

ス Ig-G 抗体、Alexa 594 抗ヤギ Ig-G 抗体を用いて感覚細胞を標識した。洗浄後、スライドガラス上に封入し、蛍光顕微鏡下に単位面積あたりの残存有毛細胞数を評価した。

3) 赤外線反射ミラー式 CCD カメラで視標追跡中の眼球運動をハードディスク DVD レコーダーで録画し、パソコンに取り込んだ。瞳孔を認識し、Image J の校正用マクロプログラムでキャリブレーションを行い、角度あたりの画素数 (pixel/deg) を求めた。求めたキャリブレーション値を、解析用マクロプログラムに入力し、その後の解析を行った。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方法を試みた。眼振矢印の振幅と頻度は、次のような基準で分類した。振幅の分類は、眼振 1 打毎の平均振幅が 1 度未満であれば眼振なし、1 度以上から 4 度未満の場合は小打性、4 度以上から 7 度未満は中打性、7 度以上は大打性とした。頻度の分類は、振幅の分類で小打性以上と判定された場合において、1 秒毎の平均眼振数が 1 打未満であれば低頻打性、1 打以上から 3 打未満の場合は中頻打性、3 打以上は頻打性とした。解析結果から、矢印を用いて、水平・垂直・斜行性眼振と回旋性眼振を表示するようにした。

(倫理面への配慮)

本研究は、山口大学生命科学実験施設動物使用委員会において、動物使用計画書を審査され、妥当と判断されたものである。使用動物の苦痛除去、麻酔法を含め十分に検討されたものと考えている。

C. 研究結果

1) 術後 24 時間の時点で、一過性に投与側の VOR gain は低下する傾向を認めたが統計学的に有意な変化ではなかった。ロリプラム投与により、外側半器官膨大部、卵形囊には、明らかな組織学的変化を認めなかった。

2) Hsp70 mRNA はコントロール群においても発現を認めたが、テブレノン群において発現が上昇していることが示された。培養実験では、ネオマイシンによる前庭感覚細胞死にテブレノン経口投与がどのような影響を与えるかについて検討した。コントロール群のマウスより摘出した卵形囊では、24 時間後にカルモデュリン陽性有毛細胞、カルピンディン陽性有毛細胞共に細胞密度が減少していた。一方、

テブレノン群のマウスより摘出した卵形囊では、ほとんどの有毛細胞が残存していた。

3) 今回観察、記録できた眼振は、中打性、中頻打性で、右向きとやや下眼瞼向き成分を認める眼振であった。

D. 考察

1) ロリプラムは全身投与には用いにくい副作用があるが、内耳局所投与薬剤としては、正常動物に対して、前庭機能的、形態学的に大きな変化をきたさない可能性が示唆された。ロリプラムが、前庭神経節細胞での cAMP-CREB 系の活性化を引き起こすとすれば、末梢前庭障害時に局所投与薬として有効である可能性もあると考えた。

2) 生体が外部からのストレスに曝された際、細胞内には速やかに熱ショック蛋白質群が発現し、細胞を保護する方向に作用する。この熱ショック応答は熱ショック転写因子 (HSF1) に制御されており、HSF1 の活性化によって生体の熱ショック応答を誘導できることが明らかにされている。内耳においても熱ショック蛋白質の高発現が内耳を保護し、発現の調節に HSF1 が重要な役割を持つことを報告した。最近では、既に臨床に使用されている薬剤で HSF1 を活性化できることが報告されており、当施設でもテブレノンの全身投与が内耳に熱ショック応答を誘導できることを明らかにしている。ただしこれらの検討は聴覚に関するものであり、前庭感覚器については検討されていなかった。本研究の結果は、テブレノンの経口摂取によっても前庭感覚器を保護できることを示した。ただし、本実験のテブレノンの投与量は体重 kg あたり約 100 mg とヒトにおける臨床投与量の約 33 倍と推定される。臨床的に使用するには、製剤の工夫などが必要になるが、モルモットの実験では低用量で投与しても長期間投与すると内耳に熱ショック応答を誘導できることが明らかにされており、投与方法によっては常用量でも前庭感覚器に熱ショック蛋白質を高発現できる可能性がある。

3) ImageJ を用いた VOG により、コンピュータ解析の特性を生かして、簡便に解析、数値化することができ、客観的なデータとして記録することに役立つと考えられる。さらに日常診療で用いられる矢印による眼振表記においても、主観性を排除した客観的な結果を記

