

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<sup>1)</sup>。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<sup>1)</sup>、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。今後、検討を加えてゆく予定である。

#### [結論]

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。

#### [参考文献]

1. 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 Research* 1212: 9-17, 2008.
2. Mikuriya T, Sugahara K, Takemoto T, Tanaka K, Takeno K, Shimogori H, Nakai A, Yamashita H. Geranylgeranylacetone, a heat shock protein inducer, prevents acoustic injury in the guinea pig. *Brain Research* 1065: 107-14, 2005.
3. Sugahara K, Inouye S, Izu H, Katoh Y, Katsuki K, Takemoto T, Shimogori H, Yamashita H, Nakai A. Heat shock transcription factor HSF1 is required for survival of sensory hair cells against acoustic overexposure. *Hearing Research* 182: 88-96, 2003.

図1

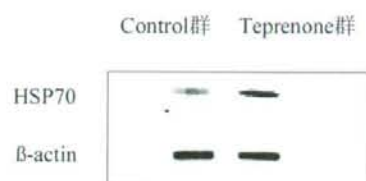
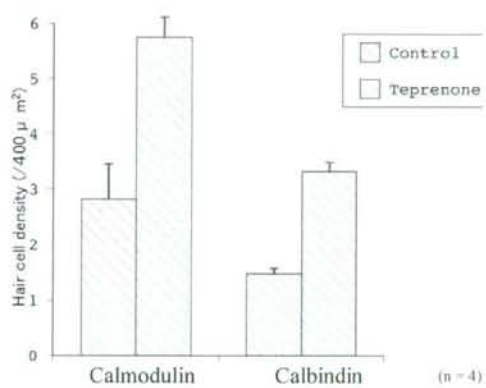


図2



## 10. ドラッグデリバリーシステムを用いた前庭有毛細胞再生戦略

田浦晶子, 小野和也, 中川隆之, 伊藤壽一 (京都大)

### [はじめに]

内耳前庭障害の主な障害部位の一つに有毛細胞が挙げられる。有毛細胞は薬物や巨大音暴露などにより感覚毛が消失し、障害を受けることが知られている。ほ乳類においては一旦有毛細胞が障害されると再生するのは非常に困難である。様々な治療方法が試されているが、その中でも遺伝子治療は有望視されているものの一つである。内耳は解剖学的に周囲組織より隔離されているので薬剤や遺伝子の局所への効果が期待でき、全身への影響が少ないという点で遺伝子治療にも非常に適しているとされている。しかし、現段階ではウイルスをベクターとする以外の方法では感覚上皮細胞への遺伝子導入は困難とされている。そこで我々は新しいドラッグデリバリーシステムとしてカチオン化ブルラン(ポリマー)を使用し、前庭耳石器へ遺伝子の導入を試みた。さらにEspin遺伝子についても過剰発現による効果を検討したので紹介する。

### [対象と方法]

マウス(P1-2)前庭耳石器を摘出し、ブルランと遺伝子を基材に固定し、その上で前庭耳石器を培養した(リバーストランスフェクション法)。培養後1-7日後まで観察し、GFP陽性細胞を計測した。さらにBrdUについても検討した。また前庭耳石器をゲンタマイシン(1mM 2days)にて障害後、Espin-Adenovirusを感染させてEspinの過剰発現の効果を検討した。さらにNotch inhibitorである $\gamma$ シクレターゼインヒビター(DAPT:30 $\mu$ M)を前処置し、その効果についても検討した。

### [結果]

カチオン化ブルランを用いた場合でも前庭耳石器にGFP陽性細胞を認めることが出来た。またそのGFP陽性細胞はBrdUでも陽性であったことより、主に支持細胞に感染したと考えられる。時間経過としては培養後3日目でピークに達し、一週間後でも同様であり、一組織辺りの感染細胞数の平均は7個であった。Atoh1遺伝子も導入可能であった。また障害後の前庭耳石器にアデノウイルスを用いてEspin遺伝子を導入すると、感覚毛が殆ど消失した上皮から新たに感覚毛様構造を認めることが出来た。DAPTの前処置にてさらに多くの感覚毛様構造を認めることが出来た。

### [考察]

遺伝子導入は有望な内耳治療の一つであるが、*vivo*へ応用可能なベクターとして、ウイルスではその毒性が、薬物では導入効率の低さが問題となっていた。従来の薬物による方法では細胞への遺伝子導入は可能であるが、組織への導入の報告は極めて困難である。カチオン化ブルランは安全で作成も容易であることより、ブルランによる遺伝子導入が可能になれば臨床応用も可能と考えられる。

### [結論]

カチオン化ブルランを用いて前庭耳石器への遺伝子導入が可能であった。また機能遺伝子Atoh1の導入により、支持細胞が有毛細胞へ分化した可能性が示唆された。さらにEspinの過剰発現は感覚毛の再生に有効であると考えられる。

[参考文献]

1. 城潤一郎、田畑泰彦 5. 多糖 原島秀吉、田畑泰彦編 ウイルスを用いない遺伝子導入法の材料、技術、方法論の新たな展開 株式会社メディカルドウ、2006、pp50-55.
2. Jo J, Nagaya N, Miyahara Y, et al. Transplantation of genetically engineered mesenchymal stem cells improves cardiac function in rats with myocardial infarction: benefit of a novel nonviral vector, cationized dextran. *Tissue Engineering* 2007 13(2): 3130322.
3. 中川隆之 内耳疾患の治療をめざしてー基礎研究の最前線 薬物の経正円窓投与 日本耳鼻咽喉科学会会報 111 655-663 2008.

