いの励ましの他、間違った知識の普及や解説などが認められた。また、特定の個人や病院に対する誹謗、中傷、標準的でない治療法の紹介など患者の治療や病状に悪影響を与える可能性のある書き込みも多かった。投稿者の種類は患者自身が多数を占めていたが、中には相談の回答を医師（耳鼻科医も含む）が行なっているものも認められた。

D. 考察

1) 内耳での TRPV の局在とその変化

これまでの研究から内耳で TRPV1 はコルチ器感覚細胞、支持細胞、蝸牛神経節、前庭神経節に存在することが報告されている。今回の検討では TRPV1 は前庭感覚細胞、神経、コルチ器有毛細胞、蝸牛神経節、前庭神経節などに認められた。内耳での TRPV1 の機能に関して、これまでの検討でカプサイシンは蝸牛の CAP 閾値を上昇させ、CM を小さくすること、これらの反応は可逆的で競合的阻害剤であるカプサゼピンで阻害されることなどが明らかになっている。これらの生理学的検討と今回の結果を併せると TRPV1 は蝸牛及び前庭での感覚細胞の興奮を抑え、興奮伝達機構の調節に働いていることが考えられた。

TRPV2 は前庭感覚細胞、神経、コルチ器有毛細胞、蝸牛神経節、前庭神経節などに認められた。TRPV2 は TRPV4 と類似して浸透圧による細胞膜の伸展を感受することが知られており、その分布様式も考え合わせると感覚細胞の興奮伝達機構の調節や運動性に関係するとともに内耳での水分代謝にも関与していると考えられた。

TRPV3 はこれまで口腔や鼻の化学受容体としての役割が示唆されている。今回、TRPV3 も内耳に存在することが明らかとなり、その分布は TRPV1 とほぼ同じであったことなどか

ら、TRPV3 もまた感覚細胞や神経節での感覚受容機構に関与していると考えられた。

TRPV4 の内耳での機能について、近年、血管条辺縁細胞や他の水分輸送上皮に TRPV4 が認められることから内リンパの浸透圧の調節に関与していることが示唆されている。今回の検討でも TRPV4 は蝸牛、前庭の感覚細胞に加えて血管条、前庭暗細胞、移行上皮、内リンパ嚢などの水分輸送上皮に強く局在していることが明らかとなった。これらのことから TRPV4 が内耳での浸透圧の調節に強く関連し、内リンパのイオンや水分の恒常性の維持に働いていると考えられた。また、内耳の感覚細胞での TRPV4 の役割について、前庭や蝸牛の単離有毛細胞は低浸透圧刺激により速やかな収縮を起こすこと、この変化は可逆的で浸透圧を元に戻すことにより回復することが知られている。これらのことと今回の結果より、TRPV4 は感覚細胞での浸透圧の受容に関係していると考えられた。

今回の GM 投与モデル動物での検討では GM 投与により、TRPV1, TRPV2 の発現は増加し、TRPV3, TRPV4 の発現は低下することが明らかとなった。TRPV1 の発現の増加はカナマイシン投与動物や音響負荷で生じることが知られており、内耳障害時の耳鳴やめまいの発現に関係していることが考えられている。今回の結果はそれを裏付けると共に、TRPV2 もまた内耳の病態に関係していると思われた。

一方、GM 投与による TRPV3, TRPV4 の発現の低下に関して、同様の発現の低下は KM 投与動物でも認められており、その意義として神経保護作用が示唆されている。実際 TRPV4 のノックアウトマウスでは 8 週齢では正常の聴力を示すものが 24 週齢では著明に聴力が低下すること、騒音負荷により正常マウスよりも大きな聴力低下を示し、TRPV4 が内耳障害の軽減に働いていると考えられている。また、中枢神経系では低体温による神経保護作用が TRPV3 や TRPV4 に関係することが示唆されており、これらのことから考えると今回認めら

