

C. 研究結果

1. クブラの変化による前庭器病態

クブラは GM 処置により種々の変化を呈した。クブラの主な変化は頂部（膨大部頂部側）を含む辺縁からの収縮であった。GM 処置 3 日後では 10 例中 7 例ではクブラの変化が乏しく Grade 1 であった。クブラの明らかな変化は 3 例でみられ、いずれも Grade 4 でクブラは消失しており、感覚上皮障害も高度であった。GM 処置 7 日後では、クブラと感覚上皮の障害がともに Grade 2 以下の軽度変化例が半数であった。また、クブラ変化と感覚上皮障害が並行せず、解離したのも多かった。GM 処置 14 日後では、クブラと感覚上皮障害がともに Grade 3 以上に障害されたものが増え、クブラと感覚上皮の障害が解離した例が 4 例あった。

2. 瞳孔反応を用いた前庭自律神経反射

1) 両耳刺激測定

正常例での潜時は $340\text{msec} \pm 9$ (mean \pm SD)、ピーク潜時は $700\text{msec} \pm 81$ (mean \pm SD)、PI は 4.74 ± 1.97 (mean \pm SD) であった。メニエール病では $390\text{msec} \pm 80$ (mean \pm SD)、ピーク潜時は $840\text{msec} \pm 150$ (mean \pm SD)、PI は 5.76 ± 3.64 (mean \pm SD) で、ピーク潜時のみ正常例と比べて有意に延長した。また前庭神経炎では $420\text{msec} \pm 120$ (mean \pm SD)、ピーク潜時は $940\text{msec} \pm 80$ (mean \pm SD)、PI は 7.74 ± 2.50 (mean \pm SD) で、ピーク潜時および PI が正常例と比べて有意に延長した。

2) 片耳刺激測定

メニエール病の患側刺激での潜時は $400\text{msec} \pm 120$ (mean \pm SD)、ピーク潜時は $880\text{msec} \pm 180$ (mean \pm SD)、PI は 5.43 ± 2.79 (mean \pm SD)、健側刺激での潜時は $380\text{msec} \pm 90$ (mean \pm SD)、ピーク潜時は $900\text{msec} \pm 130$ (mean \pm SD)、PI は 4.96 ± 3.36 (mean \pm SD) であった。患側・健側での各記録間に有意差はなかったが、PI はやや患側で増加する傾向があった。急性発作期では PI 比は 1.743 であるのに対し、寛解期では 0.975 と改善した。

前庭神経炎の患側刺激での潜時は $406\text{msec} \pm 86$ (mean \pm SD)、ピーク潜時は $1010\text{msec} \pm 178$ (mean \pm SD)、PI は 7.66 ± 3.36 (mean \pm SD)、

健側刺激での潜時は $347\text{msec} \pm 104$ (mean \pm SD)、ピーク潜時は $955\text{msec} \pm 180$ (mean \pm SD)、PI は 6.95 ± 2.50 (mean \pm SD) であった。患側・健側での各記録間に有意差はなかったが、PI は患側で増加する傾向を認めた。前庭神経炎急性発作期では PI 比は 1.17 であったのに対し、慢性期では 0.80 と改善した。

前庭神経炎における CP% と患側 PI/健側 PI 比との相関を検討したところ、完全 CP 症例で PI 比が有意に増加した。

D. 考察

1. クブラの変化による前庭器病態

耳毒性薬剤が内耳に与える影響については、蝸牛を中心に多くの研究がある。しかし、ほとんどが感覚細胞を観察したもので、クブラなど付属器の変化についての報告は少ない。今回、感覚細胞障害のみならずクブラにも縮小などの変化が起きることが判った。クブラが縮小するとその運動様式も変化することが予想される。クブラが縮小した状態では、膨大部壁とクブラ間に間隙が生じ、内リンパ流動に対する感受性は低下する。また、カロリックテストは半規管麻痺の結果になると予想される。カロリックテストの CP には、従来の感覚上皮や神経の機能低下によるものとクブラの収縮によるものがあると考えられた。クブラが縮小すると swing-door 様運動に変化し、生理的刺激に対する VOR の閾値が上昇するだけでなく反応遅延も生じて、体動時浮遊感などの不安定症状の原因となる可能性がある。また、swing-door 様運動ではクブラ結石症が生じた場合、クブラ可動性の増加によって激しい眼振が起きると推察される。

さらに、メニエール病において内リンパ水腫で膨大部壁が伸展すればクブラと壁に間隙が生じ、めまいの病像や検査所見に影響を与えることが考えられる。このように、クブラ自体あるいは周辺に形態的变化が起こると BPPV やメニエール病の病態や臨床像がより複雑で多様となり、クブラ異常を考慮しためまい診断が重要になると考えた。

2. 瞳孔反応を用いた前庭自律神経反射

前庭神経炎患者の PI が有意に増大する傾

向を認め、さらにCP%が高いほど患側/健側PI比が高くなる傾向があった。このことは前庭機能障害が音響性瞳孔反応に与える影響が大きいことを意味している。前庭神経炎、メニエール病ともに病期の経過につれて患側/健側PI比が有意に改善する傾向を認めた。これから、めまいの消失に伴い自律神経失調は改善していくと推察される。メニエール病で急性発作期のPI比は前庭神経炎より大きかった。これは聴覚障害による補充現象で驚愕反射が増強されたか、内リンパ水腫による耳石器への刺激量増加によるものであろう。今回検討に用いた第1波は副交感神経の抑制で生じる。前庭神経核からEdinger-Westphal核など副交感神経系への神経経路があり、前庭機能の低下がこの経路を介し副交感神経系への抑制作用を助長し、瞳孔径変化に影響した可能性がある。前庭自律神経反射の役割は、過度の加速度刺激あるいは自己の空間認知の混乱が生じた際の自己への警告であり、一種の防衛的な役割を担うものと考えられる。音響性瞳孔反応の役割は、急速な体勢や重力の変化、前庭機能障害に伴う体勢不安定に対して視覚情報を増加させ姿勢調節を補佐するものと推察した。

E. 結論

1. クブラの変化による前庭器病態

GM内耳内投与後、クブラが辺縁から縮小するのが観察された。GM処置後2週間でクブラの障害が進行した。感覚細胞の障害が軽度にもかわらずクブラの変化が高度のように、両者の障害度が相関しない例があった。クブラの形態的变化がメニエール病やBPPVの病態・臨床像を複雑にする可能性が示唆された。クブラの形態変化を考慮し、CPなどコロリクテストの意義を再検討する必要がある。

2. 瞳孔反応を用いた前庭自律神経反射

メニエール病と前庭神経炎症例において音響性瞳孔反応を測定した。正常例に比べて前庭神経炎患者の瞳孔指数PIが有意に増大し、さらにCP%が高いほど患側/健側PI比が高くなる傾向があった。メニエール病ではPIの有意差が得られなかったが、前庭神経炎、メニ

エール病ともに病期の経過につれて患側/健側PI比が改善した。また、メニエール病発作期のPI比は前庭神経炎より大きかった。音響性瞳孔反応によって前庭自律神経反射を定性・定量化できる可能性が考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Suzuki M: Experiments of semicircular ampulla and BPPV mechanism. Der Gleichgewichtssinn. Neues aus Forschung und Klinik. 6. Hennig-Symposium. (Ed. Scherer H.) Springer-Verlag: 199-205, 2008.
- Yukawa K, Horiguchi S, Suzuki M: Congenital inner ear malformations without sensorineural hearing loss. Auris Nasus Larynx 35:121-126, 2008.
- Ogawa Y, Suzuki M, Hagiwara A, Yukawa K, Kitajima N, Inagaki T, Ichimura A: A case of acute disseminated encephalomyelitis presenting with vertigo. Auris Nasus Larynx 35:127-130, 2008.
- Kawaguchi S, Hagiwara A, Suzuki M: Polymorphic analysis of the heat-shock protein 70 gene (HSPA1A) in Meniere's disease. Acta Otolaryngol 128:1173-1177, 2008.
- 清水重敬, 鈴木 衛: 良性発作性頭位めまい症。「すぐに役立つ外来耳鼻咽喉科疾患診療のコツ」肥塚 泉編, 291-297, 全日本病院出版会, 東京, 2008.
- 小川恭生, 稲垣太郎, 鈴木 衛: 高齢者の良性発作性頭位めまい症. ENTONI 87:68-73, 2008.
- 小川恭生: 中枢性病変を欠く頭位性・頭位変換性下眼瞼向き眼振. Equilibrium Res 67:34-35, 2008.
- 北島尚治, 鈴木 衛: 睡眠呼吸障害とめまい(起立性調節障害). ENTONI 88:28-36, 2008.
- 稲垣太郎, 清水重敬, 岡本伊作, 古瀬寛子, 湯川久美子, 萩原 晃, 小川恭生, 林 麻美, 鈴木 衛: 喉頭癌放射線化学療法後に発症したWernicke脳症例. 耳鼻臨床 101:179-183,

2008.