録できると考えられる。また複数の医師で行う外来において、一定の基準で記録を残すことが可能であり、さらに学生や研修医の教育にも役立てることも考えられる。

E. 結論

- 1) 正常動物に対して、ロリプラムの内耳局所投与は前庭機能、形態に大きな影響をきたすことは認められなかった。
- 2) 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) 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。

F. 研究発表

1. 論文発表

- ・橋本 誠, 山下裕司: 耳疾患と短期滞在手術難治性めまい症-ゲンタマイシン鼓室内注入法-. *JOHNS*24(8): 1151-1154, 2008.
- ・菅原一真, 山下裕司: 平衡覚の加齢とアンチエイジング. *アンチ・エイジング医学-日本抗加齢医学会雑誌* 4(5): 621-624, 2008.
- ・Y Hirose, K Sugahara, T Mikuriya, M Hashimoto, H Shimogori, H Yamashita: Effect of water-soluble coenzyme Q10 noise-induced hearing loss in guinea pigs. *Acta Oto-Laryngologica*, 128:1071-1076, 2008.
- ・T Arai, K Sugahara, T Mikuriya, Y Miyauchi, Y Hirose, M Hashimoto, H Shimogori, H Yamashita: The Free Radical Scavenger Edaravone Protects Hair Cells against Aminoglycoside Toxicity. *THE BULLETIN OF THE YAMAGUCHI MEDICAL SCHOOL* 55(1-2):15-20, 2008.
- ・T Mikuriya, K Sugahara, K Sugimoto, M Fujimoto, T Takemoto, M Hashimoto, Y Hirose, H Shimogori, N Hayashida, S Inouye, A Nakai, H Yamashita: Attenuation of progressive hearing loss in a model of age-related hearing loss by a heat shock protein inducer, geranylgeranylacetone. *Brain Res*, 1212:9-17, 2008.

2. 学会発表

- ・御厨剛史, 菅原一真, 広瀬敬信, 下郡博明, 山下裕司: 老人性難聴モデルに対する熱ショック応答増強剤の保護効果の検討. 第109回日本耳鼻咽喉科学会, 2008, 5, 大阪.
- ・広瀬敬信, 菅原一真, 御厨剛史, 橋本 誠, 下郡博明, 山下裕司: DBA/2Jマウスの進行性難聴に対する水溶性コエンザイム Q10 の効果. 第109回日本耳鼻咽喉科学会, 2008, 5, 大阪.
- ・下郡博明, 菅原一真, 宮内裕爾, 橋本 誠, 山下裕司: 前庭神経系の可塑性における前庭神経節細胞の役割. 第109回日本耳鼻咽喉科学会, 2008, 5, 大阪.
- ・折田浩志, 下郡博明, 御厨剛史, 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一過性末梢前庭機能亢進モデルの機序に関する検討. 第109回日本耳鼻咽喉科学会, 2008, 5, 大阪.
- ・宮内裕爾, 菅原一真, 橋本 誠, 新井紹之, 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109回日本耳鼻咽喉科学会, 2008, 5, 大阪.
- ・菅原一真, 御厨剛史, 広瀬敬信, 下郡博明, 山下裕司: 進行性難聴モデルマウス DBA/2J に対する内耳保護の試み. 東京アンチエイジングアカデミー, 2008, 6, 東京.
- ・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 による進行性難聴マウスの内耳保護の試み. 第8回日本抗加齢医学会総会, 2008, 6, 東京.
- ・菅原一真, 御厨剛史, 広瀬敬信, 下郡博明, 山下裕司: 薬剤を用いた DBA/2J マウスに対する内耳保護の試み. 第2回日本聴覚医学会聴覚アンチエイジング研究会, 2008, 7, 東京.
- ・菅原一真, 宮内裕爾, 広瀬敬信, 御厨剛史, 橋本 誠, 下郡博明, 山下裕司: 前庭感覚細胞死における Bcl-xL の役割. 第26回頭頸部自律神経研究会, 2008, 8, 大阪.

