

- まい症例. 第110回日本耳鼻咽喉科学会, 2009, 5, 東京.
- 渡辺行雄, 池園哲郎, 伊藤壽一, 柿木章伸, 肥塚 泉, 鈴木 衛, 高橋克昌, 工田昌也, 武田憲昭, 土井勝美, 山下裕司, 青木光広, 宇佐美真一, 高橋正紘, 長沼英明: メニエール病診断基準改定について. 第19回日本耳科学会, 2009, 10, 東京.
  - 御堂義博, 今井貴夫, 関根和教, 武田憲昭, 猪原秀典, 中前幸治: 新しい眼球運動解析システム(2). 第68回日本めまい平衡医学会, 2009, 11, 徳島.
  - 松田和徳, 関根和教, 雫 治彦, 植村哲也, 佐藤 豪, 武田憲昭: 急性期のめまいに対するジフェニドールとベタヒスチンの効果ー日常生活障害度の改善の評価ー. 第68回日本めまい平衡医学会, 2009, 11, 徳島.
  - 今井貴夫, 真貝佳代子, 北原 紘, 西池季隆, 堀井 新, 武田憲昭, 猪原秀典: 四種類の頭位・頭位変換眼振を示した良性発作性頭位めまい症例. 第68回日本めまい平衡医学会, 2009, 11, 徳島.
  - 千田いづみ, 関根和教, 松田和徳, 藤本知佐, 武田憲昭: アルコール性頭位眼振の3次元主軸解析. 第35回四国四県地方部会連合学会, 2009, 12, 徳島.
  - 將積日出夫, 渡辺行雄, 八木聰明, 高橋正紘, 竹田泰三: 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確実例の疫学調査結果. 第109回日本耳鼻咽喉科学会, 2008, 5, 大阪.
  - 大崎康宏, 土井勝美, 川島貴之, 堀井 新, 北原 紘, 猪原秀典: 両側メニエール病・対側型遅発性内リンパ水腫症例における両側内耳造影MR画像の検討. 第19回日本耳科学会, 2009, 10, 東京.
  - 北原 紘, 堀井 新, 木澤 薫, 前川千絵, 川島貴之, 大崎康宏, 佐藤崇, 土井勝美, 猪原秀典: 内リンパ嚢手術後に生じる低周波数領域の気骨導閾値差. 第19回日本耳科学会, 2009, 10, 東京.
  - 北原 紘, 前川千絵, 木澤 薫, 堀井 新, 土井勝美: メニエール病内リンパ嚢における水代謝関連分子動態. 第110回日本耳鼻咽喉科学会, 2009, 5, 東京.
  - 土井勝美: 内リンパ嚢開放術. 第68回日本めまい平衡医学会, 2009, 11, 徳島.
  - 今井貴夫: 方向交代性上向性眼振. 第68回日本めまい平衡医学会, 2009, 11, 徳島.
  - 堀井 新: 心因性めまい. 第68回日本めまい平衡医学会, 2009, 11, 徳島.
  - 堀井 新, 北原 紘, 大崎康宏, 今井貴夫, 猪原秀典: 難治性BPPVにおける眼振タイプの移行と内耳MRI. 第68回日本めまい平衡医学会, 2009, 11, 徳島.
  - 増村千佐子, 猪原秀典, 堀井 新, Zheng-Y, Darlington-C, Smith-P: ラット両側内耳破壊が5 choice serial reaction time taskに及ぼす影響. 第68回日本めまい平衡医学会, 2009, 11, 徳島.
  - 西村将彦, 土井勝美, 柿木章伸, 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68回日本めまい平衡医学会, 2009, 11, 徳島.
  - 前川千絵, 北原 紘, 木澤 薫, 岡崎鈴代, 増村千佐子, 今井貴夫, 土井勝美, 猪原秀典, 堀井新: メニエール病および遅発性内リンパ水腫における内リンパ嚢水代謝異常. 第68回日本めまい平衡医学会, 2009, 11, 徳島.
  - 大崎康宏, 北原 紘, 今井貴夫, 猪原秀典, 堀井新: Geberal Electric社製3 Tesla MRI装置を用いた内耳造影画像. 第68回日本めまい平衡医学会, 2009, 11, 徳島.
  - 宮部淳二, 宮口 衛, 堀井 新, 大崎康宏, 北原 紘, 今井貴夫, 土井勝美, 猪原秀典: 2次性と思われる内リンパ水腫を画像的に確認できた突発性難聴. 第68回日本めまい平衡医学会, 2009, 11, 徳島.
  - 北原 紘, 吉波和隆, 川島貴之, 今井貴夫, 大崎康宏, 木澤 薫, 増村千佐子, 岡崎鈴代, 前川千絵, 土井勝美, 猪原秀典, 堀井 新: 内リンパ嚢手術後および半規管遮断術後に生じる低周波数領域の気骨導差. 第68回日本めまい平衡医学会, 2009, 11, 徳島.
  - 真貝佳代子, 今井貴夫, 北原 紘, 猪原秀典: 良性発作性頭位めまい症の眼振の時定数からみた病態の分類. 第68回日本めまい平衡医学会, 2009, 11, 徳島.
  - 今井貴夫, 北原 紘, 西池季隆, 猪原秀典, 真貝佳代子, 堀井 新, 武田憲昭: 四種類の頭位・頭位変換眼振を示した良性発作性頭位めまい症例. 第68回日本めまい平衡医学会, 2009, 11, 徳島.
  - 吉波和隆, 北原 紘, 今井貴夫, 大崎康宏, 増村千佐子, 木澤 薫, 岡崎鈴代, 前川千絵, 土井勝美, 猪原秀典, 堀井 新: 難治性BPPV患者の