- ・稲垣太郎, 湯川久美子, 市村彰英, 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 様症候の検討. *Equilibrium Res* 67: 18-23, 2008.
- ・清水重敬, 鈴木 衛: 半規管充填術のための臨床解剖. *JOHNS* 24: 324-326, 2008.
- ・清水重敬, 鈴木 衛: フレンツェル眼鏡下の頭位・頭位変換検査. *臨床検査* 52: 1437-1442, 2008.
- ・金林秀則, 鈴木 衛, 小川恭生: 積層造型内耳モデルを用いた半規管の計測. *Equilibrium Res* 67: 294-300, 2008.

2. 学会発表

- ・Suzuki M, Otsuka K, Inagaki T, Shimizu S, Konomi U, Hasegawa G, Kitajima N, Ogawa Y: Symposium: Positional and positioning vertigo. Morphological change of the cupula as a possible etiology of intractable BPPV. 25th Barany Society Meeting, 2008, 3, 京都.
- ・Suzuki M: Key note lecture: Morphological change of the semicircular canal cupula and its involvement in BPPV etiology. 82th Collegium Otorhinolaryngologicum Amicitiae Sacrum Meeting, 2008, 8, ベルリン市.
- ・Ogawa Y, Suzuki M, Nagai N, Hagiwara A, Inagaki T, Hayashi M, Yukawa K: Horizontal nystagmus observed in a case of pineal body cyst. 25th Barany Society Meeting, 2008, 3, 京都.
- ・Kawaguchi S, Hultcrantz M, Suzuki M: The German waltzing guinea pig, an animal model for clinical vestibular dysfunction. 25th Barany Society Meeting, 2008, 3, 京都.
- ・Yukawa K, Hagiwara A, Ogawa Y, Inagaki T, Nakamura M, Hayashi M, Ito H, Suzuki M: Progressive hearing loss and vestibular dysfunction associated with autoimmune inner ear disease. 25th Barany Society Meeting, 2008, 3, 京都.
- ・Kitajima N, Suzuki M: The association between sleep apnea syndrome and orthostatic dysregulation. 25th Barany Society Meeting, 2008, 3, 京都.
- ・Suzuki M, Hagiwara A, Ogawa Y, Yukawa K: Prototyped 3-D inner ear model replicated by adjusting CT thresholds. 25th Barany Society Meeting, 2008, 3, 京都.
- ・Shimizu S, Ogawa Y, Suzuki M, Inagaki T, Konomi U, Hagiwara A, Yukawa K, Hayashi M: Influence of aging on prognosis of BPPV. 25th Barany Society Meeting, 2008, 3, 京都.
- ・Furuse H, Hagiwara A, Kawano A, Nishiyama N, Ogawa Y, Suzuki M: Vestibular function test result and postcochlear implantation vertigo. 25th Barany Society Meeting, 2008, 3, 京都.
- ・Hayashi M, Ogawa Y, Hagiwara A, Inagaki T, Yamada T, Yukawa K, Suzuki M: The subjective visual vertical after ear surgery. 25th Barany Society Meeting, 2008, 3, 京都.
- ・鈴木 衛: めまい診療と EBM. 半規管遮断術. 第 22 回日耳鼻専門医講習会, 2008, 11, 東京.
- ・鈴木 衛, 湯川久美子, 萩原 晃, 小川恭生, 永井賀子: 中耳・内耳同時造型三次元モデル作成の試み. 第 18 回日本頭頸部外科学会, 2008, 1, 京都.
- ・湯川久美子, 萩原 晃, 小川恭生, 北島尚治, 稲垣太郎, 中村珠理, 鈴木 衛: 両側特発性難聴と前庭障害を伴う内耳自己免疫病疑い例. 第 109 回日本耳鼻咽喉科学会, 2008, 5, 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 2 報). 第 109 回日本耳鼻咽喉科学会, 2008, 5, 大阪.
- ・清水重敬, 鈴木 衛, 大塚康司, 稲垣太郎, 許斐氏元, 長谷川 剛, 河口幸江, 北島尚治, 湯川久美子, 小川恭生: クブラの形態的変化 頭位性めまいの一病態の可能性. 第 109 回日本耳鼻咽喉科学会, 2008, 5, 大阪.

- ・古瀬寛子, 萩原 晃, 河野 淳, 西山信宏, 小川恭生, 鈴木 衛: 前庭機能検査と人工内耳後のめまい. 第 109 回日本耳鼻咽喉科学会, 2008, 5, 大阪.
- ・小川恭生, 稲垣太郎, 清水重敬, 萩原 晃, 湯川久美子, 林 麻美, 鈴木 衛: 良性発作性頭位めまい症 年齢による比較. 第 70 回耳鼻咽喉科臨床学, 2008, 6, 長崎.
- ・清水重敬, 湯川久美子, 萩原 晃, 小川恭生, 市村彰英, 稲垣太郎, 中村珠理, 許斐氏元, 林 麻美, 伊藤裕之, 富山俊一, 鈴木 衛: 両側前庭障害にみられた異常眼球運動と迷路破壊術後の経過. 第 67 回日本めまい平衡医学, 2008, 10, 秋田.
- ・浅沼 満, 伊藤裕之, 湯川久美子, 小川恭生, 國見ゆみ子: 両側聴覚前庭障害に対する体平衡訓練 (第 3 報). 第 67 回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 秋田.
- ・伊藤裕之, 國見ゆみ子, 浅沼 満, 湯川久美子, 小川恭生, 鈴木 衛: 両側内耳障害における機能訓練効果の客観的評価. 第 67 回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 秋田.
- ・大塚康司, 鈴木 衛, 清水重敬, 許斐氏元, 小川恭生, 林 麻美: 実験的にみた BPPV 頭位療法後の耳石塊の動態について. 第 67 回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 秋田.
- ・小川恭生, 林 麻美, 清水重敬, 西山信宏, 山田哲也, 河野 淳, 大塚康司, 萩原 晃, 鈴木 衛: 耳科手術後の自覚的視性垂直位 (Subjective Visual Vertical, SVV). 第 67 回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 秋田.
- ・北島尚治, 市村彰英, 大塚康司, 小川恭生, 清水重敬, 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 3 報). 第 67 回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 秋田.
- ・許斐氏元, 清水 顕, 本橋 玲, 鈴木 衛: 振動負荷による更年期や高齢モデルラットでの球形囊耳石の形態変化. 第 67 回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 秋田.
- ・北島尚治, 鈴木 衛: 音響性瞳孔反応解析によるめまい診断について. 第 54 回日本宇宙航空環境医学会大会, 2008, 11, 東京.

G. 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

めまいは、末梢の前庭障害のみならず、空間識の破綻によっても生じる。空間識は前庭覚に加え、視覚、体性感覚から複数の感覚が中枢で統合されて形成される。複数の感覚の関わりについて、①実験用サルに刺激を提示したときのニューロンの反応、②健常者において、電気刺激で前庭覚を錯乱して生じる、歩行の偏倚を測定し検討した。

①実験用サルの脳にタングステン針を刺入し、前庭刺激、視覚刺激、両者の同時刺激を加えた。ニューロンの反応から、頭頂連合野のMST領域において初めて前庭覚と視覚とが統合されて認知され、MT領域では、視覚は感知するが、前庭覚は感知されないことが明らかになった。

②健常者の左右耳間に微量の直流電流を通電しつつ、足踏み歩行させると、陽極側に体が偏倚した。理論的には、後頭部18度上方を軸とした回転感覚が電気刺激で誘発される。軸が上方に向くように、頸を前屈させると、偏倚角度がより大きくなった。通電により空間識が錯乱される可能性を考察した。

A. 研究目的

めまいは末梢前庭の機能異常で生じることが多いと考えられるが、めまいを「空間識の破綻によって生じる、ひとつの症状」と考えることもできる。空間識は視覚、前庭覚、体性感覚などの複合感覚である。前庭覚とその他の感覚の関わりについて検討した。

①前庭覚と視覚との関わりについては、サルの単一ニューロン記録から、両感覚が同時に知覚される脳の領域を同定し、相互作用（強め合うか、打ち消し合うか）を検討した。

②前庭覚の錯乱について、健常者の左右耳に直流電流を通電しつつ、足踏み歩行の偏倚角度を計算した。

B. 研究方法

①3次元を自由に動き回るプラットフォームに実験用サルを乗せ、コンピュータで動きを制御した（前庭刺激）。眼前には巨大なスクリーンを設置し、オプティックフロー（運動視覚）をプロジェクターより投影した（視覚刺激）。両刺激は連動し、体が右へ動くときに、視覚は左へ動いた。頭頂連合野のMST領域とMT領域とを同定し、タングステン針を刺入し単一ニューロン記録を行った。ニューロンの発火率から至適方向を算出し、前庭刺激の至適方向、視覚刺激の至適方向を比較した。刺激は、前庭覚のみ、視覚のみ、両者同時の3条