- ・広瀬敬信, 菅原一真, 御厨剛史, 中本哲也, 橋本 誠, 下郡博明, 山下裕司: 加齢における内耳熱ショック蛋白質発現の変化. 第26回頭頸部自律神経研究会, 2008, 8, 大阪.
- ・広瀬敬信, 菅原一真, 御厨剛史, 橋本 誠, 下郡博明, 山下裕司: コエンザイム Q10 の内耳保護効果に関する検討. 第53回日本聴覚医学会, 2008, 10, 東京.
- ・菅原一真, 御厨剛史, 橋本 誠, 広瀬敬信, 下郡博明, 山下裕司: 音響障害に対するエダラボンの保護効果と機序. 第53回日本聴覚医学会, 2008, 10, 東京.
- ・橋本 誠, 菅原一真, 広瀬敬信, 下郡博明, 御厨剛史, 山下裕司: 駆梅療法を行い, 長期間経過観察を行った内耳梅毒症例. 第53回日本聴覚医学会, 2008, 10, 東京.
- ・広瀬敬信, 御厨剛史, 菅原一真, 下郡博明, 山下裕司: 熱ショック転写因子の加齢性難聴への関わり. 第18回日本耳科学会, 2008, 10, 神戸.
- ・御厨剛史, 菅原一真, 広瀬敬信, 下郡博明, 山下裕司: マウス音響障害モデルの熱ショック応答の評価と系統間による誘導の違いの検討. 第18回日本耳科学会, 2008, 10, 神戸.
- ・中本哲也, 広瀬敬信, 御厨剛史, 菅原一真, 下郡博明, 山下裕司: 音響障害に対する内耳における炎症性サイトカインの発現について. 第18回日本耳科学会, 2008, 10, 神戸.
- ・菅原一真, 下郡博明, 宮内裕爾, 橋本 誠, 山下裕司: テブレノンによる前庭感覚細胞の保護効果. 第67回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 秋田.
- ・下郡博明, 豊田英樹, 橋本 誠, 菅原一真, 山下裕司: CREB リン酸化促進物質の一側内耳投与による前庭系への影響. 第67回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 秋田.
- ・宮内裕爾, 菅原一真, 橋本 誠, 新井紹之, 下郡博明, 山下裕司: 有毛細胞死抑制におけるミトコンドリアの変化. 第67回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 秋田.
- ・藤井博則, 橋本 誠, 菅原一真, 下郡博明, 山下裕司: 聴力の長期経過観察を行った特発性両側前庭機能低下症例. 第67回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 秋田.
- ・橋本 誠, 池田卓生, 藤井博則, 菅原一真, 下郡博明, 山下裕司: ImageJ を用いた video-oculography (VOG) における定量的評価の試み-第二報-. 第67回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 秋田.
- ・藤井博則, 橋本 誠, 広瀬敬信, 下郡博明, 山下裕司: 急性感音難聴で発症した, 小脳梗塞の一例. 第34回日本耳鼻咽喉科学会中国地方部会連合講演会, 2008, 12, 広島.
- ・橋本 誠, 菅原一真, 下郡博明, 御厨剛史, 山下裕司: 内耳梅毒と考えられた症例の長期経過観察. 第34回日本耳鼻咽喉科学会中国地方部会連合講演会, 2008, 12, 広島.

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

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍(平成20年度)

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
中川隆之, 伊藤壽一	第1章 治療を目的とした細胞治療 3) 胚性幹細胞 5) 聴神経	田畑泰彦 編	遺伝子医学 MOOK 別冊 進み続ける細胞移植治療の実際. 下巻 細胞移植治療の現状とその周辺環境	メディカル ドゥ	大阪	2008	
田浦晶子, 船曳和雄	視運動性眼振 (Optokinetic Nystagmus:OKN) 検査	加我君孝	臨床検査	医学書院	東京	2008	1455- 1459
肥塚 泉	平衡機能検査	肥塚 泉	すぐに役立つ外来耳鼻 咽喉科疾患のコツ	全日本病 院出版会	東京	2008	45-47
肥塚 泉	メニエール病	肥塚 泉	すぐに役立つ外来耳鼻 咽喉科疾患のコツ	全日本病 院出版会	東京	2008	298- 303
Suzuki M	Experiments of semicircular ampulla and BPPV mechanism.	Scherer H	Der Gleichgewichtssinn. Neues aus Forschung und Klinik	Springer - Verlag	Aust ria	2008	199- 205
清水重敬 鈴木 衛	良性発作性頭位め まい症	肥塚 泉	すぐに役立つ外来耳鼻 咽喉科疾患診療のコツ	全日本病 院出版会	東京	2008	291- 297
武田憲昭	メニエール病	森山 寛, 岸本誠司, 小林俊光, 川内秀之, 編	今日の耳鼻咽喉科頭頸 部外科治療指針. 第3 版	医学書院	東京	2008	174- 175
北原 紘	めまいの待合室	北原 紘	めまいの待合室	金原出版	東京	2008	1-122
A. Horii	Anti-motion sickness drugs.	(eds.)U. Windhorst M. D. Binder N. Hirokawa	Encyclopedia of Neuroscience	Springer		2009	in press