## 11. ガッシャー噴出液は外リンパか？その生化学的解析

杉崎一樹, 池田哲郎 (日本医大), 関口沙登美 (三菱化学メディエンス), 新藤 晋 (日本医大),  
柿木章伸 (高知大), 関根久遠, 松田 帆, 八木聰明 (日本医大)

### [はじめに]

内・外リンパ液の産生・吸収メカニズムはまだ完全には解明されていない。このメカニズムの解明は、内耳疾患、とりわけメニエール病を始めとした内リンパ水腫疾患の病態解明に重要である。今回我々は、BO症候群による内耳奇形症例に人工内耳手術を行ない、開窓時に脳脊髄液ガッシャーを経験した。この噴出液を経時的に回収し、CTP 検出検査<sup>1)</sup>を施行したところ、非常に興味深い知見が得られたので、動物 (モルモット) 実験の結果と合わせて報告する。

### [方法]

その1: 両側高度難聴を呈したBO症候群の1例に対し、人工内耳手術を施行した際、蝸牛開窓時にガッシャーが生じた。このガッシャー噴出液を経時的に回収し、抗CTP抗体を用いたウェスタブロットによるCTP検出検査を行った。

その2: モルモット正円窓開窓後、同部位から経時的に採取した外リンパ、並びに大後頭孔より採取した脳脊髄液に対してCTP検出検査を行った。

### [結果]

その1: ガッシャー噴出直後の液体はCTP強陽性を示し、その後徐々にシグナルは減ってゆき、噴出後3分30秒まで陽性、その後は陰性となった。噴出後3分30秒までに回収した噴出液は10cc以上であった。噴出液の性状が、最初はCTP含有の外リンパであったが、徐々に髄液で希釈、置換され最終的にCTP非含有の脳脊髄液となったと考えられる。

この結果から、二つの重要な知見が得られる。一つは外リンパと脳脊髄液の異同に関してである。両者は電解質や種々の蛋白の濃度の違いはあるものの、ほぼ同じ液体であるとする説が以前からあるが、我々のこれまでのCTP発現特異性の結果は両者が異なるコンパートメントに存在し、蛋白生化学的にも異なる液体であることを示していた。この結果は外リンパ、脳脊髄液それぞれを別の個体から採取したサンプルを検査したものである。本研究では、同じ個体から、経時的に採取したガッシャー噴出液の検査で、我々の今までの結果と矛盾しない結果が得られており、両者の蛋白生化学的な違いをさらに明確にしたことを意味する。

もう一つは、ガッシャー発症メカニズムに対する示唆である。ガッシャーの原因として、外リンパ腔と脳脊髄液腔は内耳奇形によりすでに交通しており、開窓によりこれが噴出するという説と、開窓により内耳・脳脊髄液圧平衡が破綻し菲薄化した内耳道底を經由して脳脊髄液が内耳に流入するとする説がある。BO症候群による内耳奇形で生じた本症例のガッシャーでは後者の機序により発症したと考えられる結果であった。

その2: モルモットの外リンパでは、ヒトCTPの分子量付近(16kD)を中心に18, 16, 14kDaの3本のバンドが認められた。18, 16kDaのバンドは外リンパにのみ存在し、徐々に消失、最終的には14kDのバンドのみとなった。一方、モルモットの髄液では、14kDのバンドのみ確認した。ヒトではCTPは16kDaの一種類の蛋白として発現し、ヒト以外のほ乳類では、ウシ、ブタ、モルモット、ラットでこのように複数のCTPアイソフォームが確認されている。

この結果は2つのことを意味している。一つは、以前から指摘されている通り、モルモットでは蝸牛小管

の交通が良好で、正円窓開窓部から経時的に採取したサンプルは当初は外リンパであり徐々に脳脊髄液に置換されたと考えられる。もう一つは、種差についてである。CTP のアイソフォーム発現は、外リンパ、脳脊髄液で異なっており、コクリンアイソフォーム発現の種差について重要な示唆を与えると思われる。

#### [考察]

BO症候群は、その診断基準が確立し(表1)、原因遺伝子や、内耳・中耳にみられる奇形についても詳細な報告<sup>2)</sup>がなされている。本症例は、診断基準からBO症候群と診断され、CT所見ではBO症候群に特徴的とされる、蝸牛第二回転の低形成、内耳道底の菲薄化、蝸牛軸の低形成、漏斗型内耳道が認められた。

外リンパ腔と脳脊髄液腔は内耳道と蝸牛小管という二つのルートで交通する可能性が示唆されてきた。しかし、モルモットなどの齧歯類とは異なりヒトでは蝸牛小管はほとんど疎通性が無く交通していないとする説が有力である。一方、脳脊髄液は内耳道の底部にある蝸牛節状野(lamina cribrosa)から perineural・perivascular space を伝わり、蝸牛軸の微小な骨性経路を介して外リンパ腔と交通することが解剖学的に示されている。同部位にある trabecular meshwork で脳脊髄液が限外濾過<sup>3)</sup>され外リンパ産生に重要な寄与をしていると考えられている。

ガッシャー症例では、蝸牛節状野の欠損、菲薄化により内耳道を経由する経路の疎通性が異常に高まっていると考えられている<sup>4,5)</sup>。本症例の術前側頭骨CTにおいても、内耳道底の菲薄化がみられていた。今回のガッシャー噴出液の解析において、噴出当初の回収液はCTP 検出検査が陽性であり、その後経時的にシグナルが弱くなってゆき、最終的には陰性となった。外リンパと脳脊髄液のイオン組成、蛋白・アミノ酸濃度に違いがある<sup>6)</sup>ことは以前より報告されているが、外リンパのマーカーとなるような蛋白の存在を、同じ個体から経時的に採取したガッシャー噴出液で検査した報告は過去に無い。この結果は、両者が異なるコンパートメントに存在する蛋白生化学的に異なる液体であることをさらに明確にした。ガッシャー噴出液が10ml以上流出した後もCTP 検出検査が陽性になったという結果と、ヒト内耳の外リンパは一側150 $\mu$ l程度と考えられていることを合わせて考えると、噴出当初は鼓室に溜まっていた外リンパが検出され、その後に脳脊髄液により徐々にウオッシュアウトされたためにCTP 検出検査が陰性化したと考えられた。BO症候群による内耳奇形で生じた本症例のガッシャーでは、開窓により内耳・脳脊髄液平衡が破綻し菲薄化した内耳道底を経由して脳脊髄液が内耳に流入するとする説を支持する結果であった。

モルモットでは、外リンパ液と脳脊髄液は蛋白解析上異なるものであること、さらに種により異なる Cochlin アイソフォーム発現パターンを呈することが示された。

#### [結論]

脳脊髄液ガッシャーの解析は、内耳液の産生吸収のメカニズム、ひいては内リンパ水腫の形成のメカニズムについても重要な示唆をあたえるものと思われた。

#### [参考文献]

- 1) 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*. 2009 (in press)
- 2) Propst EJ, Blaser S, Gordon KA, Harrison RV, Papsin BC. Temporal bone findings on computed tomography imaging in branchio-oto-renal syndrome. *Laryngoscope*. 115(10):1855-62, 2005.
- 3) Rask Andersen H: Perilymph/modiolar communication routes in the human cochlea. *Ear and Hearing*:457-465, 2006.
- 4) Glasscock ME: The stapes gusher. *Arch Otolaryngol* 98:82-92, 1973.