件を、回転運動、直進運動の2種類の運動で提示した。前庭覚単独の刺激の際は、注視点を投影、注視点もない完全な暗闇の2条件で比較した。

②健常者の両耳後部に心電図用電極を貼り、1mA以下の直流電流を通電した。電流量は痛みを感じない強さ（痛み閾値以下）で、最大でも1mAとした。被検者全員が1mAでは痛み閾値以下であった。通電中は遮眼で50歩の足踏み歩行を負荷した。頸を曲げない、前屈の2つの条件を、左右耳の陽極を交互に記録した。頭、手、腰に反射マーカーを貼り、運動解析システム（VICON社）で記録したマーカーの3次元位置情報から、足踏み前後の体の偏倚角度を計算した。

（倫理面への配慮）

実験動物については、ワシントン大学の動物実験倫理委員会にて承認されている。健常人については、群馬大学の生命倫理委員会にて承認され、インフォームドコンセントの後、同意を得られた人に行った。

C. 研究結果

①MST領域では、前庭刺激でも視覚刺激でもニューロンは発火した。89%のニューロンである一定方向への前庭刺激で、統計的に有意に発火し（ANOVA, $p < 0.05$ ）、前庭刺激に至適方向があることが明らかになった。MT領域で

は49%のニューロンのみにも前庭刺激の至適方向が確認された(注視点を投影)。MSTもMTも運動視覚の高次中枢で、視覚刺激にはほぼ100%反応する。前庭刺激の際には、前庭動眼反射によって、眼球は反対に動き、僅かな視覚刺激が網膜上には提示される。プロジェクターで注視点を投影した前庭刺激には、明るい周辺視野による視覚刺激が混入している可能性があるため、レーザーで遠くから注視点のみを提示した暗闇での前庭刺激を加えた。MSTニューロンでは前庭刺激による反応は、変わらなかったが、MTニューロンは前庭刺激に対する反応が、完全に消失した。よって、MTニューロンの前庭刺激の反応は、僅かな運動視覚刺激に反応したものと判明した。

②前方を向いた状態で通電しても、足踏み歩行による偏倚は見られなかったが、頸を前屈しつつ歩行すると、陽極側に体が回転した。健常被検者21名の平均値では、刺激なしで右へ22.1度、右耳陽極で右へ164.1度、左耳陽極で左へ218.4度であった。統計学的に群間比較を行い有意差があった(ANOVA, $p < 0.01$)。電流を強くすると、より偏倚角度が大きくなる傾向にあった。

D. 考察

①視覚情報は後頭葉の視覚第一次中枢に達した後、二つの経路に分かれ、一つは形や色の認知を(what経路)、もう一つは位置や動きの認知を(where経路)司る。動きの認知の最高中枢がV5、またはMST領域/MT領域と呼ばれ、頭頂連合野に存在する。両者の領域とも、動く視覚刺激(運動視覚)に反応するが、MTのニューロンは狭い視野に反応し、MSTは広い視野に反応し、MTが収束してMSTに至ると考えられている。MTは視覚のみにしか反応せず、MSTになって初めて、視覚も前庭覚をも認知する結果は、空間識には広い視野の動きが必要である点からも、矛盾がない。前庭入力をうける中枢の領域は数多く報告されているが、視覚と前庭覚の両方を認知している領域は、MSTにおいて他にはなく、空間識の認知にMSTが大きな役割を果たしていると推測される。

②左右両耳間の直流電気刺激で、各半規管の合力は「頭後方上18度を軸とする回転感覚」とするモデル研究の報告通りに、電流刺激下の足踏みで体が回転した。今まで、直流電流

刺激下での重心動揺についての研究は多く存在したが、頸を前屈して行った報告はない。前屈すると回転軸が上を向き、回転感覚がより強くなるとする理論は、今回の実験で確かめられた。しかし、電気刺激を左右の三半規管の合力のみで考えることには疑問が残る。耳石器や前庭神経自体の刺激も想定され、機序については今後の更なる研究が必要と思われる。

E. 結論

①MT領域には前庭覚の入力はなく、MST領域でのみ、前庭覚と視覚の両方の感覚を認知すると考えられた。

②両耳間に直流電気を通電しつつ、前屈して足踏みすると、陽極側に体が回転した。前屈せずに前方を向いて足踏みしても、偏倚はごく僅かだった。

F. 研究発表

1. 論文発表

・Chen A., Gu Y., Takahashi K., Angelaki DE., Deangelis GC.: Clustering of self-motion selectivity and visual response properties in macaque area MSTd. *J Neurophysiol*, 100:2669-2683, 2008.

2. 学会発表

・高橋克昌, 古屋信彦, Greg DeAngelis, Dora Angelaki: 前庭刺激と視覚刺激の頭頂連合野における感覚統合. 第109回日本耳鼻咽喉科学会, 2008, 5, 大阪.
・高橋克昌, 宮下元明, 岡宮智史, 齊藤彩子, 古屋信彦: 歩行中の電気刺激による回転感覚第67回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 秋田.

G. 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法の開発に対する基礎的検討として、マウスを用いたメニエール病の新しい動物モデルを開発した。この動物は内耳血流の低下により一過性の平衡障害を生じるモデルであり、その解析によりメニエール病のめまい発作の発症機序が明らかとなり、今後のメニエール病の病態の解明に大きく役立つものと考えられた。また、マウス内耳におけるTRPチャンネル28個すべての発現様式を今回、初めて明らかにすることができ、TRPチャンネルが内耳での様々な機能に関連しており、その異常が様々な病態を引き起こすことが解明され、今後の、メニエール病の病態の解明や治療法の開発の基礎になるものと期待された。

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、基礎的研究として、メニエール病の新しい動物モデルの開発、TRPチャンネルの内耳での局在、機能と病態との関連について検討した。

B. 研究方法

1) 新しいメニエール病動物モデルの作製

実験にはブライエル反射正常、8週齢のCBA/Jマウスを使用した。モデル動物の作製に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、アルドステロン 100 μ g/100g(体重)を腹腔内に1日1回、5日間連日投与した。動物は薬剤の最終投与終了1日後に左耳に1:10,000エピネフリン、または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、エピネフリン投与群では2時間後、SNP投与群では1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。

2) マウス内耳でのTRPチャンネルの局在

実験にはブライエル反射正常のCBA/Jマウス、8週齢(体重約20g)を使用した。動物はネンプ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、各種抗TRP抗体を用いて免疫染色を行い蛍光顕微鏡にて観察した。(倫理面への配慮)

実験に際しては広島大学動物実験等規則に従い、同委員会の承認(承認番号A06-149)を受けて行なった。

C. 研究結果

1) 新しいメニエール病動物モデルの作製

モデル動物にエピネフリンを投与したものではエピネフリン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たが、SNP投与群ではこのような変化は認められなかった。

今回開発したモデル動物は蝸牛に軽度から中等度の内リンパ水腫の発現を認め、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。

モデル動物にエピネフリンを投与した群では、血管条の細胞間隙は拡大し、空胞形成が認められ、ライスネル膜には著明な籐壁形成が認められた。SNP投与群ではこのような変化は殆ど認められなかった。内リンパ水腫の程度とライスネル膜の長さの変化では、エピネフリン投与群で内リンパ水腫の程度が有意に減少したが、ライスネル膜の長さには変化がなく、SNP投与群では内リンパ水腫の程度、ライスネル膜の長さのいずれにも変化は認め

られなかった。

モデル動物および SNP 投与群の前庭器では内リンパ水腫は殆ど認められなかったが、エビネフリン投与群では内リンパ腔の拡大が認められた。

内リンパ嚢ではエビネフリン投与群で内リンパ腔の軽度の拡張と granular cell の出現が認められたが SNP 投与群では内リンパ腔の拡大や狭小化は認められなかった。

2) マウス内耳での TRPV の局在とその変化 TRPV

蝸牛側壁では、血管条は TRPV2, 4, 5, 6, の局在が認められた。コルチ器では感覚細胞に TRPV1-5, 支持細胞に TRPV1, 2, 3, 4, 6 の局在が認められた。蝸牛神経節では TRPV1, 2, 3, 4, 5, 6 が神経節細胞に認められた。

前庭器では前庭感覚細胞に TRPV1-6, 暗細胞に TRPV2, 4, 5, 6, 前庭神経節に TRPV1-6 の局在が認められた。

TRPM, TRPA1

蝸牛側壁では、血管条に TRPM1, 2, 3, 6, 7, ラセン隆起に TRPM1, 2, 6, 7, ラセン靱帯は TRPM1, 2, 6, 7 の局在が認められた。コルチ器では感覚細胞に TRPM1, 2, 3, 6, 7, 8, 支持細胞に TRPM1, 2, 3, 4, 6, 7, 8 の局在が認められた。蝸牛神経節では TRPM1, 2, 3, 4, 6, 7, 8 が神経節細胞に認められた。また、蝸牛神経には TRPM8 が強く発現していた。