雑誌(平成20年度)

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Shojaku H, Watanabe Y, Yagi T, Takahashi M, Takeda T, Ikezono T, Ito J, Kubo T, Suzuki M, Takumida M, Takeda N, Furuya N, Yamashita H; Peripheral Vestibular Disorder Research Committee of Japan	Changes in the characteristics of definite Meniere's disease over time in Japan: a long-term survey by the Peripheral Vestibular Disorder Research Committee of Japan, formerly the Meniere's Disease Research Committee of Japan.	Acta Otolaryngol	129 (2)	155-160	2009
Shojaku H, Watanabe Y, Tsubota M, Katayama N	Evaluation of the vestibular evoked myogenic potential during parabolic flight in humans.	Exp Brain Res	187	477-481	2008
Junicho M, Aso S, Fujisaka M, Watanabe Y.	Prognosis of low-tone sudden deafness - does it inevitably progress to Meniere's disease?	Acta Otolaryngol	128	304-308	2008
Junicho M, Fushiki H, Aso S, Watanabe Y.	Prognostic value of initial electronystagmography findings in idiopathic sudden sensorineural hearing loss without vertigo.	Otol Neurotol.	29	905-909	2008
浅井正嗣	小児良性発作性めまい	小児内科	40(5)	834-835	2008
伏木宏彰, 渡辺行雄	注視眼振検査を指標とした末梢前庭障害の病状把握と急性期治療の検討	Equilibrium Res.	67	188-193	2008
Ikezono T, Shindo S, Sekiguchi S, et al	Cochlin-tomoprotein (CTP), a novel perilymph-specific protein and a potential marker for the diagnosis of perilymphatic fistula.	Audiol Neurootol.		in press	2009
Shindo S, Ikezono T, Ishizaki, Sekiguchi S, Mizuta K, Li L, Takumida M, Pawankar R, Yagi T.	Spatiotemporal expression of cochlin in the inner ear of rats during postnatal development.	Neurosci Lett.	444 (2)	148-152	2008
池園哲郎	診断におけるコクリンの意義と検査精度・診断精度	ENTONI	94	51-56	2008
池園哲郎	専門講座 外リンパ瘻	日本耳鼻咽喉科学会会報	111 (10)	676-679	2008

Nakagawa T, Ito J.	Local drug delivery to inner ear for treatment of hearing loss.	Current Drug Therapy	3	143-147	2008
伊藤壽一	高度難聴に対する内耳への薬物局所投与による臨床試験.	耳鼻臨床	101	1-4	2008
中川隆之	内耳疾患の治療をめざして—基礎研究の最前線 薬物の経正円窓投与	日本耳鼻咽喉科学会会報	111	655-663	2008
Nishimura M, Kakigi A, Takeda T, Takeda S, Doi K.	Expression of aquaporins, vasopressin type 2 receptor, and Na(+)-K(+)-Cl(-) cotransporters in the rat endolymphatic sac.	Acta Otolaryngol	Oct 7	1-7	2008 [Epub ahead of print]
Nishimura M, Kakigi A, Takeda T, Okada T, Doi K.	Time course changes of vasopressin-induced enlargement of the rat intrastrial space and the effects of a vasopressin type 2 antagonist.	Acta Otolaryngol	Oct 3	1-7	2008 [Epub ahead of print]
Takeda T, Takeda S, Kakigi A, Nishioka R, Nishimura M.	Decompression effects of erythritol on endolymphatic hydrops.	Auris Nasus Larynx	Jul 15		2008 [Epub ahead of print]
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	128 (8)	856-860	2008
Kakigi A, Nishimura M, Takeda T, Okada T, Murata Y, Ogawa Y.	Effects of gadolinium injected into the middle ear on the stria vascularis.	Acta Otolaryngol	128 (8)	841-845	2008
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	128 (8)	832-840	2008
Kakigi A, Nishimura M, Takeda T, Taguchi D, Nishioka R.	Expression of aquaporin1, 3, and 4, NKCC1, and NKCC2 in the human endolymphatic sac.	Auris Nasus Larynx	Jul 5		2008 [Epub ahead of print]
Takeda T, Kakigi A, Nishioka R, Taguchi D, Nishimura M.	Plasma antidiuretic hormone in cases with the early onset of profound unilateral deafness.	Auris Nasus Larynx	35(4)	493-499	2008
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	128 (3)	233-238	2008