れた TRPV3,TRPV4 の GM 投与動物での発現の低下が内耳の保護作用に関係していることが示唆された。

2) 内耳血流の変化による内リンパ嚢の変化

内耳血流の変化に関して, epi の鼓室内投与は最大 60%程度の速やかな内耳血流の低下を引き起こし, 一方, SNP は速やかに内耳血流を約 200%に増加させることが報告されていることから, 今回の検討では内耳血流の減少の目的には epi の鼓室内投与を用い, 増加には SNP を使用した。

今回の検討で, epi 投与, 即ち内耳血流の低下, により血管条での細胞間隙の拡大や空胞変性が生じることが明らかとなった。同様の所見は一過性の蝸牛虚血でも認められており, その理由として一過性の蝸牛虚血が血管条の機能障害を引き起こし, 水分貯留を起こすことが考えられている。同様の所見はグリセロール全身投与時にも認められており, 今回の所見と併せると内耳血流の低下は内リンパ液の産生の減少を起こすと考えられた。このような血管条の異常にもかかわらず, EH やライスネル膜の虚脱などが認められなかったことは, 内耳血流の変化に伴う内リンパ環境の変化が何らかの機構により代償されていると考えられた。

一方, 内リンパ嚢では今回の検討で, epi と SNP の投与により全く逆の変化が認められた。すなわち, epi 投与は内リンパ嚢の狭小化, LIS の拡大, SS の出現を引き起こし, SNP 投与では内リンパ腔の拡大と LIS の狭小化が認められた。これらの変化は対側耳では認められなかったことより, 内耳血流の変化そのものが内リンパ嚢の反応を惹起したと思われた。この epi 投与による内リンパ嚢の変化はグリセロール投与後, すなわち内リンパ圧や量が減少した状態と類似しており, SNP 投与による変化は急性 EH (内リンパ量の増加) による変化と類似していた。以上のことから, 内耳血流低下に際しては, 内リンパ圧や量の相対的低下が生じ, それを代償するために内リンパ嚢の狭小化,

SS の出現が起こり, 内耳血流増加の際には内リンパ圧や量が相対的に増加し, それを代償するために内リンパ腔が拡大するものと考えられた。即ち, 内リンパ嚢は内耳血流の変化による内リンパ環境の変化の調節を能動的に行なっていることが示唆された。実際, 内リンパ水腫のある状態では内耳血流の調節作用が障害されていることは良く知られており, 内リンパ水腫動物では血圧低下による内耳血流の低下は内リンパ水腫耳で大きく, AICA 閉塞による内耳血流の低下に対する調節能は内リンパ水腫耳で低下することが報告されている。これらの内リンパ水腫は内リンパ能を手術的に閉塞することにより作製されており, 内リンパ嚢の機能異常により内耳血流の調節機能の異常が生じることが明らかとなった。

3) メニエール病の新しい動物モデルの開発

EH は内リンパの吸収障害や, 内リンパの産生過剰, あるいはその両者によって引き起こされるが, モルモット内リンパ嚢, 内リンパ管の閉塞により高率に EH が発生することが報告されて以来, 内リンパ嚢閉塞モデルは現在, 代表的なメニエール病の動物モデルとして広く利用されている。一方, 内リンパ液の分泌過剰による EH は中央階へのコレラ毒素の注入やアルドステロン, バゾプレッシンの全身投与により生じることもよく知られている。これらの動物モデルの特徴として, EH, 聴力障害は程度の差はあれ, すべてのモデルで出現するものの, メニエール病の第一の特徴であるめまい発作は殆ど出現しないということがある。さらに, 現在最も広く用いられている内リンパ嚢閉塞モデルは手術的に内リンパ嚢を閉塞することが必要であり, 生理学的に実際のメニエール病とはかけ離れていると考えられる。これらの点を解決するために, 今回, 我々は EH の作製に, 内リンパの分泌過剰と吸収障害の両者を用いたモデルを作製した。内リンパの分泌過剰はアルドステロンを利用して惹起した。アルドステロンは血管条, 暗細胞での Na/K ATPase を