- 5) Schuknecht. HF: Mondini dysplasia. A clinical and pathological study. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 89(suppl 65):3-23, 1980.
- 6) Evelyne Ferrary, Olivier Sterkers: Mechanism of endolymph secretion. *Kidney International* 53(suppl 65):s98-103, 1998.

表1

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/>

Branchiootorenal Syndrome Richard JH Smith, MD

Gene review より抜粋

Major Criteria	Minor Criteria
Second branchial arch anomalies	External auditory canal anomalies
Deafness	Middle ear anomalies
Preauricular pits	Inner ear anomalies
Auricular deformity	Preauricular tags
Renal anomalies	Other: facial asymmetry, palate abnormalities

Note: (1) Individuals with an affected family member need only one major criterion to make the diagnosis of BOR syndrome [Chang et al 2004]. (2) In the absence of structural renal anomalies, the clinical diagnosis of branchiooto syndrome (BO syndrome) should be considered.

In the absence of a family history, three or more major criteria OR two major and two minor criteria (see Table 1) must be present to make the following clinical diagnosis of branchiootorenal (BOR) syndrome [Chang et al 2004]:

## 12. 外リンパ瘻のマルチセンタースタディー —中耳外傷—

新藤 晋, 池園哲郎 (日本医大), 関口沙登美 (三菱化学メディエンス), 菅原一真 (山口大),  
桜井 努, 二宮 洋 (群馬大), 相馬啓子 (日本鋼管病院), 八木聰明 (日本医大)

[はじめに]

臨床で、耳かきで耳を刺した直後から激しいめまいや高度難聴が生じることですぐに診断される外傷性外リンパ瘻が存在する<sup>1)</sup>一方で、受傷直後には内耳障害が無い外傷性外リンパ瘻も存在する。例えば、受傷時は単なる外傷性鼓膜穿孔の所見しかなく、穿孔が閉鎖し一旦症状・所見が消失した後めまいや感音難聴が出現する症例では、突発性難聴やメニエール病等の診断で加療を受けている可能性がある。

今回われわれは、中耳外傷における外傷性外リンパ瘻の臨床像を明らかにする目的で、経外耳道性中耳外傷の患者の内、外リンパ瘻を疑いCTP検査を行った18症例につき検討を行った。

[対象と方法]

平成17年1月から平成20年12月までの4年間に外リンパ瘻を疑い、CTP検出法<sup>2)</sup>を行った経外耳道性中耳外傷の18症例について検討を行った(表1)。今回は、より客観的な外リンパ瘻診断を目的とするため、症例を当科のみに限定せず、他施設から検査依頼のあった中耳外傷症例4例も合わせて検討を行った。

[結果]

中耳外傷で外リンパ瘻が疑われた18例中、CTP陽性の症例は9例(50%)であった。これは2008年のめまい平衡医学会総会で当科の松田が報告した特発性外リンパ瘻を疑い、CTP検査を行った88例のうちのCTP陽性例8例(約9%)と比較して高率であった。

受傷機転別に分類して陽性例をみると、直達外力14例中、64%にあたる9例でCTP陽性であった。一方、介達外力4症例中、陽性例は存在しなかった。このため以下の検討では、直達外力のみの症例で検討を行った。

CTP陽性例と陰性例の治療前の平均骨導閾値を比較すると、陽性例(n=9)の平均値27.9dBに対し、陰性例(n=5)の平均値は32.7dBと明らかな差は認めなかった。

外リンパ瘻に特徴的な症状・所見の有無を検討する目的で、ある症状・所見が認められた症例数とその中でCTPが陽性であった症例数とその割合(陽性予測値、%表示)について検討を行った(表2)。最も陽性予測値が高い症状・所見は「CTで外リンパ瘻を疑う所見(迷路気腫もしくはアブミ骨の変位)を認める」であり、6症例中5症例の83%でCTP陽性であった。以下は「後上象限に鼓膜穿孔を認める」が78%(9症例中7症例)、「めまいを自覚」が70%(10症例中7症例)、骨導閾値上昇が67%(9症例中、6症例)、眼振ありが64%(11症例中、7症例)であった。一方外リンパ瘻を疑う症状・所見が無いCTP陽性例も存在した。「CTで異常所見が無い」、もしくは「骨導正常」にも関わらずCTP陽性であった症例は、それぞれ3例存在した。その他にも「鼓膜穿孔が後上象限に認められない」、「めまいの自覚が無い」、「眼振が無い」にも関わらずCTP陽性であった症例がそれぞれ2例存在した。外リンパ瘻を疑う症状・所見が乏しいにも関わらず、CTP陽性であった1例を呈示する。

症例1:9歳、男児。綿棒で耳かきをしていて受傷し、直後に当科を受診した。鼓膜穿孔は後下象限に認められた(図1)。めまいが無く、聴力検査も骨導正常であった。以上より、単なる外傷性鼓膜穿孔と思われたが、眼振検査で僅かな麻痺性眼振が認められたため、当日CTP検査を行ない、外来で経過観察を行った。その後CTP検査が陽性であることが判明したため、過度の運動や力みを禁止しながら慎重に経過観察を行っている。



H21年2月現在、受傷後2年が経過しているが、鼓膜穿孔は自然閉鎖し、内耳障害を示唆する症状・所見を一切認めていない。

受傷から検体採取までの日数と陽性例を見ると、10日以内の群は11例存在し、その内6例が陽性であったのに対し、11日以降の群は3例中3例とも陽性であった。受傷後8ヶ月以上経過した後にCTP検査を行いCTP陽性であった1例を呈示する

症例2：69歳、男性。H18年1月耳かきで左耳を受傷した。直後から左難聴、めまいを認めていた。頭位性めまいを反復するため、受傷8ヶ月後の同年9月に群馬大を受診した。CT検査で迷路気腫を認めたことから外傷性外リンパ瘻が疑われ、CTP検査を行ったところCTP陽性であった。手術ではアブミ骨の脱臼所見が認められたため、アブミ骨は摘出し、アブミ骨手術に準じてキヌタ骨にテフロンピストンを掛けて伝音再建をおこなった。術後聴力は不変であったが、長期間続いていた頭位性めまいは消失した。