- 責任半規管の同定と半規管遮断術. 第68回日本めまい平衡医学会, 2009, 11, 徳島.
- ・下郡博明, 豊田英樹, 菅原一真, 橋本 誠, 山下裕司: ロリプラム-側内耳投与による前庭神経節細胞への影響-. 第 110 回日本耳鼻咽喉科学会, 2009, 5, 東京.
  - ・豊田英樹, 下郡博明, 菅原一真, 橋本 誠, 山下裕司: サブスタンス P-側内耳投与による末梢前庭保護効果. 第 110 回日本耳鼻咽喉科学会, 2009, 5, 東京.
  - ・菅原一真, 福田裕次郎, 御厨剛史, 広瀬敬信, 橋本 誠, 下郡博明, 山下裕司: 植物性ポリフェノールによる前庭有毛細胞保護の試み. 第 110 回日本耳鼻咽喉科学会, 2009, 5, 東京.
  - ・福田裕次郎, 菅原一真, 宮内裕爾, 広瀬敬信, 御厨剛史, 下郡博明, 山下裕司: HSF1 欠損マウスの有毛細胞死に対する熱ショック応答増強剤の効果. 第 110 回日本耳鼻咽喉科学会, 2009, 5, 東京.
  - ・御厨剛史, 菅原一真, 広瀬敬信, 中本哲也, 下郡博明, 山下裕司: 音響障害モデルマウスでの熱ショック対応と加齢による修飾の検討. 第 110 回日本耳鼻咽喉科学会, 2009, 5, 東京.
  - ・中本哲也, 広瀬敬信, 御厨剛史, 菅原一真, 山下裕司: マウス蝸牛における音響障害後の炎症性サイトカインと熱ショック転写因子の変化について. 第 110 回日本耳鼻咽喉科学会, 2009, 5, 東京.
  - ・菅原一真, 広瀬敬信, 御厨剛史, 下郡博明, 山下裕司: 老人性難聴マウス C57BL/6 における熱ショック蛋白質の役割. 第 9 回日本抗加齢医学会, 2009, 5, 東京.
  - ・橋本 誠, 池田卓生, 菅原一真, 岡崎吉紘, 下郡博明, 山下裕司: video-oculography (VOG) により定量化した眼振記載法の試み. 第 71 回耳鼻咽喉科臨床学会, 2009, 7, 北海道.
  - ・菅原一真, 御厨剛史, 広瀬敬信, 橋本 誠, 下郡博明, 山下裕司: 熱ショック転写因子と老人性難聴について. 第 3 回聴覚アンチエイジング研究会, 2009, 7, 東京.
  - ・御厨剛史, 菅原一真, 広瀬敬信, 橋本 誠, 下郡博明, 山下裕司: 内耳における熱ショック蛋白質の発現に対する加齢の影響. 第 3 回 聴覚アンチエイジング研究会, 2009, 7, 東京.
  - ・中本哲也, 御厨剛史, 菅原一真, 広瀬敬信, 下郡博明, 山下裕司: 音響障害後の内耳炎症性サイトカインに及ぼす HSF1 の影響. 第 27 回頭頸部自律神経研究会, 2009, 8, 大阪.
  - ・豊田英樹, 下郡博明, 菅原一真, 橋本 誠, 山下裕司: AMPA による末梢前庭障害におけるサブスタンス P の影. 第 27 回頭頸部自律神経研究会, 2009, 8, 大阪.
  - ・中本哲也, 広瀬敬信, 御厨剛史, 菅原一真, 下郡博明, 山下裕司: マウス蝸牛における音響障害後の炎症性サイトカインと熱ショック転写因子の発現の変化について. 第 19 回日本耳科学会, 2009, 10, 東京.
  - ・福田裕次郎, 菅原一真, 広瀬敬信, 御厨剛史, 下郡博明, 山下裕司: HSF1 欠損マウスの前庭有毛細胞障害と熱ショック応答に関する検討. 第 19 回日本耳科学会, 2009, 10, 東京.
  - ・豊田英樹, 下郡博明, 菅原一真, 山下裕司: 急性末梢前庭障害に対するサブスタンス P-側内耳投与の有効性. 第 19 回日本耳科学会, 2009, 10, 東京.
  - ・中本哲也, 御厨剛史, 橋本 誠, 菅原一真, 下郡博明, 山下裕司: マウス蝸牛における音響障害後の炎症性サイトカインと熱ショック転写因子の発現の変化について. 第 54 回日本聴覚医学会, 2009, 10, 横浜.
  - ・菅原一真, 御厨剛史, 広瀬敬信, 橋本 誠, 下郡博明, 山下裕司: HSF1 欠損マウスの加齢と内耳における変化について. 第 54 回日本聴覚医学会, 2009, 10, 横浜.
  - ・御厨剛史, 菅原一真, 中本哲也, 橋本 誠, 下郡博明, 山下裕司: 加齢による内耳熱ショック蛋白質の変化について. 第 54 回日本聴覚医学会, 2009, 10, 横浜.
  - ・菅原一真, 福田裕次郎, 橋本 誠, 豊田英樹, 下郡博明, 山下裕司: ポリフェノールによる有毛細胞保護. 第 68 回日本めまい平衡医学会, 2009, 11, 徳島.
  - ・豊田英樹, 下郡博明, 菅原一真, 橋本 誠, 山下裕司: サブスタンス P による末梢前庭保護効果の検討. 第 68 回日本めまい平衡医学会, 2009, 11, 徳島.
  - ・橋本 誠, 藤井博則, 岡崎吉紘, 菅原一真, 下郡博明, 山下裕司: 回復期の平衡機能検査にて異常所見を認めた急性小脳炎症例. 第 68 回日本めまい平衡医学会, 2009, 11,