肥塚 泉	高齢者のめまい診断におけるpitfall	ENTONI	87	56-62	2008
肥塚 泉	半規管機能検査 回転検査	臨床検査	52	1413- 1417	2008
肥塚 泉	専門家に送らないと実施できないめまい診療	レジデント ノート	10	417- 421	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
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
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 Research	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 Research	67	294- 300	2008
清水雅明, 小川恭生 萩原 晃, 鈴木伸弘 鈴木 衛	前庭神経障害、メニエール病、突発性難聴症 例における神経耳科的所見と前庭誘発筋電位 の比較検討	耳鼻咽喉科 展望	51	436- 441	2008

Chen A, Gu Y, Takahashi K, Angelaki DE, Deangelis GC	Clustering of Self-Motion Selectivity and Visual Response Properties in Macaque Area MSTd	Journal of neurophysiology	100	2669-2683	2008
Ishibashi T, Takumida M, Ajagi 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
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		in press	2008
Imai T, Takeda N, Ito M, Sekine K, Sato G, Nakamae K and Kubo T	3D analysis of benign paroxysmal positional nystagmus due to cupulolithiasis in posterior semicircular canal.	Acta Otolaryngol		in press	2008
島田亜紀, 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
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.	Journal of Neuroendocrinology	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, asis.	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, 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 紀, 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
Hirose Y, Sugahara K, Mikuriya T, Hashimoto M, Shimogori H, Yamashita H.	Effect of water-soluble coenzyme Q10 noise-induced hearing loss in guinea pigs.	Acta Otolaryngol	128	1071-1076	2008
Arai T, Sugahara K, Mikuriya T, Miyauchi Y, Hirose Y, Hashimoto M, Shimogori H, Yamashita H.	The Free Radical Scavenger Edearavone Protects Hair Cells against Aminoglycoside Toxicity.	THE BULLETIN OF THE YAMAGUCHI MEDICAL SCHOOL.	55 (1-2)	15-20	2008
Mikuriya T, Sugahara K, Sugimoto K, Fujimoto M, Takemoto T, Hashimoto M, Hirose Y, Shimogori H, Hayashida N, Inouye S, Nakai A, Yamashita H.	Attenuation of progressive hearing loss in a model of age-related hearing loss by a heat shock protein inducer, geranylgeranylacetone.	Brain Res	1212	9-17	2008
Orita H, Shimogori H, H Yamashita.	Unilateral intra-perilymphatic infusion of substance P enhances ipsilateral vestibulo-ocular reflex gains in the sinusoidal rotation test.	Neurosci Lett	449	207-210	2009
橋本 誠, 山下裕司	耳疾患と短期滞在手術 難治性めまい症-ゲンタマイシン鼓室内注入法-	JOHNS	24(8)	1151-1154	2008
菅原一真, 山下裕司	平衡覚の加齢とアンチエイジング	アンチ・エイジング医学-日本抗加齢医学会雑誌	4(5)	621-624	2008

IV. 研究報告

1. ラット前庭器におけるアクアポリンの発現について(第1報)

柿本章伸 (高知大)

[はじめに]

近年、内耳液の恒常性維持にアクアポリン(AQP)が深く関与していることが報告されている。内耳液は蝸牛血管条や前庭暗細胞にて産生されているとされるが、AQPの研究は蝸牛におけるものが多く、前庭器に関するものは少ない。今回、ラット前庭器におけるAQPの発現について、免疫組織化学的に検討したので報告する。

[対象と方法]

ウィスター系ラットを使用し、厚さ7 μ mの凍結切片を作成した。標本は1次抗体Chemi-Con社製抗ラットウサギ抗体である、抗AQP1抗体、抗AQP2抗体と反応させ、2次抗体Alexa 546ウサギヤギ抗体(A-11035、Molecular Probes, Inc.)と反応させた後、蛍光顕微鏡システム(AxioVision, Zeiss)を使用して観察した。画像処理として、微分干渉画像と重ね合わせた(AxioVision, Zeiss)。