#### [考察]

従来の外リンパ瘻診断は、確定診断する方法が無かったために主観的であった。その結果、外リンパ瘻自体を否定する意見と肯定する意見を持つ施設において、外リンパ瘻の診断率には大きなばらつきが生じている。CTP検出法は外リンパに特異的に含まれる蛋白質CTP (cochlin-tomoprotein) を中耳内で検出することにより、外リンパ瘻を客観的に確定診断する新しい外リンパ瘻診断法である。この技術を用いて、今まで不明な点が多い外リンパ瘻の臨床像を明らかにすることにより、さらに明確な外リンパ瘻の診療目標を設定するのが我々の目的である。今回は受傷機転がはっきりしており、外リンパ瘻の頻度も高いと推測される中耳外傷症例に焦点を当てて検討を行った。

まず明らかになったことは、中耳外傷による外リンパ瘻の頻度は高率であるということであった。以前、我々が特発性外リンパ瘻を疑ってCTP検査を行った88症例中、CTP陽性例は全体の9%にあたる8例のみであったが、今回、中耳外傷で外リンパ瘻を疑った全18症例のうち、CTP陽性であった症例は50%の9症例であった。また受傷機転により陽性率に違いがあることが示された。平手打ちのような介達外力でCTP陽性となった症例は1例も存在しなかったが、耳かき外傷のような直達外力ではCTP陽性例は高率に存在していた(14症例中9例の64%)。すなわち、介達外力で鼓膜穿孔が生じるほどの圧力が中・内耳に加わったとしても両内耳窓は破綻し難い反面、直達外力によりアブミ骨に直接外力が加わることで、輪状靭帯が損傷し、容易に外リンパの漏出をきたすことを示唆している。

またCTP陽性例の中には、骨導閾値が正常もしくは軽度のみ障害にとどまる症例や、めまいや眼振がない症例が存在した。この結果は、以前から動物実験で指摘されている、外リンパの漏出だけでは高度の内耳障害を呈さないという実験上の仮説<sup>3,5)</sup>が、ヒトにおける臨床研究で裏付けられたことになる。さらに、受傷後長期間もしくは間歇的に外リンパの漏出が持続する、慢性外リンパ瘻症例が存在することが明らかとなった。中には受傷8ヶ月以上経過後にCTP検査を施行し、陽性となった症例も存在した。この症例は受傷後長期間頭位性めまいが持続していることが外リンパ瘻を疑うきっかけとなった。受傷後めまいが持続していたり、聴力に変動を認める症例では、慢性外リンパ瘻を疑う必要があると考えられた。

#### [結論]

外傷性外リンパ瘻は診断が容易なものもあるが、受傷後しばらくは僅かな内耳障害しか呈さない症例や、経過によっては突発性難聴やメニエール病と誤診される症例も存在する。中耳外傷における外リンパ瘻の頻度は意外に多いことから、中耳外傷症例では、常に外リンパ瘻の可能性を念頭において診療に当たる必要性があると考えられた。

[参考文献]

- 1) 上村隆一郎, 川浦光弘: 耳搔きによる外傷性外リンパ瘻の1例. 耳鼻咽喉科展望, 38(6): 724-728, 1995.
- 2) 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*, 14, 2009 (in press)
- 3) 深谷卓, 野村恭也: 実験的正円窓破裂. *Audiology Japan*, 24: 152-155, 1981.
- 4) Simmons FB et al.: Round window injury; auditory behavioral and electrophysical consequences in the cat. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol*, 66: 715-722, 1962.
- 5) Weisskopf A et al.: Genesis of the round window rupture syndrome; some experimental observations. *Laryngoscope*, 88: 389-397, 1979.

## 対象

平成17年1月から平成20年12月までの4年間に外リンパ瘻を疑い、CTP検出法を行った経外耳道性中耳外傷の18症例

年齢:	平均38.6才(7~85才)	
性別:	男性 10人	女性 8人
患側:	右耳 7人	左耳 11人
受傷機転:	直達外力14人	耳かき 12人 その他 3人
	介達外力4人	平手打ち4人
受診機関:	日本医大付属病院 14人	
	他施設 4人	

受傷から検体採取までの期間 平均23.8日(2日~9ヶ月)

表 1

## 症状・所見から見たCTP陽性例 《直達外力症例のみの検討》

症状・所見	症例数	うちCTP陽性例 (陽性予測値%)
CTで迷路気腫・アブミ陥入	6例	5例(83%)
後上象限に鼓膜穿孔	9例	7例(78%)
めまいを自覚	10例	7例(70%)
骨導閾値上昇	9例	6例(67%)
眼振あり	11例	7例(64%)

表 2



図1: 症例1の受傷直後の鼓膜写真

### 13. MST野は前庭覚入力を受けるが、MT野は受けない

高橋克昌, 古屋信彦 (群馬大),

Dora Angelaki (Washington Univ.), Greg DeAngelis (Rochester Univ.)

[はじめに]

視覚情報は後頭葉の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。動く視覚刺激 (運動視覚、オプティックフロー) に反応することが分かっている。近年、MST野は視覚に反応するのみならず、前庭覚の入力を受けるとする研究が報告された (Takahashi K., et al., 2007)。近接するMT野においても、前庭覚の入力をうけるか検討した。

[対象と方法]

実験用サル3匹を対象にした。3次元を自由に動き回るプラットフォームにサルを乗せ、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、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。

[結果]

MST領域では、89%のニューロンがある一定方向への前庭刺激で、統計学的に有意に発火し (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前庭刺激の至適方向が確認された (注視点を投影、図1左)。MSTもMTも運動視覚の高次中枢で、視覚刺激にはほぼ100%反応した (図1右)。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、注視点のみレーザーで投影した暗闇での前庭刺激を検討した。MTニューロンでは、暗闇での前庭刺激による反応が完全に消失した (図2)。対してMSTニューロンは、暗闇での前庭刺激にも反応した (図3)。更には、レーザー注視点をも消して完全な暗闇での前庭刺激でも、半数以上のニューロンで至適方向を持った反応が認められた。MSTが前庭入力を受ける確証に、三半規管破壊手術前後で同じ実験を行った。手術前に89%認められたMSTにおける前庭刺激に対する反応は、手術後には完全に消失した。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のだが、MSTニューロンは、真に前庭刺激によって反応するものと判明した。