徳島.

- ・下郡博明, 豊田英樹, 菅原一真, 橋本 誠, 山下裕司: 前庭神経節細胞における CREB リン酸化促進と前庭機能. 第 68 回日本めまい平衡医学会, 2009, 11, 徳島.
- ・橋本 誠, 池田卓生, 岡崎吉紘, 菅原一真, 下郡博明, 山下裕司: 指標追跡検査における, video-oculography (VOG) による指標と眼球運動の解析. 第 68 回日本めまい平衡医学会, 2009, 11, 徳島.

発明者: 池園哲郎、八木聰明、大森彬

出願番号: 2003243985 (2003 年 6 月 26 日)

特許番号: 2003243985 (2009 年 7 月 3 日)

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

### 1. 特許取得

#### 1. 【日本】発明の名称: 外リンパ瘻の検出方法

特許権者: 学校法人日本医科大学・三菱化学株式会社

発明者: 池園哲郎、八木聰明、大森彬

特許番号: 特許第 4172777 号 (2008 年 8 月 22 日)

公開番号: 特開 2004-85552 (2004 年 3 月 18 日)

出願番号: 特願 2003-182860 (2003 年 6 月 26 日)

#### 2. 【日本】発明の名称: 耳治療用成型物

特許権者: 学校法人日本医科大学・株式会社高研

発明者: 池園哲郎、八木聰明

特許番号: 特許第 4172808 号 (2008 年 8 月 22 日)

公開番号: 特開 2008-161545 (2008 年 7 月 17 日)

出願番号: 特願 2006-356080 (2006 年 12 月 28 日)

#### 3. 【外国 中国】発明の名称: 外リンパ瘻の検出方法

特許権者: 学校法人日本医科大学

発明者: 池園哲郎、八木聰明、大森彬

特許番号: ZL03815172.3 (2007 年 9 月 5 日)

公告番号: CN100335502-C (2007 年 9 月 5 日)

出願番号: 03815172.3 (2003 年 6 月 26 日)