[結果]

AQP1は前庭では支持細胞、半規管膨大部では支持細胞、移行上皮、暗細胞に分布していた(図1)。AQP2は前庭では支持細胞、暗細胞に、半規管膨大部では支持細胞、移行上皮、暗細胞に分布していた(図2)。

[考察]

水チャネル(AQP)特にAQP2は、抗利尿ホルモンによりその発現を制御され、腎臓においては水の再吸収に関与していることがわかっている。また、AQP1も腎において水代謝に深く関与していることがわかっている。蝸牛においてもAQP1、AQP2が血管条に存在することが認められている(1, 2)。今回の結果から、前庭および半規管においてもAQP1とAQP2蛋白の発現が見られたことは、蝸牛と同様に前庭と半規管膨大部も水代謝に関与していることを示唆する結果と考える。今後さらにAQPの詳細な分布様式を研究していく予定である。

[結論]

前庭と半規管膨大部にAQP1とAQP2の蛋白発現を認めた。同部位の水代謝への関与が示唆される。

[参考文献]

1. Sawada S, Takeda T, Kitano H, Takeuchi S, Okada T, Ando M, Suzuki M, Kakigi A: Aquaporin-1 (AQP1) is expressed in the stria vascularis of rat cochlea. *Hear Res* 181: 15-19, 2003
2. Fukushima K, Takeda T, Kakigi A, Takeda S, Sawada S, Nishioka R, Azuma H, Taguchi T.: Effects of lithium on endolymph homeostasis and experimentally induced endolymphatic hydrops. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 67: 282-288, 2005

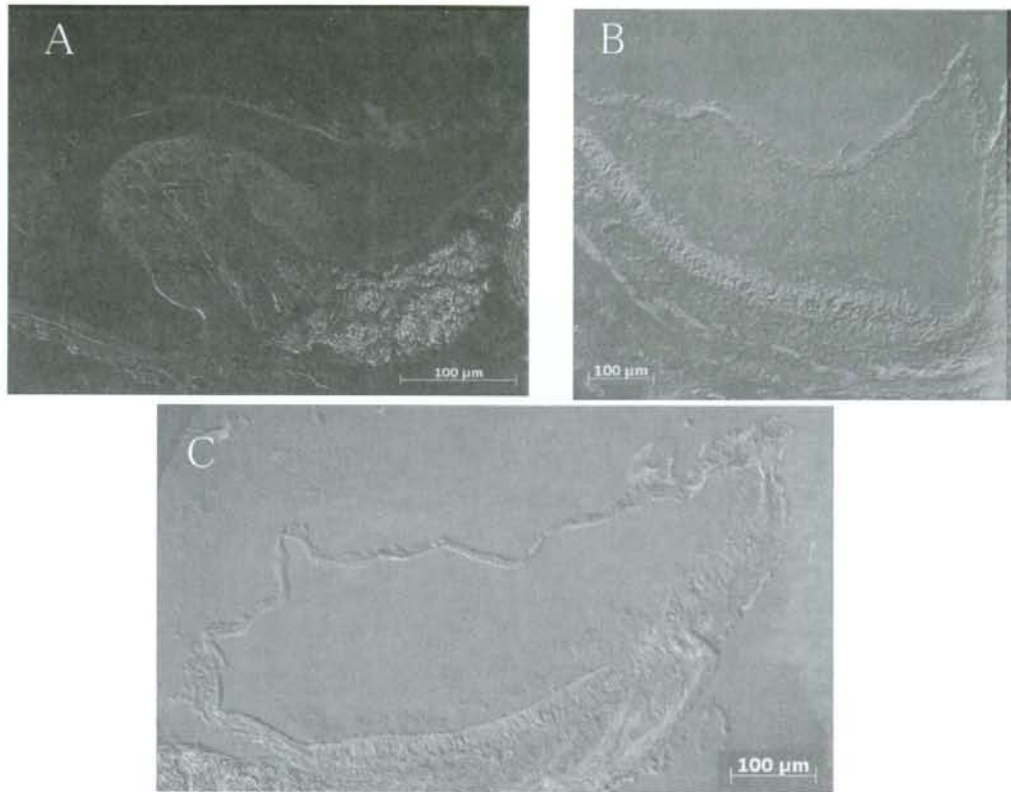


図1 AQP1の前庭半規管における発現

A:半規管膨大部、支持細胞、移行上皮、暗細胞にAQP1の発現を認める。B:球形嚢、支持細胞、骨膜にAQP1の発現を認める。C:卵形嚢、支持細胞、骨膜にAQP1の発現を認める