[考察]

MT野は、僅か数度 (2-5度) 四方の狭い視野における運動視覚に反応する。各ニューロンは秩序正しく階層をつくって配列し、右への視覚刺激に反応するニューロン、左への反応ニューロン、上、下、斜め下への反応ニューロンなどが群をなしている。対してMST野は60度から100度超の広い視野におけ

る運動視覚に反応する。逆行性トレーサーによる解剖組織的な検討により、MT野からの入力を受けることが分かっており、MT野からの狭い視野の刺激が集まって、ある一方向に視野全体が動く時に反応するMSTニューロンが形作られると考えられている。今回の実験で、広い視野の動きに反応するMSTニューロンのみ、前庭覚にも反応することが確かめられた。広い視野全体が動いて初めて、「自分が空間の中を動いている」という空間識が生まれるはずであり、MSTで初めて視覚と前庭覚が出会い、感覚として統合されるのは理屈にかなっていると思われる。

前庭覚の入力を受けると報告されている中枢の部位は数多くあれど、視覚と前庭覚とを両方とも認知しているのはMSTのみであり、空間識の形成にはMSTが大きな役割を果たしていると推測される。

#### [結論]

運動視覚の高次中枢であるMST/MT領域だが、MSTは前庭覚にも視覚と同時に反応する。対してMTは視覚には反応するが前庭覚には反応しない。

#### [参考文献]

1. Takahashi K, Gu Y, May PJ, et al. Multimodal coding of three-dimensional rotation and translation in area MSTd: comparison of visual and vestibular selectivity. *J Neurosci* 2007;27:9742-56.
2. Chen A, Gu Y, Takahashi K, et al. Clustering of Self-Motion Selectivity and Visual Response Properties in Macaque Area MSTd. *Journal of neurophysiology* 2008;100:2669-83.

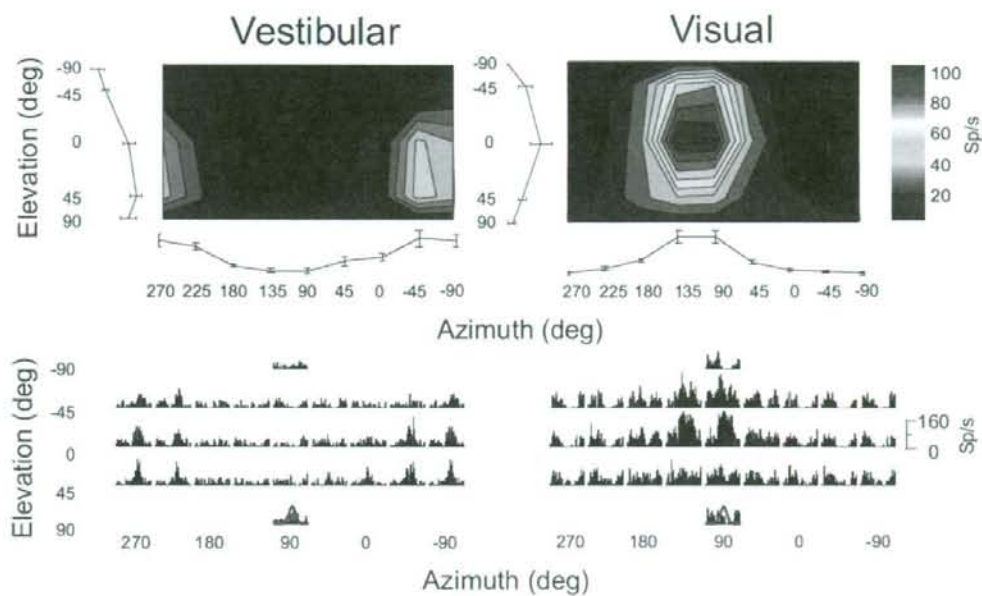


図1 MTニューロンの前庭覚（左）視覚（右）に対する反応  
前庭覚には-90度方向近く、視覚には+90度に至適方向がある。

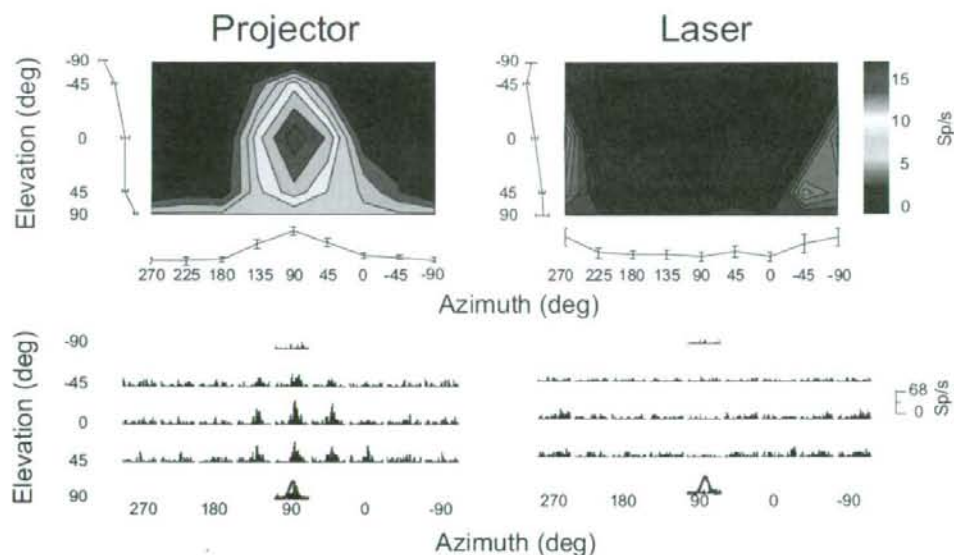


図2 MTニューロンの前庭刺激反応における周辺視野の明るさの影響  
プロジェクターで注視点を投影（左）すると、周囲が明るいので視覚による反応が生じるが、暗闇で注視点を遠くから投影（右）すると、反応は消失する。