前庭器では前庭感覚細胞に TRPM1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 暗細胞に TRPM1, 3, 6, 7, 前庭神経節に TRPM1, 2, 3, 4, 6, 7, 8 の局在が認められた。

TRPA1 は蝸牛、前庭の神経に強い局在を認めたが、神経節細胞には認められなかった。

TRPC

蝸牛側壁では、TRPC3, 4, 5, 7 は血管条での発現が強く、TRPC1, 2, 6 は血管条、ラセン隆起、ラセン靱帯に局在が認められた。コルチ器では感覚細胞に、蝸牛神経節では神経節細胞に全ての TRPC の発現が認められた。また、蝸牛神経には TRPM8 が強く発現していた。前庭器では前庭感覚細胞、前庭神経節細胞に全ての TRPC の発現が認められ、前庭暗細胞に TRPC1, 3, 4, 5, 6, 7 の局在が認められた。

TRPML

TRPML の局在は TRPML1-3 でほぼ同一であり、血管条、内外有毛細胞、支持細胞、蝸牛神経

節に認められ、前庭器では感覚細胞、暗細胞、前庭神経節細胞で認められた。

TRPP

TRPP2 は蝸牛側壁で僅かな発現が認められ、コルチ器支持細胞、蝸牛神経節で発現が認められた。TRPP3 は主に血管条、蝸牛神経節で発現が認められた。TRPP5 は蝸牛神経節で弱い発現が認められるのみであった。前庭器では感覚細胞で TRPP2, 3 の発現が認められ、前庭神経節では TRPP2, 3 の発現が認められた。

D. 考察

1) 新しいメニエール病動物モデルの作製

内リンパ水腫は内リンパの吸収障害、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、管の閉塞により高率に内リンパ水腫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、内リンパの分泌過剰による内リンパ水腫として、コレラ毒素の蝸牛内注入やアルドステロン、バソプレッシンの全身投与により内リンパ水腫が発生す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、内リンパ水腫、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げられる。今回開発したモデルは内リンパ水腫の作製に、内リンパの分泌過剰と吸収障害の両者を用いておりエビネフリンの投与により一過性の平衡機能異常が生じ、メニエール病の病態の再現により適していると考えられた。今回このモデルでめまい発作の発現機序を検討した結果、エビネフリン投与後に、蝸牛では内リンパ腔容積の減少、前庭では一過性内リンパ水腫の形成が生じることが明らかとなった。このような変化は SNP 投与群では認められなかった。正常動物では内耳血流はエビネフリン投与で減少し、SNP 投与で増加するが、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、stainable substance 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といった代償機構が働いている。しかし、今回のモデル動物ではこの代償がうまく働かず、内耳血流が

低下したときに前庭器で一過性の内リンパ腔の拡大が起こり平衡障害が生じることが推察された。これまでの研究からは、内リンパ水腫が存在するのみではめまい発作は生じないと考えられており、側頭骨病理所見でも必ずしもすべてのメニエール病患者で内リンパ水腫が認められるわけではなく、反対に内リンパ水腫が生じているにもかかわらずメニエール病の症状がないものも報告されている。実際、メニエール病患者が常にめまいを起こしているわけではなくストレスなどを契機として発作性にめまいを生じる。

以上のことからメニエール病の病態を考えると炎症、免疫反応、内リンパ嚢形成不全など、様々な原因での内リンパ嚢での内リンパ液吸収不全や、ストレスによる内リンパの過剰産生などで内リンパ水腫が形成される。この状態のみではめまい発作は生じないものの、内リンパ圧の急激な変化、内耳血流の障害、膜迷路の破裂、透過性の亢進などの新たなストレスが加わることによりめまい発作を引き起こすというメカニズムが推察された。

2) マウス内耳での TRP チャネルの局在
これまでの研究から内耳には各種の TRP チャネルが存在することが報告されており、近年その機能についてもかなりのことがわかってきている。中でも TRPV については主として TRPV1-3 が感覚細胞の興奮伝達機構に関与し、TRPV4 (TRPV2) が内耳での水、イオンの恒常性の維持や感覚細胞での浸透圧受容に関与することが示唆されている。今回、これらに加えて内耳での他の TRP チャネルの局在を検討した結果、内耳には殆ど全ての TRP チャネルが発現しており、それぞれ様々な機能に関連していることが推察された。その主な役割として、TRPV5, 6 は内耳での Ca^{2+} の再吸収に関与し、TRPM については TRPM3, 6, 7 が水分や内リンパの恒常性の維持に、TRPM2, 3, 4, 6, 7, 8 が感覚細胞の受容機構に、TRPM2, 7 が細胞障害に関与し、TRPM8, TRPA1 は特に感覚細胞からの神経伝達に関与すると考えられた。また、TRPC については TRPC3 が外有毛細胞の運動性に関与することも報告されており、TRPC1-7 の殆どがほぼ似た分布形式をとることから内耳での感覚細胞の興奮伝達に関与することが推察された。

TRPML については TRPML3 の異常が難聴や前庭機能障害を引き起こすこと⁶⁾、TRPML1、

TRPML2 の分布が TRPML3 と同一であることから、主として TRPML3 が感覚細胞の発生、興奮伝達、内耳での水、イオンの恒常性の維持に TRPML1、TRPML2 と共同して働くと考えられた。

TRPP に関しては TRPP3 が内耳での内リンパの恒常性の維持に関与していると思われた。

さらに今回の結果から内耳では感覚細胞を始めとして様々な領域で複数の TRP チャネルが発現しており、例えば温度感受性チャネルとしての TRPV1-4、TRPM8、TRPA1 などは神経節細胞には全てが発現し、細胞容積の変化を受容する TRPV4、TRPM3、TRPP3 などは血管条に共存している。すなわち類似した機能を持つ TRP チャネルが複数存在していることは内耳での機能を複数で担っていることを示し、ひとつが欠損したとしても大きな機能障害が生じないようにしているという機構の存在が示唆された。今後は各チャネルの knockout マウスの研究と共に複数のチャネルの knockout マウスを用いた研究が必要と考えられた。

E. 結論

メニエール病の基礎的研究として新しいメニエール病動物モデルの作製を行い、マウスで内リンパ嚢に手術操作を加えず、内リンパ水腫を発現するモデルが開発できた。このモデルは内耳血流を低下させることにより一過性の平衡機能障害を惹起することができ、メニエール病のより理想的なモデルと思われた。また、内耳での TRP の局在とその機能について検討した結果、内耳では様々な部位で複数の TRP チャネルが発現しており感覚細胞の興奮伝達機構や内耳の内リンパ環境を維持するために働いていることが明らかとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Ishibashi T, Takumida M, Akagi N, Hirakawa K, Anniko M: Expression of transient receptor potential vanilloid (TRPV) 1, 2, 3 and 4 in mouse inner ear. *Acta Otolaryngol*, 128:1286-1293, 2008.
- Tanigawa T, Tanaka H, Hayashi K, Nakayama M, Iwasaki S, Banno S, Takumida M, Brodie H, Inafuku S: Effects of hydrogen peroxide on vestibular hair cells in the guinea pig: importance of cell membrane impairment preceding cell death. *Acta*

Otolaryngol, 128:1196-1202, 2008.

- Takumida M, Akagi N, Anniko M: A new animal model for Meniere's disease. Acta Otolaryngol, 128:263-271, 2008.
- Akagi N, Takumida M, Anniko M: Effect of inner ear blood flow changes on the endolymphatic sac. Acta Otolaryngol, 128:1187-1195, 2008.
- Ishibashi T, Takumida M, Akagi N, Hirakawa K, Anniko M: Changes in transient receptor potential vanilloid (TRPV) 1, 2, 3 and 4 expression in mouse inner ear following gentamicin challenge. Acta Otolaryngol, 129:116-126, 2009.
- Takumida M, Anniko M: Radical scavengers for elderly patients with age-related hearing loss. Acta Otolaryngol, 129:36-44, 2009.
- 大谷真喜子, 工田昌矢: 女性めまい患者の年齢期別臨床検討—若年期・更年期・老年期の比較—. Equilibrium Res, 67:130-140, 2008.

2. 学会発表

- Ohtani M, Hosoda Y, Nonoda T, Takumida M: The effects of menopause on equilibrium disorder disease. XXV Barany Society Meeting. April 1, 2008, Kyoto.
- Takumida M, Hirakawa K, Akagi N, Anniko M: Endolymphatic hydrops caused by treatment of aldosterone and/or lipopolysaccharide: A new animal model for Meniere's disease. XXV Barany Society Meeting. April 1, 2008, Kyoto.
- 石橋卓弥, 工田昌矢, 濱本隆夫, 立川隆治, 平川勝洋: GM 投与によるマウス内耳 TRPV の発現の変化. 第 109 回日本耳鼻咽喉科学会, 2008, 5, 16, 大阪.
- 工田昌矢, 大谷真喜子, 東稔由加里: 高齢者の感音難聴に対する抗酸化剤の治療効果. 第 8 回日本抗加齢医学会総会, 2008, 6, 6, 東京.
- 東稔由加里, 大谷真喜子, 野々田岳夫, 工田昌矢, 吉田智鶴子, 加藤恵美子, 細田泰男: 高齢者の平衡障害症例に対する足底刺激の試み. 第 8 回日本抗加齢医学会総会 2008, 6, 6, 東京.
- 大谷真喜子, 東稔由加里, 野々田岳夫, 工

田昌矢, 細田泰男: 70 才以上の高齢者平衡障害症例の臨床検討. 第 8 回日本抗加齢医学会総会, 2008, 6, 6, 東京.