#### 4. 【外国 オーストラリア】発明の名称: 外リンパ瘻の検出方法

特許権者: 学校法人日本医科大学

## II . 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

- I. メニエール病、遅発性内リンパ水腫に関する疫学および臨床的調査研究
- II. 抗利尿ホルモンと脱水負荷による蝸牛血管条変化に関する研究
- III. 難治性内耳疾患の遺伝子バンク構築の研究
- IV. 遅発性内リンパ水腫の画像診断に関する研究
- V. メニエール病(遅発性内リンパ水腫を含む)の治療に関する研究

研究代表者	渡辺 行雄	富山大学教授
研究協力者	青木 光広	岐阜大学講師
	宇佐美 真一	信州大学教授
	高橋 正紘	横浜中央クリニックめまいメニエール病センター長
	長沼 英明	北里大学講師

**研究要旨**

**〈メニエール病、遅発性内リンパ水腫に関する疫学および臨床的調査研究〉**

メニエール病の有病率、年齢構成、性差等に関する調査研究が行われ、有病率は45～52/10万人(本邦患者数推定4.5～6万人)と推定された。この調査は特定地区で行われたものであるが、診療圏の限定された複数の地区での調査結果が類似しており、全国的な有病率の推定数値となる可能性の高いことが示された。経年的に発症年齢高齢化と女性多数の結果が示された。さらに、メニエール病の高齢化要因の基礎的調査が行われ、高齢者群と非高齢者群とのストレス状況の差異が示された。遅発性内リンパ水腫の高度難聴の原因別に発症までの期間が調査され、本疾患の発症機序の推定が行われた。

**〈抗利尿ホルモンと脱水負荷による蝸牛血管条変化に関する研究〉**

メニエール病の治療法として水分摂取療法が提唱されている。本法の理論的根拠として抗利尿ホルモンと脱水負荷を組み合わせた動物の蝸牛血管条変化が実験的に検討され、脱水負荷により高率に血管条変化が発現することから、水分摂取療法の理論的な確認の可能性を示した。

**〈難治性内耳疾患の遺伝子バンク構築の研究〉**

厚生労働省「難治性内耳疾患の遺伝子バンク構築研究班」の研究活動とリンクした遺伝子バンク構築に関する研究が行われ、研究体制が始動した。

**〈遅発性内リンパ水腫の画像診断に関する研究〉**

本研究班の研究テーマの一つとしてガドリニウム造影3T MRIによる内リンパ水腫の画像診断を進めてきており、今回は臨床的に同側型遅発性内リンパ水腫と診断された症例の画像を解析した。患側耳にメニエール病と同様の内リンパ水腫が造影され、従来の組織学的所見と画像所見の整合性が確認された。同側型遅発性内リンパ水腫では、通常検査での内リンパ水腫推定が困難なことから、この結果は临床上極めて重要な意味があると考えられた。

**〈メニエール病(遅発性内リンパ水腫を含む)の治療に関する研究〉**

以前から継続されてきた研究テーマとして、難治性メニエール病に対する低浸襲性治療である有酸素運動の導入、水分摂取療法、中耳加圧治療について最近の治療例を示した。これらの治療方法の一般臨床への普及が重要であると考えられた。

**I. メニエール病、遅発性内リンパ水腫に関する疫学および臨床的調査研究**

**A. 研究目的**

1. メニエール病の有病率、罹患率、性差などの基本的疫学情報の経年的変化を検定する。

2. 高齢者メニエール病の疫学的特徴を検討する。

3. 遅発性内リンパ水腫(DEH)の疫学的、臨床的特徴を多施設、多数症例において抽出する。

## B. 研究方法

1. 受診圏の限定された新潟県西頸城地区、佐渡地区において受診患者数を中心とした調査を施行した。また、研究班所属施設において、発症年齢、性別調査を行った。これら調査は定点観測的にメニエール病疫学的動向の経年的調査を継続して行うものである。
2. 研究班所属施設を中心にメニエール病のストレスを重点とした調査を年齢構成別に行い、高齢者群(60歳以上)と非高齢者群(60歳未満)に分けて特徴を比較した。
3. 遅発性内リンパ水腫は症例数が少ない疾患である。今回、多数症例における疫学、臨床的特徴を明らかにするために、1998、2001および2006から2008年にかけての5回にわたる研究班所属施設を対象とした調査で集計された198例の患者について、先行する高度感音難聴の原因と発症までの期間、発症年齢などを中心とした解析を行った。