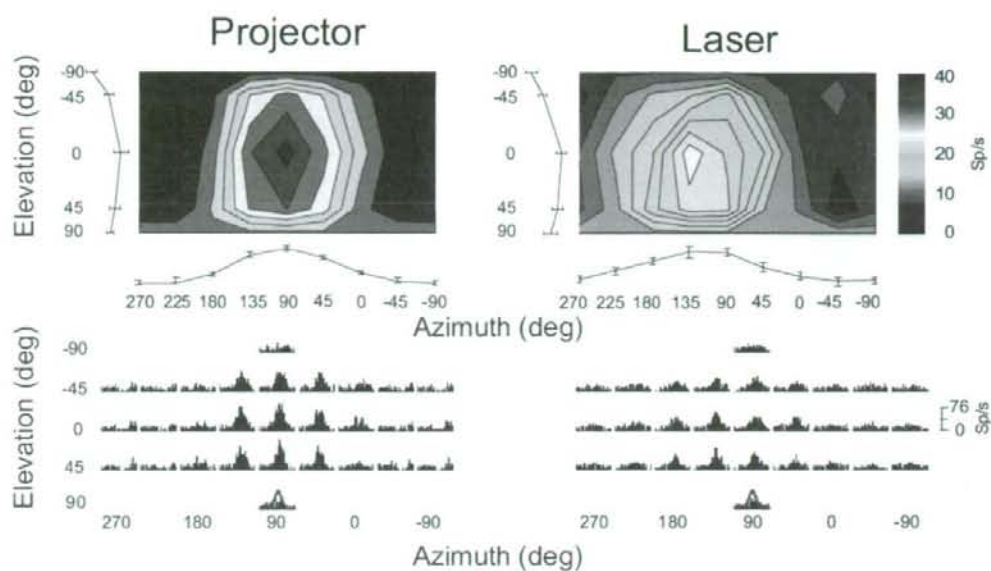


図3 MSTニューロンの前庭刺激反応における周辺視野の明るさの影響  
 MTと異なり、暗闇での注視（右）でも、明るい視野での注視（左）と同じように反応がみられる。

## 14. 電流刺激による回転感覚

宮下元明, 高橋克昌, 古屋信彦 (群馬大)

[はじめに]

モデル理論から計算すると、左右の耳に加えられた直流電気刺激により、三半規管で出力される合力は、頭の後上方18.8度を軸とした回転感覚で感じられると報告された (Day and Fitzpatrick, 2005)。この軸を重力方向に一致、すなわち頭を前屈もしくは後屈すると、その回転感覚が強く感じられ、通電したまま前屈して歩行すると、陽極側に偏倚したという興味深い報告もなされた (Fitzpatrick et al, 2006)。この現象を、前庭機能の評価へ応用できないか検討した。同論文のように、数十メートルの長い距離を歩行させるのは、病院の広さから制限があるので、足踏み検査と組み合わせて行うことを考えた。

[対象と方法]

健康成人21人を対象にした。両耳後部に心電図用電極を貼り、両耳に直流電流 (ガルバニック刺激) を流した。電流の強さは痛みを感じない最大閾値で、最大でも1mAを越えないように調整した。頭を前屈し、遮眼で1秒間に1歩の頻度で50歩、電気刺激なし、右耳を陽極、左耳を陽極の3つの条件で繰り返し足踏み歩行を行った。頭、手、腰に反射マーカを貼り、赤外線ビデオ方式の3次元モーションキャプチャーシステム (VICON社) で毎秒60枚の画像を取り込み、オフライン解析を行った。空間内におけるマーカ位置情報をコンピュータで解析し、足踏み前と後での被検者の回転角度を計算した。

[結果]

電気刺激なしでは、左右への偏倚は僅かだが、右耳陽極では右へ、左耳陽極では左へ大きく偏倚した。21人の平均の回転角度は、刺激なしでは左へ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 (図1)。前屈なく、正面を向いた状態での足踏み歩行では、通電してもその偏倚は60度以内で、刺激なしとの差が小さいが、前屈した状態での偏倚角度は大きく180度近く回った (図2)。電流値を0.1mAから1.0mAまで変化させると、比例して回転角度が大きくなった。

[考察]

直流電流刺激下での重心動揺については盛んに研究され、臨床応用もされてきた。しかし、調べ得た限りでは、頭を前屈する体位で試みた報告はない。多くは正面を向いた状態で行われていた。前屈すると回転軸が鉛直上方向を向き、回転感覚がより強くなるとする理論は、今回の実験でも確かめられた。長い距離を歩行する代わりに、足踏み検査として施行できたので、臨床応用の可能性もある。

今回は前屈のみで検討した。理論的には後屈でも回転軸は反対の下を向き、回転方向が反転するはずである。しかし、後屈での歩行は不安定で、検査に応用した場合に転倒の危険があると判断し、検討対象から外した。

[結論]

両耳間に直流電流を通電しつつ、前屈して足踏みすると、陽極側に体が回転した。前屈せずに正面を向いて足踏みしても、偏倚は僅かだった。電流量に比例して回転角度が大きくなった。

[参考文献]

1. Day BL, Fitzpatrick RC. Virtual head rotation reveals a process of route reconstruction from human vestibular signals. *The Journal of physiology* 2005;567:591-7.
2. Fitzpatrick RC, Butler JE, Day BL. Resolving head rotation for human bipedalism. *Curr Biol* 2006;16:1509-14.