- 工田昌矢, 石橋卓弥, 平川勝洋: マウス内耳での TRPM, TRPA1 の発現. 第 17 回日本耳科学会, 2008, 10, 17, 神戸.
- 工田昌矢, 平川勝洋: モデル動物からみたメニエール病の病態. 第 67 回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 30, 秋田.

G. 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

・65歳以上で新規発症した高齢発症メニエール病患者の発症誘因・聴力予後を検討した。発症誘因として、自己の健康喪失への不安感や家族の介護や看病による疲労を訴える症例が多くみられ、性格的に神経質で、几帳面な症例が多くみられた。70%の症例において、患側耳の最終聴力が初診時と比較して不変もしくは悪化した。一方、対側耳においてもメニエール病の両側化や加齢変化のために聴力が悪化する傾向が認められた。高齢者のメニエール病に対しては、高齢者特有のストレス源に対しても適切な生活指導を行う必要があると考えられた。

・新しい眼球運動解析システムと、ズレない赤外線 CCD カメラ付ゴーグルを開発した。本眼球運動解析装置は視標を見せてのキャリブレーションが不要で、眼球位置データを記録することができる。眼球位置データから自動で緩徐相だけを抽出し、緩徐相速度を求めることが可能である。本眼球運動解析装置は日常診療において ENG に代る眼球運動の定量的解析装置として臨床応用でき、めまい平衡医学の底辺の拡大が期待できる。

A. 研究目的

・厚生労働省前庭機能異常調査研究班によるメニエール病の疫学調査(2001年～2007年)では、メニエール病の好発年齢は男性で50歳代、女性は60歳代とされ、過去の疫学調査と比較すると、人口の高齢化を補正しても発症年齢が高齢化し、女性患者が増加していることが報告されている。

今回、当科を受診したメニエール病患者のうち65歳以上で新規発症した患者を対象に、高齢発症メニエール病患者の発症誘因・聴力予後を中心に検討を行った。

・我々は、赤外線 CCDカメラにより撮影された2次元の眼球画像から、頭部に固定された3次元固定座標における眼球運動の回転軸とその軸周りの回転角を解析できる眼球運動の3次元主軸解析法を開発した。

さらに、軽量で頭部に密着してズレのない赤外線 CCDカメラ付きのゴーグルを開発し、このゴーグルで得られた眼球運動の3次元主軸解析の結果は、サーチコイルの結果と同等の精度が得られている。

今回我々は、これらの技術を応用して簡便で定量的な新しい眼球運動解析システムを開発した。

B. 研究方法

・2000年から2007年までに当院めまい外来を

受診し、65歳以上で新規発症したメニエール病確実例のうち、6か月以上経過を追えた20例を対象とした。男性4例、女性16例、一側性メニエール病13例、両側メニエール病7例、平均観察期間は41か月(8-95か月)、平均発症年齢は71歳(65-80歳)であった。

・眼球運動の3次元主軸解析法では、一定の仮定のもと、瞳孔中心とある虹彩紋理の3次元座標を再構築する。そのため、従来のVOGのような指標を見せての校正が不要である点が特徴である。まず、赤外線 CCD カメラ付きのゴーグルを着用した暗所開眼のまま、被験者に任意で上下左右に眼球を動かしてもらい、眼球画像を得る。瞳孔を楕円近似し、楕円の短径の交点から眼球の回転中心を求めて3次元座標の原点とする。回転中心と瞳孔の楕円の長径、短径の比率から回転半径を求め、瞳孔中心の固定座標における3次元座標を求める。これで校正が終わる。校正にかかる時間は、眼球運動の記録に約10秒、その解析に約10秒である。

新しく開発したゴーグルを装着した被験者の眼振を赤外線 CCD カメラで撮影し、まず PC のハードでディスクに記録する。本眼球運動解析システムは日常診療で用いるため、眼球運動の水平成分、垂直成分のみを表示する。記録された20秒間の眼振を解析する時間は、約20秒である。さらに、眼球の位置データ

から眼振の急速相を除去し、緩徐相速度を求めるソフトも開発して搭載している。

(倫理面への配慮)

- ・解析に当たっては患者のプライバシーに配慮し、匿名化を行った。
- ・健康成人を被験者とし、インフォームドコンセントを得てから検査を行った。

C. 研究結果

・高齢発症のメニエール病患者における発症誘因として、自己の健康喪失への不安感や家族の介護や看病による疲労を訴える症例が多くみられ、性格的に神経質で、几帳面な症例が多くみられた。

患側耳の最終聴力像は、水平型や水平型+高音障害型が多くみられ、患側耳の最終聴力が初診時より不変もしくは悪化した症例は20例中14例(70%)であった。一方、対側耳においてもメニエール病の両側化や加齢変化のために聴力が悪化する傾向が認められた。

・本眼球運動解析システムで解析したある眼振の水平成分と垂直成分の位置データは、マニュアルで瞳孔のエッジを抽出し、抽出したエッジに楕円近似を行うことにより求めた同じ眼振の水平成分と垂直成分の位置データとよく一致していた。

本眼球運動解析システムで解析した同じ眼振の水平成分と垂直成分の速度データは、マニュアルで緩徐相と急速相を区別し求めた同じ眼振の水平成分と垂直成分の速度データと比較すると、一部に大きく離れたデータがあった。

D. 考察

・今回の高齢発症メニエール病についての検討において、高齢者が様々なストレス・悩みを抱えていることが明らかとなった。近年の人口高齢化に伴い、長期にわたり家族の介護が必要な高齢者や、健康の喪失に対する不安、いきがいの喪失、経済的不安などをもつ高齢者が増加している。また高齢者は疾患の罹患率が高く、リハビリによる改善効果が少ないことから、疾患に対するストレスが蓄積されやすい。このストレスがさらに他の疾患を誘発するという悪循環が形成される可能性がある。高齢者のメニエール病に対しては、高齢者特有のストレス源に対しても適切な生活指導を行う必要がある。

メニエール病はめまい疾患であるが、最終的に患者のQOLを障害するのは難聴である。我々は過去にメニエール病の長期聴力予後を検討し、めまい発作は発症4年目までに治まることが多く、初診時聴力が悪化している症例に高度進行症例が多いことを報告した。高齢者のメニエール病では、患側耳の進行した難聴に加えて対側耳にも加齢と思われる難聴を認め、両側耳の高度難聴になる可能性が高いことに注意が必要である。また、高齢発症メニエール病患者では、対側耳においてもメニエール病の両側化や加齢変化により、聴力が悪化する傾向にあることが明らかとなった。

・新しい眼球運動解析システムと、ズレない赤外線 CCD カメラ付ゴーグルを開発した。本眼球運動解析装置は視標を見せてのキャリブレーションが不要で、眼球位置データーを記録することができる。位置データーはマニュアルで求めた眼球位置データーをよく一致していた。

さらに、眼球位置データーから自動で緩徐相だけを抽出し、緩徐相速度を求めることが可能であるが、精度を高める必要がある。本眼球運動解析装置は日常診療において ENG に代る眼球運動の定量的解析装置として臨床応用でき、めまい平衡医学の底辺の拡大が期待できる

E. 結論

・高齢発症メニエール病について、発症誘因、聴力経過を中心に検討した。発症誘因として親族の看病や介護、健康の喪失に対する不安、孤独など高齢者に特有の悩みが多いことが明らかとなった。高齢発症メニエール病では、対側耳においてもメニエール病の両側化や加齢変化により、聴力が悪化する傾向が認められた。

・新しい眼球運動解析システムと、ズレない赤外線 CCD カメラ付ゴーグルを開発した。本眼球運動解析装置は視標を見せてのキャリブレーションが不要で、眼球位置データーを記録することができる。眼球位置データーから自動で緩徐相だけを抽出し、緩徐相速度を求めることが可能である。