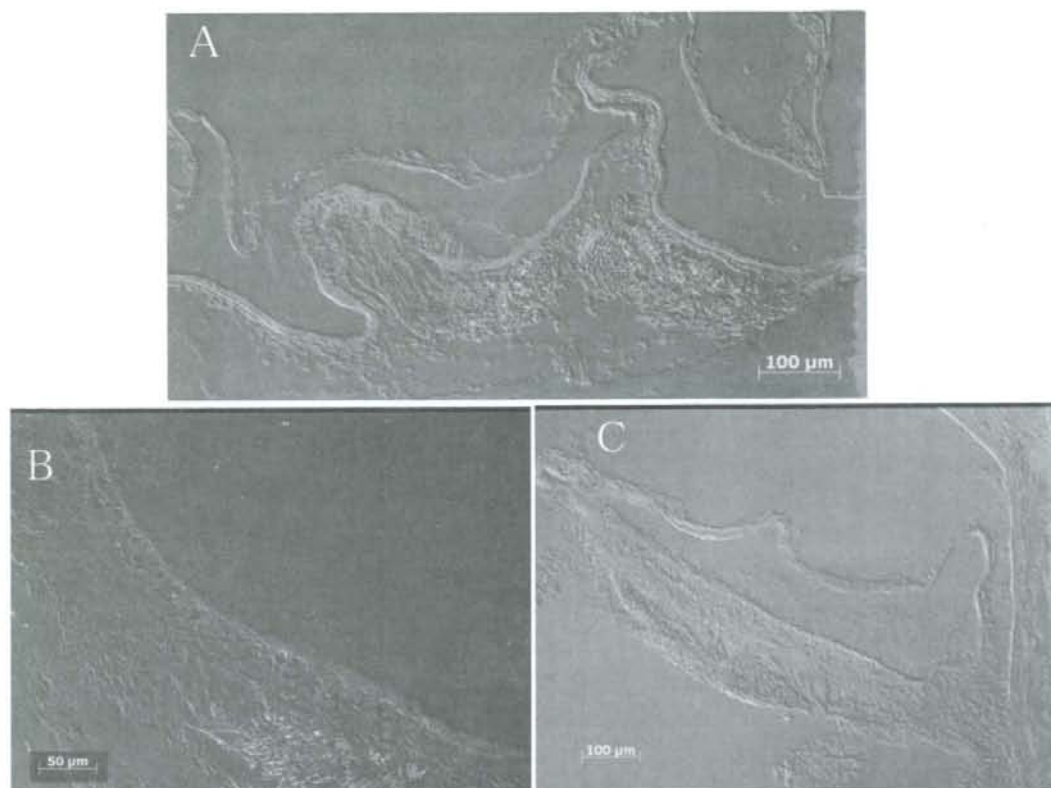


図2 AQP2の前庭半規管における発現

A: 半規管膨大部、支持細胞、移行上皮、暗細胞にAQP2の発現を認める。一部卵形嚢の暗細胞にもAQP2の発現が見られる。B: 球形嚢、支持細胞にAQP2の発現を認める。C: 卵形嚢、支持細胞、暗細胞にAQP2の発現を認める。

2. 内リンパ水腫動物における前庭機能について

柿本章伸 (高知大)

[はじめに]

近年、メニエール病の原因として抗利尿ホルモン—アキアポリン2系の関与を示唆する報告がなされている。動物実験では、内リンパ嚢・管閉塞術や抗利尿ホルモン投与により、モルモットに内リンパ水腫が形成される。しかし、これまでに、内リンパ水腫モデル動物を用いた前庭機能に関する研究は少ない(1)。今回、内リンパ水腫モデル動物における前庭機能と組織学的変化を検討したので報告する。

[対象と方法]

有色モルモット16匹を用い、4匹ずつ4群にわけた。内リンパ水腫モデル動物は、抗利尿ホルモンV2作動薬であるデスマプレッシン100 μ g/kgを皮下注(デスマプレッシン群)、内リンパ嚢・管閉塞術後1週間飼育(手術群)、および、この両者をあわせて内リンパ嚢・管閉塞術後1週間飼育したのちデスマプレッシン100 μ g/kgを皮下注(手術+デスマプレッシン群)して作成した。コントロールとして、生食を皮下注した動物(コントロール群)を用いた。前庭機能に関しては、暗所下で赤外線CCDカメラを用いて眼球運動を撮影し、自発眼振の有無を1時間観察した。組織学検討として、自発眼振観察後側頭骨を摘出し、HE染色を行い、光学顕微鏡にて内リンパ水腫の有無を検討した。