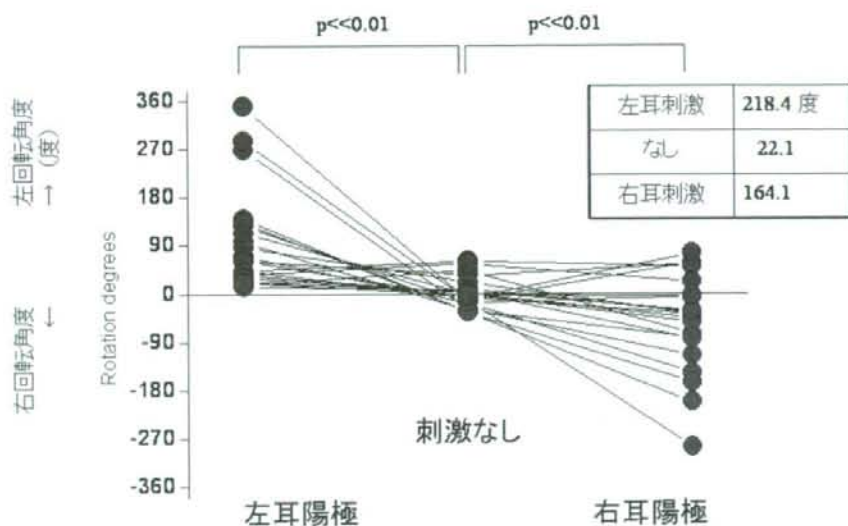


図1 健康成人21人の反応

刺激なしでは偏倚は少ないが、左耳陽極では左に、右耳陽極では右に大きく回転していることが分かる。個人差が大きいがおおむね90度以上回転した。

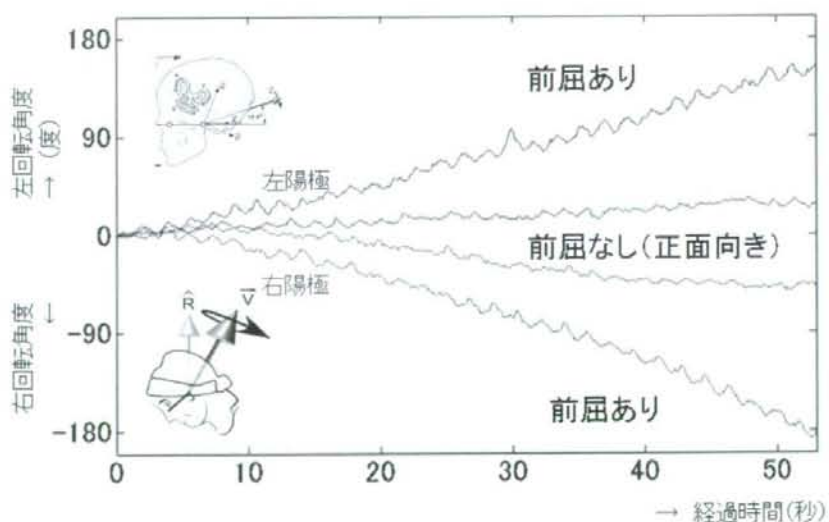


図2 前屈のありとなしでの回転角度の差

正面向きで足踏みしても、陽極側に多少回転するが、前屈すると回転角度はより大きくなった。

## 15. 体性感覚入力が半規管一眼反射可塑性に及ぼす影響

肥塚 泉, 三上公志, 鈴木一輝 (聖マリアンナ医科大)

### [はじめに]

めまい・平衡障害患者の治療を行う上で、急性期は前庭自律神経反射に起因する嘔気、嘔吐等に対する対症療法が主体となる。一方、亜急性期、慢性期は理学療法の一つである前庭リハビリテーションが主体となる。現在、一側前庭機能障害例に対して行われている前庭リハビリテーションは、視覚入力を積極的に活用して前庭代償を促進することを目的としている。視覚系は加齢とともに劣化することより、高齢者においては治療効果に限界が生じる可能性がある。また視覚障害も同時に有する患者に対しては、前庭リハビリテーションの適用自体が不可能となる。本研究では、視覚入力以外の感覚入力を積極的に利用した前庭リハビリテーション法を開発することを目的に、体性感覚入力が半規管一眼反射の可塑性に及ぼす影響について検討を加えた。

### [対象と方法]

年齢 19 歳から 42 歳 (平均 29.1 歳) の健康被験者 8 名 (男性 7 名、女性 1 名) を対象とした。実験に先立ち、全ての被験者には実験内容について十分に説明を行い、文書による承諾を得た上で実験を行った。本研究は聖マリアンナ医科大学倫理規程審査委員会の承認を得て行なわれた (承認番号 1147)。被験者を回転椅子に座らせた後、5 点式シートベルトを用いて体幹を回転椅子に固定した。頭部はヘッドバンドを用いて、回転椅子のヘッドレストに固定した。回転刺激の刺激様式は振り様、周波数は 0.32 Hz、最大角速度は 60 度/秒で行った。体性感覚の刺激には、我々が独自に開発した、電磁式の体性感覚刺激装置を用いた<sup>1)</sup>。この装置は、被験者の上腕外側に“コの字型”アームの先に設置した圧力子を軽く接触させた後、これ全体を電磁石の力で被験者の両肩方向に動かし、上腕外側に交互に疼痛を与えない程度の圧刺激を、回転椅子の動きに同期して加えることが可能である。本装置が被験者に疼痛や不快感などを与えないこと、安全性を確認したうえで実験に用いた。目前 30 cm の位置に置いたパネル状に上下左右方向にそれぞれ視角 10 度の位置を示す赤色のドットを注視させて、校正を行った。次に回転刺激を加えて、“刺激前”の半規管一眼反射の利得を求めた。その後、①体性感覚同方向刺激、②体性感覚逆方向刺激、の 2 つの条件下で回転刺激を 40 分間加えた。それぞれの刺激終了直後、最小限度の明度のもとで再度校正を行った後、回転刺激を加えて、“刺激後”の半規管一眼反射の利得を求めた。

#### ① 体性感覚同方向刺激

被験者 4 名を対象とした (男性 3 名、女性 1 名、平均年齢 22 歳)。暗所開眼下で、回転椅子が被験者に対して右回りの際は右上腕部外側に圧刺激を回転中、連続して加えた。

#### ② 体性感覚逆方向刺激

被験者 4 名を対象とした (男性 4 名、平均年齢 28.5 歳)。暗所開眼下で、回転椅子が被験者に対して右回りの際は左上腕部外側に圧刺激を、左回りの際は右上腕部外側に圧刺激を回転中、連続して加えた。

### [結果]

体性感覚刺激を回転方向と同方向に連続して 40 分間、体性感覚刺激を加えると、半規管一眼反射の利得は有意な低下を示した ( $p=0.04$ )。また体性感覚刺激を回転方向と逆方向に連続して 40 分間、体性感覚刺激を加えても、半規管一眼反射の利得は有意な低下を示した ( $p=0.26$ )。 (Wilcoxon の符号順位検定)