本眼球運動解析装置は日常診療において ENG に代る眼球運動の定量的解析装置として臨床応用でき、めまい平衡医学の底辺の拡大が期待できる

F. 研究発表

1. 論文発表

- Imai T., Takeda N., Sato G., Sekine K., Ito M., Nakamae K. and Kubo T.: Changes in slow phase eye velocity and time constant of positional nystagmus at transition from cupulolithiasis to canalolithiasis of horizontal canal in patients with horizontal type of benign paroxysmal positional vertigo. *Acta Otolaryngol.* 128: 22-28, 2008.
- Imai T., Takeda N., Sato G., Sekine K., Itoh M., Nakamae K. and Kubo T.: Differential diagnosis of true and pseudo-bilateral benign positional nystagmus. *Acta Otolaryngol.* 128: 151-158, 2008.
- Ohyama S., Nishiike S., Watanabe H., Maysuoka K. and Takeda N.: Effects of optokinetic stimulation induced by virtual reality on locomotion: a preliminary study. *Acta Otolaryngol* 128: 1211-1214, 2008.
- Sato G., Uno A., Horii A., Umehara H., Kitamura Y., Sekine K., Tamura K., Fukui H. and Takeda N.: Effects of hypergravity on histamine H1 receptor mRNA expression in hypothalamus and brainstem of rats: implication for development of motion sickness. *Acta Otolaryngol.*, 2008, in press.
- Imai T., Takeda N., Ito M., Sekine K., Sato G., Nakamae K. and Kubo T.: Three dimensional analysis of benign paroxysmal positional nystagmus due to cupulolithiasis in posterior semicircular canal. *Acta Otolaryngol*, 2008, in press.
- 中上亜紀, 関根和教, 佐藤 豪, 武田憲昭: 回転性めまいで発症した若年性 Wallenberg syndrome の 2 症例. *Equilibrium Res* 67: 115-120, 2008.
- 佐藤 豪, 今井貴夫, 関根和則, 北村嘉章, 武田憲昭: 頸性めまいを訴えた Bow Hunter's stroke 例. *Equilibrium Res* 67: 301-306, 2008.
- 武田憲昭: 高齢者のメニエール病. *ENTONI*

87: 63-66, 2008.

- 武田憲昭: メニエール病. 今日の耳鼻咽喉科頭頸部外科治療指針. 第3版. 森山 寛, 岸本誠司, 小林俊光, 川内秀之編, 174-175, 医学書院, 東京, 2008.
- ### 2. 学会発表
- Sekine K., Nakagawa H., Sato G., Imai T. and Takeda N.: Efficacy of postural restriction in treated patient with benign paroxysmal positional vertigo. 25th Barany Society Meeting, 2008, 4, Kyoto.
 - Sato G., Umehara H., Horii A., Uno A., Kitamura Y., Sekine K., Tamura K., Fukui H. and Takeda N.: Effects of hypergravity on the expression of histamine H1-receptor mRNA in the rat brain. 25th Barany Society Meeting, 2008, 4, Kyoto.
 - Imai T., Takeda N., Sekine K. and Kubo T.: Three dimensional analysis of various type of benign paroxysmal positional nystagmus. 25th Barany Society Meeting, 2008, 4, Kyoto.
 - Takeda N.: Three-dimensional eye rotation axis analysis of benign paroxysmal positional nystagmus in patients with posterior canal type of BPPV. *Collegium Oto-Rhino-Laryngologium Amicitiae Sacrum*, 2008, 8, Berlin, Germany.
 - 佐藤 豪, 武田憲昭, 今井貴夫: 頸性めまいを訴えた Bow hunter's stroke 例. 第65回日本耳鼻咽喉科学会徳島県地方部会, 2008, 3, 徳島.
 - 武田憲昭: ランチョンセミナー. 高齢者のめまい. 第109回日本耳鼻咽喉科学会総会, 2008, 5, 大阪.
 - 今井貴夫, 武田憲昭, 関根和教, 佐藤 豪, 真貝佳代子, 久保 武: 良性発作性頭位めまい症の頭位変換眼振第二相の検討. 第109回日本耳鼻咽喉科学会総会, 2008, 5, 大阪.
 - 佐藤 豪, 宇野敦彦, 堀井 新, 北村嘉章, 関根和教, 田村公一, 武田憲昭: 過重力刺激によるラット脳内ヒスタミン H1 受容体発現への影響: 動揺病発症との関連. 第109回日本耳鼻咽喉科学会総会, 2008, 5, 大阪.
 - 北原 紘, 堀井 新, 久保 武, 奥村新一, 武

田憲昭，三代康夫，北原正章：内リンパ嚢
への高濃度ステロイド局所投与による難治
性メニエール病の無作為化比較試験。第
109 回日本耳鼻咽喉科学会総会，2008，5，
大阪。

- ・武田憲昭：耳鼻咽喉科検査の新しい展開：
平衡機能検査。日本耳鼻咽喉科学会第 22
回専門医講習会，2008，11，東京。
- ・今井貴夫，堀井 新，真貝佳代子，武田憲昭：
方向交代性上向性眼振を示す中枢性頭位め
まいと思われる一症例。第 67 回日本めまい
平衡医学会，2008，10，秋田。
- ・佐藤 豪，武田憲昭，関根和教：当科におけ
る高齢発症メニエール病について。第 67
回日本めまい平衡医学会，2008，10，秋田。
- ・関根和教，中川英幸，今井貴夫，佐藤 豪，
武田憲昭：アルコール性頭位眼振の 3 次元
主軸解析。第 67 回日本めまい平衡医学会，
2008，10，秋田。
- ・今井貴夫，御堂義博，関根和教，佐藤 豪，
中前幸治，武田憲昭：新しい眼球運動解析
システム。第 67 回日本めまい平衡医学会，
2008，10，秋田。

G. 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) メニエール病内リンパ嚢における水代謝関連分子：難治性メニエール病の診断で内リンパ嚢手術を行った症例より内リンパ嚢組織を採取し、抗利尿ホルモン受容体V2Rおよび水チャネルAQP2の遺伝子発現を検索した。メニエール病内リンパ嚢では、V2RおよびAQP2遺伝子の発現量が対照群に比して有意に上昇した。内リンパ嚢にV2RおよびAQP2遺伝子が過剰発現していることが一側メニエール病の発症の基礎的背景として重要と推察された。2) GE社製3テスラMRI装置を用いた内耳ガドリニウム造影画像：鼓室内に造影剤であるガドリニウムを注入する事で、Siemens社製MRI装置により内リンパ水腫を画像診断できるとの報告を踏まえ、同様の手技により、GE社製MR装置を用いた内リンパ水腫画像診断の可能性について検討した。GE社製MR装置でも内リンパ水腫の検出が可能で、メニエール病における内リンパ水腫陽性率は突発性難聴に比べ有意に高かった。3) タイトジャクソン構成分子の内耳機能への関与：内耳タイトジャンクションの形態とその構成分子について解析した。蝸牛・前庭感覚細胞のタイトジャンクションは、Claudin9、claudin14、tricellulin分子が複雑に結合し緻密なバリアー構造を形成することで、内耳のwater homeostasisにも関与すると推察された。4) 眼球運動3次元解析による中枢性頭位めまい症とクプラ結石症との鑑別：舌下神経前位核付近の小梗塞が原因で方向交代性上向き眼振を生じた症例では、頭位変換時の前庭動眼反射と逆向きの眼振が観察され、回転後眼振の向きと一致した。速度蓄積機構の構成要素である傍舌下神経核の障害により速度蓄積機構の時定数が延長し、回転後眼振の遷延が生じたものと推察された。

A. 研究目的

1) メニエール病は先進国のストレス社会において有病率が高いとされ、“Menierization is civilization”と称された。以来、メニエール病とストレスとの関連性に注目し、研究が進められてきた。竹田らはメニエール病とストレスを関連付ける具体的な因子として、視床下部一下垂体後葉から分泌されるストレス・ホルモンである抗利尿ホルモンに着目し、メニエール病患者の抗利尿ホルモンの血中濃度が対照群に比して有意に高いことを示した。さらに小動物を用いた実験系で、抗利尿ホルモンの腹腔内投与により内リンパ水腫および難聴を来すことを示した。今回われわれは、難治性メニエール病と診断され、内リンパ嚢手術を施行した症例に関して、内リンパ嚢組織を採取し、抗利尿ホルモン受容体であるV2Rおよび水チャネルの一つであるAQP2の遺伝子発現を検索した。

2) メニエール病の本体である内リンパ水腫の診断にはこれまでグリセロールテスト、フロセミドVORテスト、蝸電図検査などの生理学的検査が主として行われてきたが、最近内

リンパ水腫を画像的に診断する試みがなされるようになってきた (Nakashima T et al. 2007; Naganawa S et al., 2008)。これらの報告では、Siemens製MR装置を用い、鼓室内に造影剤であるガドリニウムを注入する事でFLAIR画像では外リンパ腔のみ造影され内/外リンパにコントラストが付き、内リンパ水腫を画像的に診断できると報告している。本研究ではGE製MR装置で同様の手技を用いて、内リンパ水腫の画像診断の可能性について検討した。本研究は大阪大学医学部附属病院臨床研究倫理審査委員会の承認のうえ施行した（承認番号07101）。