[結果]

デスマプレッシン群の1匹、手術+デスマプレッシン群の4匹に自発眼振を認めた。他の動物は自発眼振を認めなかった(表1)。

組織学的には、手術+デスマプレッシン群において蝸牛・前庭・半規管のいずれにおいても著明な内リンパ水腫を認めた。(図1)

[考察]

今回の結果から、正常動物に抗利尿ホルモンのV2作動薬であるデスマプレッシンのみを投与しても、内リンパ管・嚢閉塞術のみを行っても自発眼振はほとんど認められなかった。しかしながら、内リンパ管・嚢閉塞術後にデスマプレッシンを投与することによって全例自発眼振を認めた。このことは、単にストレスがあるだけでは抗利尿ホルモンが上昇してもメニエール病の発作は誘発されず、内リンパ嚢の機能不全に抗利尿ホルモンが上昇するとメニエール病の発作が誘発されることを支持する結果であった。実際、メニエール病患者の内リンパ嚢は正常と比べ小さく、機能不全があると考えられている(2)。さらに、メニエール病患者の血漿ADHは異常高値を示しており、めまい発作時にさらに上昇していることが報告されている(3)。本モデル動物は、これらのメニエール病の臨床像ときわめて類似していると考えられる。

[結論]

めまい発作発現機序として、内リンパ嚢の機能不全に抗利尿ホルモンの異常高値が加わり、めまいが誘発されていると考えられた。本モデル動物は、メニエール病の臨床像にきわめて類似したモデルと考える。

[参考文献]

1. Horner KC. Functional changes associated with experimentally induced endolymphatic hydrops. Hear

Res 68: 1-18, 1993

2. Takeda T, Sawada S, Kakigi A, et al.: Computed radiographic measurement of the dimensions of the vestibular aqueduct in Menière's disease. Acta Otolaryngol Suppl 528: 80-84, 1997
3. Takeda T, Kakigi A, Saito H: Antidiuretic hormone (ADH) and endolymphatic hydrops. Acta Otolaryngol Suppl (Stockh) 519: 219-222, 1995

	眼振あり	眼振なし
コントロール群	0	4
手術群	0	4
デスマプレッシン群	1	3
手術+デスマプレッシン群	4	0

表1 各群における自発眼振の有無



図1 手術+デスマプレッシン群に認められた内リンパ水腫

A: 蝸牛において第2、3回転を中心に著大な内リンパ水腫を認める。B: 球形嚢において著大な内リンパ水腫を認める。C: 半規管において著大な内リンパ水腫を認める

3. メニエール病内リンパ嚢における水代謝関連分子

北原 紀, 堀井 新, 前川千絵, 木澤 薫, 土井勝美 (大阪大)

[はじめに]

昭和49年の厚生省(当時)特定疾患メニエール病調査研究班のアンケート調査では、メニエール病は国際的に見ても先進国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(1)。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(2)。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(3)。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。

[対象と方法]

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。

[結果]

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には、有意な正の相関を認めた。

[考察]

以上の結果から、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。

[結論]

以上より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。

[参考文献]

1)Watanabe I: Ménière's disease with special emphasis on epidemiology, diagnosis and

prognosis-Review-. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 42: 20-45, 1980.

2) Takeda T, Kakigi A, Saito H: Antidiuretic hormone (ADH) and endolymphatic hydrops. *Acta Otolaryngol Suppl* 519: 219-222, 1995.

3) Takeda T, Takeda S, Kitano H, Okada T, Kakigi A: Endolymphatic hydrops induced by chronic administration of vasopressin. *Hear Res* 140: 1-6, 2000.

4. タイトジャンクション構成分子の内耳機能への関与

佐藤 崇 (大阪大, NIH/SCB), 土井勝美 (大阪大), Bechara Kachar (NIH/SCB)

[はじめに]

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。

[対象と方法]

マウス内耳の外有毛細胞を凍結切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、および凍結切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。

[結果]

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細胞が接着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。

[考察]

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。

[結論]

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