## C. 結果

1. 今回の西頸城地区調査では、メニエール病有病率は52.7/10万人、罹患率は14.2/10万人、佐渡地区では各々45.6、7.4と算出された。また、研究班所属施設調査では、メニエール病発症年齢で、60才以上の高齢新規発症患者は全体の21.6%を占めていた。高齢発症患者の割合はここ数年の調査で概ね20~30%を示しており、いずれも昭和50~51年調査時の6.5%を大きく上回っていた。また、性差は経年的に一貫して女性多数を示した。
2. メニエール病確実例におけるストレスを中心としたアンケート調査で、高齢者群においては、退職・引退がストレス源の多数であるのに対し、非高齢者では仕事上の責任を挙げるものが多数であった。その他の項目では大きな差異がなかった。また、行動特性では高齢者ではタイプA行動特性を示す割合が非高齢者より多数であった。
3. 前述の調査により198例のDEH症例が集計され、結果は以下のように要約される。1)同側型DEHと対側型DEHはほぼ同数、2)同側型、対側型ともに、先行する高度難聴の原因は、原因不明の若年性一側聾が最多、原因が明らかかなものでは突発性難聴とムンプス難聴が多数、3)高度難聴からDEH発症までの期間は、若年性一側聾で有意に長く、突発性難聴とムンプス難聴では差を認めない。

## D. 考察

1. 受診圏の特定された地区のメニエール病有病率調査により、新潟県西頸城地区では前回調査(45/10万人)よりも高値の有病率(52.7/10万人)が推定され、調査開始以来一貫して増加傾向が続いている。また、佐渡地区の調査でも類似の結果が得られ、調査結果の信頼性を示す結果であった。この数値を全国に当てはめると本邦における患者数は約4.5~6万人と推定できる。また、多くの調査項目でも経年的に一定の傾向が確認されこの種の継続調査の必要性を示した。
2. 高齢発症メニエール病の疫学的特徴をストレスとの関連で調査した。本調査は、次年度までの継続調査の中間で現段階では少数例であるが、一定の特徴が抽出される可能性があり、今後、対照群も含めて検討を続ける必要がある。
- 3) これまで世界的にも例のない多数症例で、遅発性内リンパ水腫の疫学的、臨床的特徴が明らかとなった。解析結果からは、突発性難聴とムンプス難聴では本症の発症機転が類似していること、これらの疾患と原因不明の若年性一側聾では本症発症に関与する機序が異なる可能性を示唆するものであった。

## E. 結論

メニエール病の疫学的調査結果が示された。これらの調査結果は、厚生行政における有用な情報を提供し得るものとして今後とも班研究として継続する方針である。

これまで、例のない多数例において遅発内リンパ水腫の原因疾患と発症に関する調査結果が示された。同疾患の発症機序に関して重要な情報が得られた。

## II. 抗利尿ホルモンと脱水負荷による蝸牛血管条変化

### A. 研究目的

メニエール病の治療法として水分摂取療法が提唱されている。本法の理論的根拠として抗利尿ホルモンと脱水負荷を組み合わせた動物の蝸牛血管条変化を検討した。

### B. 研究方法

24時間の完全飲水制限後、Arg-Vasopressin (AVP)を腹腔内に投与、対照群(生食、AVP単独投与)との蝸牛血管条変化を比較した。

### C. 結果

血管条における中間細胞や周皮細胞の細胞内浮腫と考えられる液胞面積は、AVP投与群で

増加するが、脱水後AVP投与群においてはこれよりさらに有意の増加を示した。

#### D. 考察

AVPの投与において血管条形態に変化が認められ、また脱水負荷によりその変化が増大した。このことはAVPの増加と脱水負荷によるVasopressin V2レセプターの機能亢進の効果に伴い、血管条の形態に変化が発生していることを意味し、水分摂取療法の理論的根拠を示す可能性が示唆された。

#### E. 結論

メニエール病の治療法として提唱されている水分摂取療法の理論的根拠となる基礎的データが示された。

### III. 難治性内耳疾患の遺伝子バンク構築の研究

#### A. 研究目的

突発性難聴、特発性両側性感音難聴、メニエール病、遅発性内リンパ水腫など難治性内耳疾患の発症機序の推定、薬剤効果の解明などの研究の基盤情報となる生体試料(DNA)の収集およびバンクの構築を目的とする。

#### B. 研究方法

遺伝子バンクの構築に必要な、コンピュータ等のハードウェアおよびデータベースソフトウェアを整備し、安定して増幅可能な全ゲノム増幅キットの選定を行なう。上記各疾患の選定基準に基づき、患者に十分な説明の上、書面で同意を得て臨床情報調査項目の調査・採血を行い、検体を委託業者でDNA抽出を行った後、信州大学に搬送されバンクする体制を構築する。

(倫理面への配慮)