3) 内耳は、内リンパ腔と外リンパ腔と呼ばれる全く組成の違うコンパートメントから構成されており、また水代謝の破綻が原因の1つと考察されている内リンパ水腫という病態があるように、Water homeostasisが内耳の機能を維持するためには必須である。また、細胞間をシールする細胞接着装置であるタイトジャンクション（密着結合）がparacellular pathway（細胞間隙経路）を介して物質の移動

を制御していることが知られており、Water homeostasisにタイトジャンクションが深く関与しているものと考えられる。そこで、我々は内耳におけるタイトジャンクションの形態とその構成分子について検討した。

4) 方向交代性上向性眼振は外側半規管のクブラ結石により発症すると考えられている。今回我々は、舌下神経前位核付近の小梗塞が原因で方向交代性上向性眼振を生じたと考えられる症例を経験したので報告する。

B. 研究方法

1) 2004-2006年に大阪大学・耳鼻咽喉科を受診し、難治性と診断され内リンパ嚢手術を受けたメニエール病のうち、内リンパ嚢組織採取に同意した12例を対象とした。生体材料の使用に関しては、大阪大学医学部附属病院倫理委員会により承認を得た(承認番号:0424)。術中に得られた内リンパ嚢組織からtotal RNAを抽出し、V2RおよびAQP2遺伝子のプライマーを用いた定量PCR法により、内リンパ嚢組織におけるV2RおよびAQP2の遺伝子発現量を測定した。対照遺伝子として、housekeeping geneである β 2-マイクログロブリンを用いた。対照群は便宜上、聴神経腫瘍患者の内リンパ嚢とした。

2) 難治性メニエール病あるいは遅発性内リンパ水腫でゲンタマイシン鼓室内投与治療前の側性メニエール病6例、同側形遅発性内リンパ水腫症例4例、および突発性難聴で鼓室内ステロイド投与治療前の5例を対象とした。年齢は13-66才、男性5例、女性10例である。局麻下鼓膜切開後、8倍希釈したガドリニウム(オムニスキャン)を患側の鼓室内へ注入し1時間静置、GE社製3テスラMR装置(Signa Excite)を用い、約24時間後に中内耳を含む頭部のCISSおよびFLAIR画像を撮影した。得られた画像は、MRIcro、SPM2及びMATLAB上で動作する自作プログラムで解析した。

3) マウス内耳の外有毛細胞を凍結割断法にてタイトジャンクションの構造を観察した。タイトジャンクション構成分子として知られているclaudin 9、claudin 14、tricellulinについて蛍光免疫染色法により蝸牛および前庭の有毛細胞における発現分布を検索した。さらにclaudin9、claudin14については、免疫電顕法にてより詳細な発現分布を確認した。またclaudin9、claudin14、tricellulinを強

制発現したCOS-7 cellを使って、それぞれの分子の発現動態と分布、および凍結割断法により形態も観察した。さらに、co-culture法(種類の異なる2種類の遺伝子導入された細胞を混合して培養する)を用いてそれぞれの分子の結合パターンを検討した。

4) 症例は74歳男性である。臥位左右頭位で方向交代性上向性眼振を認めた。この症例、および典型的なクブラ結石症により方向交代性上向性眼振を示した症例の頭位、頭位変換眼振を記録し、我々の開発した眼球運動三次元解析システムにより、眼球運動解析を行った。

(倫理面への配慮)

1) 生体材料の使用に関しては、大阪大学医学部附属病院倫理委員会により承認を得た(承認番号:0424)。

2) 本研究は大阪大学医学部附属病院臨床研究倫理審査委員会の承認のうえ施行した(承認番号:07101)。

C. 研究結果

1) メニエール病の内リンパ嚢では、V2RおよびAQP2遺伝子の発現量が対照群に比して有意に上昇した。また内リンパ嚢におけるV2RとAQP2の遺伝子発現量の間、有意な正の相関を認めた。

2) CISS画像では内リンパ、外リンパとも高信号領域として捉えられ、両者を区別することは不可能であった。一方、FLAIR画像では全例注入側の内耳に造影効果が認められた。造影効果には疾患によって差があり、蝸牛中央階や半規管内リンパ腔など内リンパ腔と思われる部位が低信号を示し、内リンパ水腫を画像的に診断できる例が存在した。

メニエール病では6例中5例に、遅発性内リンパ水腫では4例中2例に、突発性難聴では5例中2例に明らかな内リンパ腔の拡大が認められた。メニエール病における内リンパ水腫陽性率は突発性難聴に比べ有意に高かった(χ^2 test, $p < 0.05$)。

3) 有毛細胞におけるタイトジャンクションは、Apical側ではparallel strand patternが形成され、その下部ではbranching strand patternを構成していた。また、3細胞が接合する部分においては、垂直方向のstraightなstrand patternが見られた。蝸牛においても前庭においてもclaudin 14の発現は、有毛細

胞の周囲のみでparallel strand patternを示していたapical側に限局していた。Claudin 9は、junction領域全体に広く発現していた。Tricellulinは、tricellular junction領域にのみ発現していた。強制発現したCOS-7 cellの系では、claudin 9、claudin 14、tricellulinいずれにおいても細胞の重なり合った領域においてそれぞれの分子が集中、集積していた。そして、claudin 14を強制発現した系では、有意にparallel strandを形成していた。Co-culture法では、claudin 14とtricellulinは、同部位に集積し共発現していたが、claudin 9とtricellulinに関しては、同部位に集積を示さなかった。

4) 当症例において座位から臥位へ頭位変換させると下眼瞼向きの眼振を認めた。臥位左向きから臥位正中へ頭位変換させると左向きの水平性眼振を認めた。臥位右向きから臥位正中へ頭位変換させると右向きの水平性眼振を認めた。臥位正中から座位へ頭位変換させると上眼瞼向き眼振を認めた。典型的なクブラ結石症と考えられる症例では臥位正中頭位では臥位正中への頭位変換の方法に関係なく、右向きの水平性眼振を認めた。

D. 考察

1) 解析結果から、元々何らかの原因で一側内リンパ嚢にV2RおよびAQP2遺伝子が過剰発現していることが一側メニエール病の発症の基礎的背景として重要であり、ストレスの非常に多い生活環境下で血中抗利尿ホルモン上昇を来した際、一側メニエール病を発症する可能性が示唆された。また内リンパ嚢におけるV2RとAQP2の遺伝子発現量の有意な正の相関は、腎臓と同様のV2R-cAMP-AQP2細胞内情報伝達系が内リンパ嚢にも存在していると推察された。

2) 従来のSiemens社製に加えGE社製MR装置でも、内耳ガドリニウム造影MRI法により内リンパ水腫を検出できることが示され、今後同法を用いた内リンパ水腫の画像診断がますます普及していくと思われる。メニエール病例で内リンパ腔の拡大を認める比率が突発性難聴例より高く、メニエール病の病態が内リンパ水腫であることを画像的に確認できた。病理解剖により内リンパ水腫を認めた例のみdefinite Meniere's diseaseと定義されているが、今後は内耳ガドリニウム造影MRIによる

内リンパ水腫検出例をdefinite例に加えることも検討してよいと思われる。これまで遅発性内リンパ水腫や突発性難聴例では高音部の難聴のため蝸電図による内リンパ水腫の検出が困難である例が多かった。このような例でも内耳ガドリニウム造影MRIは内リンパ水腫の診断に有用であると思われる。今後、突発性難聴や前庭神経炎、外傷例などメニエール病以外の内耳疾患でも内リンパ水腫が画像的に診断される例が出てくるとと思われるが、これらはおそらく二次性の内リンパ水腫であり、特発性内リンパ水腫であるメニエール病とは区別して認識する必要がある。

3) Claudin 9、claudin 14、tricellulin分子は、同分子同士ホモフィリックな結合を作ることが可能であり、strand patternは、それぞれ特徴的な模様を示していた。特にclaudin 14は、parallel strandを形成し有毛細胞のapical側に発現しており、バリアーとしての機能に強く関与していると推測される。また、tricellulinは、claudin 9とはヘテロフィリックな結合を作ることが出来ないが、claudin 14とは結合することが可能であると考えられる。

4) クブラ結石症の眼振は頭位変換眼振ではなく、頭位眼振であり、当症例の眼振はクブラ結石症では説明できない。当症例で観察された眼振は、頭位変換時の前庭動眼反射とは逆向きの眼振が観察され、回転後眼振の向きと一致した。

E. 結論

1) メニエール病の治療戦略として、日々のストレスを軽減させるような生活指導、心理療法、有酸素運動療法、水分大量摂取による抗利尿ホルモン値降下療法、さらには内リンパ嚢におけるV2R-cAMP-AQP2細胞内情報伝達系に対する遺伝子療法が期待される。今後の当研究班活動において進めていく予定である。

2) GE社製3テスラMR装置を用いて内耳ガドリニウム造影MRIにて内リンパ水腫の検出が可能であった。この方法は内リンパ水腫の画像診断に有用で、今後広く普及すると思われる。