#### [考察]

体性感覚刺激が前庭一眼反射に影響を及ぼすことは古くより知られている。1998年にアメリカ航空宇宙局(NASA)が行ったニューロラブ計画では、前庭系に関する様々な実験が行われた。スペースシャトル・コロンビア号に偏中心性回転刺激装置(Eccentric Rotator)を搭載し、被験者の両耳方向および体幹長軸方向に直線加速度を付加した際の傾斜感覚および眼球運動について検討を加えた。微小重力環境下で直線加速度を付加した場合、回転刺激中は遠心力により生じた直線加速度のみとなるので傾斜感覚は生じず、両耳方向および体幹長軸方向に、体全体が動きつづける移動感覚が生じるはずであった。ところが4名の被験者全員が、移動感覚ではなく、地上と同様、傾斜感覚を自覚した<sup>2)3)</sup>。偏中心回転刺激中、被験者の背面や体幹側部に加わる、回転椅子との“ずれ”により生ずる体性感覚刺激が、速度蓄積機構(Velocity Storage Mechanism: VSM)に入力され、空間識を形成している可能性が示唆された。今回我々は、体性感覚刺激が半規管一眼反射の利得におよぼす影響について検討を加えた。体性感覚刺激を40分間加えながら回転刺激を加えると、体性感覚刺激の方向が回転椅子の回転方向に対して同方向でも逆方向でも利得の有意な低下を認めた。今回我々が用いた体性感覚刺激は、回転椅子によって付加される刺激は回転加速度であるのに対して、体幹(両肩)横方向の直線加速度に相当する刺激となるので、回転刺激による半規管一眼反射に対しては、非目的な感覚情報として脳内で処理された結果、これを抑制する方向に可塑的变化が生じた可能性が示唆される。逆転プリズムやレンズを用いて視覚入力を変化させた状態で、ある一定時間、前庭刺激(視覚-前庭矛盾刺激)を加えると、半規管一眼反射の利得および位相が変化することが知られている。この現象は半規管一眼反射の適応現象と呼ばれている。Melvill Jonesらは、ネコに逆転プリズムを装着して、長時間にわたって視覚-前庭矛盾刺激を加えると、半規管一眼反射の利得は徐々に低下し、ついには眼振方向が逆転すると報告している<sup>4)5)</sup>。人においても同様に逆転プリズム、レンズ装着により半規管一眼反射の利得および位相が変化することが知られている<sup>6)15)</sup>。この現象の発現にはVSMが関与している<sup>16)</sup>。今回の研究により、体性感覚入力が半規管一眼反射の可塑性に強く影響を与える可能性が示唆された。これまでの視覚入力を主体とした運動療法に加え、体性感覚など他の感覚入力を積極的に活用して行う前庭リハビリテーションの有用性が示唆される結果と思われる。

#### [結論]

半規管一眼反射の可塑性に、体性感覚入力が与える影響について検討を加えた。被験者の上腕部に圧刺激を交互に与えながら40分間連続して振り様回転刺激を加えると、半規管一眼反射の利得は刺激前に比し、有意に低下した。体性感覚入力が半規管一眼反射の可塑性に影響を与える可能性が示唆された。これまでの視覚入力を主体とした運動療法に加え、体性感覚など他の感覚入力を積極的に活用して行う前庭リハビリテーションの有用性が示唆される。

#### [参考文献]

1. 三上公志、鈴木一輝、宮本康裕、深澤雅彦、肥塚泉：体性感覚入力が半規管一眼反射に及ぼす影響。Equil Res 68:28-33, 2009.
2. Clement G, Moore ST, Raphan T, et al: Perception of tilt (somatogravic illusion) in response to sustained linear acceleration during space flight. Exp Brain Res 138, 410-418, 2001.
3. 肥塚泉：微小重力環境下で認められる前庭系に関する生体現象。Equilibrium Res 61: 180-181, 2002.
4. Melvill Jones G, Davis P: Adaptation of cat vestibule-ocular reflex to 200 days of optically reversed vision. Brain Res 103: 551-554, 1976.
5. Melvill Jones G, Davis P, Gonshor A: Long-term effects of maintained vision reversal: Is vestibule-ocular adaptation either necessary or sufficient? In ed Baker R, Berthoz A. Control

- of gaze by brain stem neurons, pp 59-68, Elsevier, Amsterdam, 1977.
6. Demer JL, Porter FI, Goldberg J, et al: Adaptation to telescopic spectacles: Vestibulo-ocular reflex plasticity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 30: 159-170, 1989.
  7. Gauthier GM, Robinson DA: Adaptation of the human vestibuloocular reflex to magnifying lenses. *Brain Res* 92: 331-335, 1975.
  8. Paige GD, Sargent EW: Visually-induced adaptive plasticity in the human vestibulo-ocular reflex. *Exp Brain Res* 84: 25-34, 1991.
  9. Istl-Lenz Y, Hyden D, Schwartz DWF: Response of the human vestibulo-ocular reflex following long-term 2X magnified visual input. *Exp Brain Res* 57: 448-455, 1985.
  10. Demer JL, Goldberg J, Jenkins HA, et al: Vestibulo-ocular reflex during magnified vision: adaptation to reduce visual-vestibular conflict. *Aviat Space Environ Med* 58 Suppl: A175-A179, 1987.
  11. Gonshor A, Melvill Jones G: Short term adaptive changes in the human vestibulo-ocular reflex arc. *J Physiol* 256: 361-379, 1976.
  12. Collewijn H, Martins AJ, Steinman RM: Compensatory eye movements during active and passive head movements: fast adaptation to changes in visual magnification. *J Physiol (Lond)* 340: 259-286, 1983.
  13. 清水元博: 左右逆転プリズム装着下の前庭動眼反射における適応現象の臨床的応用. *日耳鼻* 83: 775-786, 1980.
  14. Yagi T, Shimizu M, Sekine S, et al: A new neurotological test for detecting cerebellar dysfunction: Vestibulo-ocular reflex change with horizontal vision reversal prisms. *Ann Otol* 90: 276-280, 1981.
  15. 鈴木一輝, 渡辺昭司, 加藤弓子, 他: ヒトにおける前庭視覚矛盾刺激により得られる前庭動眼反射(VOR)適応現象の角速度特異性について. *日耳鼻* 109: 461-468, 2006.
  16. Bello S, Paige GD, Highstein SM, et al: The squirrel monkey vestibulo-ocular reflex and adaptive plasticity in yaw, pitch, and roll. *Exp Brain Res* 87: 57-66, 1991.