研究の実施に先立ち主任研究機関および共同研究機関とも遺伝子解析倫理委員会に倫理審査の申請を行い、承認を受けた上で実施している。試料の採取に際しては、患者用説明書を用いて十分な説明を行った上、書面で同意を得てから実施する。また、個人情報の保護に配慮し、採血を行う時点で各施設において匿名化を行い個人を特定できないようにした後でDNA抽出およびバンクを行う手順を遵守して実施している。

#### C. 結果

上記の目的、方法により遺伝子バンクの実動体制が構築され、試料収集作業が開始された。

#### D. 考察

本年度の研究により、突発性難聴、特発性両側性感音難聴、メニエール病、遅発性内リンパ水腫のDNA試料収集のための基盤体制となる臨床調査項目の決定、試料収集システムの開発、全ゲノム増幅キットの選定、データベースの構築を行い、DNAバンクを構築する基盤を整備することができた。

#### E. 結論

難治性内耳疾患の遺伝子バンク構築体制が整備され、始動段階にある。今後、同バンクによる種々の臨床応用が期待される。

### IV. 遅発性内リンパ水腫の画像診断に関する研究

#### A. 研究目的

これまで、本研究班の主たるテーマであるガドリニウム造影3TMRIによる内リンパ水腫の画像診断を進めてきた。今回は臨床的に遅発性内リンパ水腫と診断された症例の画像を解析した。

#### B. 研究方法

臨床的診断による同側型遅発性内リンパ水腫7例(確定例4、確実例3)を対象とし、ガドリニウムを両側鼓室内投与した後に3D-FLAIR MRI、3D-real IR画像にて、内リンパ水腫の有無の視認と造影効果の左右の比較検討を行った。

#### C. 結果

同側型遅発性内リンパ水腫と診断された7症例のうち5症例に、内リンパ水腫像を認めた。確定例では全症例で内リンパ水腫像を認めたが(4/4)、確実例においては内リンパ水腫像を認めないものも存在した(1/3)。内リンパ水腫像を認めた症例の健側に対する面積比は0.47~0.67であった。

#### D. 考察

遅発性内リンパ水腫は、先行する高度感音難聴後にメニエール病様のめまい発作あるいは対側の聴力変化をきたす疾患で、その病態は組織学的研究で内リンパ水腫とされている。本研究では生体における同疾患において、患側耳にメニエール病と同様の内リンパ水腫が造影され、組織学的所見と画像所見の整合性が確認された。同側型遅発性内リンパ水腫では、通常検査での内リンパ水腫推定が困難なことから、この方法での内リンパ水腫の診断は重要な意味があると考えられた。

なお、同様の分析が本研究班の他施設でも行われ、メニエール病と突発性難聴の比較においてメニエール病で特徴的な所見が示されており、この診断法の確実性を示す研究結果であった。

#### E. 結論

従来、画像評価が困難であった内リンパ水腫の画像評価が可能となり、臨床検査的に推定が困難であった遅発性内リンパ水腫の病態が明らかとなった。

### V. メニエール病(遅発性内リンパ水腫を含む)の治療に関する研究

#### A. 研究目的

1. メニエール病治療における生活指導と有酸素運動の有用性を概説した。
2. ピークオージオグラム(PA)を示したメニエール病確実例に対し水分摂取療法を行った効果を検討した。
3. 難治性メニエール病に対する低浸襲性治療として最近注目されている中耳加圧治療についての最近の動向を検討した。

#### B. 研究方法

1. 他の医療機関で投与されていたステロイド薬、利尿薬を中止し、十分な指導を行った後に有酸素運動に特化した加療を行い効果を検定した。
2. 治療開始時のPAと最終診時の聴力図を比較し、10 dB以上の変化をもって改善、不変、悪化とし聴力変動パターンを分類した。
3. 従来から行われているMeniett®と鼓膜マッサージ機による陽・陰圧両極刺激の治療成績を検討した。

#### C. 結果

1. 有酸素運動は、めまい発作の軽減・消失に有効性があり不可逆性と考えられた難聴にも有効性を示した事例が報告された。
2. PAを認め水分摂取療法を行った症例の平均観察期間は655日であった。この間聴力検査を1人平均13.4回施行した。最も多いパターンは低音改善・高音改善で40.4%、以下順に低音不変・高音改善(17.5%)、低音改善・高音不変(8.8%)であり、全周波数の不変例は14.0%であった。
4. 従来の治療に抵抗しめまい発作の抑制が困難な難治例にMeniett®を使用した7例中5例でめまい発作の抑制が可能であった。また、鼓膜マッサージ機による加療13例の全例で発