3) 蝸牛および前庭の感覚細胞でのタイトジャンクションは、いくつかの異なる構成分子による数種類のサブドメインから形成されている。そして、それらのコンビネーションに

より感覚細胞周囲の緻密な構造が形成されバリアーとしての役割を果たしており、water homeostasisが保たれていると思われる。

4) 当症例の頭位変換眼振は、速度蓄積機構を形成する一部分である傍舌下神経核の障害により、臥位での速度蓄積機構の特定数が延長し、回転後眼振の遷延により生じたと考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Kitahara T., Doi K., Maekawa C., Kizawa K., Horii A., Kubo T., Kiyama H.: Meniere's attacks occur in the inner ear with excessive vasopressin type-2 receptors. *J Neuroendocrinol.*, 20:1295-1300, 2008.
- Kitahara T., Kubo T., Okumura S., Kitahara M.: Effects of endolymphatic sac drainage with steroids for intractable Meniere's disease: A long-term follow-up and randomized controlled study. *Laryngoscope*, 118:854-861, 2008.
- Imai T., Takada N., Sato G., Sekine K., Ito M., Nakamae K., Kubo T.: Changes in slow phase eye velocity and time constant of positional nystagmus at transform from cupulolithiasis to canalolithiasis. *Acta Otolaryngol.*, 128:22-28, 2008.
- Imai T., Takeda N., Sato G., Sekine K., Ito M., Nakamae K., Kubo T.: Differential diagnosis of true and pseudo-bilateral benign positional nystagmus. *Acta Otolaryngol.*, 128:151-158, 2008.
- Sato G., Uno A., Horii A., Umehara H., Kitamura Y., Sekine K., Tamura K., Fukui H., Takeda N.: Effects of hypergravity on histamine H1 receptor mRNA expression in hypothalamus and brainstem of rats: implications for development of motion sickness. *Acta Otolaryngol.*, 129:45-51, 2009.
- Maekawa C., Kitahara T., Horii A., Miyabe J., Kubo T.: Vestibular type of Mondini anomalies with BPPV and Meniere's disease-like symptoms. *Auris Nasus Larynx*, 2009, in press.
- 堀井 新:めまいの発症機序を考える:不安

障害/抑うつとの関与. *Equilibrium Res.*, 67:245-251, 2008.

- 宮部淳二, 北原 紘, 堀井 新, 前川千絵, 木澤 薫, 久保 武:メニエール病に対するイソソルビド液状とゼリー状の治療効果と服薬コンプライアンスの比較検討. *Equilibrium Res.*, 67:307-310, 2008.
 - 土井勝美:めまいの発症機序を考える:メニエール病の遺伝的素因. *Equilibrium Res.*, 67:222-227, 2008.
- ### 2. 学会発表
- 土井勝美, 大崎康宏, 久保 武:メニエール病および遅発性内リンパ水腫症例への両側鼓室内Gd注入MRI検査. 第67回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 秋田.
 - 堀井 新, 大崎康宏, 北原 紘, 土井勝美:鼓室内ガドリニウム注入MRIによる内リンパ水腫の画像診断. 第67回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 秋田.
 - 北原 紘, 前川千絵, 木澤 薫, 堀井 新, 土井勝美:ストレスとメニエール病発作. 第67回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 秋田.
 - 西村将彦, 柿木章伸, 土井勝美, 竹田泰三: Vasopressin投与によるラット血管条の形態変化について(第二報). 第67回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 秋田.
 - 大崎康宏, 工藤香児, Mikhail Kunin, Theodore Raphan, Catherine Cho, Bernard Cohen: 歩行速度と歩行率がトレッドミル歩行時の足の動きに与える影響. 第67回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 秋田.
 - 今井貴夫, 真貝佳代子, 堀井 新, 武田憲昭: 方向交代性上向性眼振を示す中枢性頭位めまいと思われる一症例. 第67回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 秋田.
 - 土井勝美, 川島貴之, 大崎康宏, 久保 武: メニエール病症状を呈した内リンパ囊原発奇形種の一例. 第18回日本耳科学会, 2008, 10, 神戸.
 - 西村将彦, 柿木章伸, 西岡利恵, 土井勝美, 竹田泰三: ラット内リンパ囊におけるAQPサブタイプ・V2-R・NKCCサブタイプの発現について. 第18回日本耳科学会, 2008, 10, 神戸.
 - 大崎康宏, 土井勝美, 川島貴之, 久保 武: 両側中耳Gd注入MRI検査での内耳造影効果

の検討. 第18回日本耳科学会, 2008, 10, 神戸.

- ・北原 紘, 堀井 新, 久保 武, 奥村新一, 北原正章: Endolymphatic sac drainage and steroid-instillation surgery for intractable Meniere's disease. 第18回日本耳科学会, 2008, 10, 神戸.
- ・堀井新, 北原紘, 久保武: Intratympanic gentamicin injection therapy for intractable Meniere's disease. 第18回日本耳科学会, 2008, 10, 神戸.
- ・北原 紘, 堀井 新, 久保 武, 奥村新一, 武田憲昭, 三代康雄, 北原正章: 内リンパ嚢への高濃度ステロイド局所投与による難治性メニエール病治療の無作為化比較試験. 第109回日本耳鼻咽喉科学会総会, 2008, 5, 大阪.

G. 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 前庭障害に対するロリプラム局所投与法の有効性を検討するために、正常動物に対して、ロリプラムの局所投与の影響を調べた。ロリプラムは、前庭機能、末梢前庭器の形態には大きな影響を及ぼさなかった。
- 2 熱ショック応答を誘導するテブレノンの経口投与が、前庭感覚細胞を障害から保護することができるかを検討した。テブレノンの経口投与によって前庭感覚細胞に熱ショック蛋白質を高発現させることが可能であった。また、テブレノン経口投与がネオマイシンの耳毒性より前庭感覚細胞を保護することが示された。
- 3 赤外線 CCD カメラの記録映像を画像解析ソフト ImageJ を用いて video-oculography (VOG) を行い、独自のマクロプログラムによる解析にて、めまい平衡医学会の平衡機能検査法基準化のための資料に基づいた眼振矢印の解析を試みた。Image J を用いた VOG における温度刺激検査の定量的評価を行い、従来の矢印による眼振表記について、客観的な結果として記録することが可能となった。

A. 研究目的

- 1) 前庭障害に対してロリプラムを局所投与薬物として使用できるかを、正常動物を用いて検討する。
- 2) 熱ショック応答を誘導するテブレノンの経口投与が、前庭感覚細胞を障害から保護することができるかを検討する。
- 3) Image J を用いた VOG における温度刺激検査の定量的評価を行い、従来の矢印による眼振表記について、客観的な結果として記録できるかを検討する。

B. 研究方法

- 1) プライエル反射正常、鼓膜正常なハートレイ系白色モルモットの雄を用いた。キシラジンとケタラルで全身麻酔を行い、耳後切開後に中耳骨胞を開放した。正円窓下に小孔を作成し、浸透圧ポンプを接続したカテーテルを留置した。浸透圧ポンプは皮下に留置した。術側は全て右耳とした。ロリプラムは、全身麻酔の影響が完全に消失した術後 12 時間から内耳に投与されるように、生理食塩水を満たしたカテーテルをポンプに接続した。術前と術後 12、24 時間、3 日に振子様回転刺激による VOR の観察を行った。回転刺激は、暗所下に最大角速度 60 degree/sec、周期 10 sec で 3 回連続の振子様回転刺激を行った。実験終了時、ネンブタール深麻酔下に、断頭し、

側頭骨を摘出後、膜迷路を採取して、外側半器官膨大部、卵形囊の形態学的変化を観察した。

- 2) 生後 4 週から 6 週の CBA/N マウスを用いた。テブレノン群は 4 週間、テブレノン 0.5% を含む飼料で飼育した。コントロール群は通常の飼料で飼育した。これら 2 群のマウスを以下の検討に用いた。

(1) Hsp70 の発現について

側頭骨を摘出し、TRIZOL 内で溶解し、mRNA を抽出した。Hsp70 mRNA の発現を RT-PCR にて検討した。

(2) 感覚細胞の保護効果について

- 2 群のマウスに対し、ペントバルビタールによる深麻酔下に無菌操作で両側の卵形囊を摘出し、培養液 (BME/EBSS 2:1 %v) に浮遊させた。有毛細胞死を誘導するために、1 mM のネオマイシンを加え、24 時間、CO₂ インキュベーター内で培養した。培養終了後、4%パラホルムアルデヒドで固定し、PBS で洗浄した後、シリンジポンプと 27G の注射針による水流にて卵形囊膜や耳石膜を除去し、感覚上皮を露出させた。試料を、ブロック液 (1% アルブミン、0.4% 正常ヤギ血清、0.4% 正常ウマ血清、0.4% Triton X-100 を含む) に浸した後、抗カルモデュリン抗体 (Sigma, 1:150)、抗カルビンディン抗体 (Chemicon, 1:250) に反応させた。2 次抗体として、Alexa 488 抗マウ