作抑制が可能であり、治療終了に至った例が5例あった。

#### D. 考察・結論

1. メニエール病治療における生活指導の重要性と有酸素運動の有用性が示された。有酸素運動治療の種々の特徴を考えると、この治療法の効果は単に内耳局所の循環改善のみではなく全身的なもので、また、患者の治療意欲向上が治療効果に影響すると考えられた。
2. メニエール病の聴力型と経過について諸説があるが、PAを示した症例では低音障害の改善に伴ない高音障害も改善する例が多く、聴力の維持は良好であった。PAがメニエール病聴力経過の予後予測の指標となる可能性を示すとともに、水分摂取療法の有用性を示すものとして注目された。
3. 難治性メニエール病に対する中耳加圧治療については種々の報告でその有用性が示されている。今回もMeniett®による高い有効率が示され、これが低浸襲でめまい発作の難治例に対するものであることからその有効性が確認された。さらに、本邦における滲出性中耳炎治療機である鼓膜マッサージ機では、より高い有効性が示され、今後メニエール病に対する加圧治療の標準機化が期待された。

#### E. 結論

難治性疾患であるメニエール病に対する、新たな概念の治療法が示された。とくに、従来難聴に対する有効性を呈示した治療法は少なかったが、上記1.2の治療法は、部分的ではあるが難聴に対する有効性の可能性を示しており今後の発展が期待された。

また、従来 of 保存的治療でめまい発作抑制が困難な症例に対する中耳加圧治療の効果が複数の報告で確認されており、今後、メニエール病に対する一般的治療法としての普及の必要があると考えられた。

#### F. 研究発表

1. 論文発表
  - Ishida M, Fushiki H, Nishida H, Watanabe Y: Self-motion perception during conflicting visual-vestibular acceleration. J. Vestib. Res. 18:267-72, 2008.
  - 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. 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 (Stokh)* 129:155-160, 2009.
- Fushiki H, Junicho M, Aso S, Watanabe Y: Recurrence rate of idiopathic sudden low-tone sensorineural hearing loss without vertigo: a long-term follow-up study. *Otol. Neurotol.* 30:295-298, 2009.
  - 渡辺行雄: メニエール病の疫学, 臨床像. *JOHNS*, 25, 810-814, 東京医学社, 東京, 2009.
  - 渡辺行雄, 池園哲郎, 伊藤壽一, 柿木章伸, 肥塚泉, 鈴木 衛, 高橋克昌, 工田昌也, 武田憲昭, 土井勝美, 山下裕司, 青木光広, 宇佐美真一, 高橋正紘, 長沼英明: 厚生労働省難治性疾患克服研究事業前庭機能異常に関する調査研究班(2009)メニエール病診断基準. *Equilibrium Research* 68(2): 103-106.
  - 渡辺行雄: メニエール病. 検査と技術, 37, 780-784, 医学書院, 東京, 2009.
  - 渡辺行雄: めまいの治療—難治症例への対応を中心に—. *メディカル・ビューポイント (MVP)* 30, 8, 2009.
  - 將積日出夫: メニエール病に対する中耳加圧療法. *JOHNS*, 25, 849-852, 東京医学社, 東京, 2009.
  - M Aoki, H Hayashi, B Kuze, K Mizuta, Y Ito: The association of the plasma vasopressin level during attacks with a prognosis of Meniere's disease. *International Journal of Audiology*, 49, 1-6, 2009.
  - M Asai, M Aoki, H Hayashi, N Yamada, K Mizuta, Y Ito: Subclinical deviation of the subjective visual vertical in patients affected by a primary headache. *Acta Otolaryngol*, 129, 30-35, 2009.
  - Miyagawa M, Fukuoka H, Tsukada K, Oguchi T, Takumi Y, Sugiura M, Ueda H, Kadoya M, Usami S I: Endolymphatic hydrops and therapeutic effects are visualized in 'atypical' Meniere's disease. *Acta Otolaryngol*, 129:1326-1329, 2009.
  - Fukuoka H, Tsukada K, Miyagawa M, Oguchi T, Takumi Y, Sugiura M, Ueda H, Kadoya M, Usami S I: Semi-quantitative evaluation of endolymphatic hydrops by bilateral intratympanic gadolinium-based contrast agent (GBCA) administration with MRI for Meniere's disease. *Acta Otolaryngol* 130: 10-16, 2010.
  - O Katsumata, N Ohara, H Tamaki, T Niimura, H Naganuma, M Watanabe and H Sakagami: IQ-ArfGEF/BRAG1 is associated with synaptic ribbons in the mouse retina. *European Journal of Neuroscience*, 30: 1509-1516, 2009.
  - 長沼英明: 単発性の回転性めまい. 「訴えからみためまいの見分け方」*Monthly Book ENTONI*, 102, 1-7, 全日本病院出版会, 東京, 2009.
  - 徳増厚二, 長沼英明: 回転刺激検査. 「イラストめまいの検査 (改訂第2版)」, 日本めまい平衡医学会編, 76-79, 診断と治療社, 東京, 2009.
  - 長沼英明: メニエール病に対する薬物療法—内服・点滴, 高浸透圧脱水療法と水分摂取量法—. *JOHNS*, 25(6), 841-844, 東京医学社, 東京, 2009.
2. 学会発表
- 渡辺行雄, 十二町真樹子, 將積日出夫, 浅井正嗣: 鼓膜マッサージ器を使用したメニエール病に対する中耳加圧療法. 第110回日本耳鼻咽喉科学会, 2009, 5, 東京.
  - 將積日出夫, 藤坂実千郎, 十二町真樹子, 渡辺行雄, 峯田周幸, 渡辺一道, 五十嵐良和, 重野浩一郎: 難治性内リンパ水腫疾患に対する中耳加圧治療の多施設調査成績. 第110回日本耳鼻咽喉科学会, 2009, 5, 東京.
  - 渡辺行雄: メニエール病診療の最近の動向. 第68回日本めまい平衡医学会ランチョンセミナー, 2009, 11, 徳島.
  - 將積日出夫: 耳石器機能検査としてのVEMP. 第68回日本めまい平衡医学会, 2009, 11, 徳島.
- 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

## 研究要旨

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

COCH 遺伝子はめまいを伴う遺伝性難聴（DFNA9）の病因遺伝子である。DFNA9 の臨床症状、所見はメニエール病診断基準と合致しており、メニエール病研究の観点からも近年非常に注目されている疾患である。また COCH 遺伝子の蛋白産物である Cochlin は多くの臨床的に重要な特徴を有することが知られている。

内耳発達過程における COCH 遺伝子の発現時期について検討する目的で、生後ラット内耳を用いた COCH 遺伝子の発現パターンの解析を行なった。その結果、COCH 遺伝子は生後 3 日目から発現が認められ、生後 15 日目まで発現が増加し、その後生後 70 日目まで徐々に減少した。COCH 遺伝子は内耳の成熟期より以前から発現していることが明らかとなった。最近の研究で内耳組織の Cochlin は内耳の成熟期に発現が一気に増加するが、外リンパに存在する一部の cochlin は、内耳成熟期前にすでに高発現していることが分かっているが、今回のデータはそれを裏付ける結果となった。

画像検査のみで外リンパ瘻と確定診断できる迷路気腫の 4 症例について呈示し、過去に報告されている症例との比較を行った。その結果、急性中耳炎に迷路気腫が合併し聾となった症例や、発症 1 ヶ月間感音成分が保存されていた迷路気腫症例など新たな知見が得られ、外リンパ瘻の多彩な臨床像とその診断法に関して有用な情報が得られた。

## A. 研究目的

本研究の目的はメニエール病と同様の症候を呈する DFNA9 原因遺伝子 COCH に関する研究、ならびにメニエール病の重要な鑑別疾患である外リンパ瘻の確定診断法の確立である。

COCH 遺伝子はめまいをきたす遺伝性難聴（DFNA9）の病因遺伝子である。DFNA9 の臨床症状、検査所見は診断基準上メニエール病と診断される。ラット及びヒトの“内耳組織”を使用した研究によると、Cochlin の発現は内耳成熟前では検出限界以下であり、内耳の成熟期に発現が増強していた<sup>5)</sup>。その後、ラットの“外リンパ”をサンプルとして研究を進めた結果、Cochlin の一部は、内耳成熟期前である生後 9 日目にはすでに高発現しており、その後徐々に減少していくことが分かった。内耳組織の研究結果と異なり、ラット内耳が成熟する前の生後初期から外リンパに Cochlin が高発現していることは、我々にとって驚くべき結果であった。

そこで、今回我々は、発生過程の Cochlin

発現を遺伝子レベルからも検討するため、生後ラットの内耳を用いて、発達過程における COCH 遺伝子の発現について検討を行った。

外リンパ瘻診断のゴールドスタンダードは、「病歴からその存在を疑い、手術等により外リンパの漏出を確認する」とされている。しかし、この方法による診断率は 28%~100%と報告者によりばらつきがあり、術者の主観が入る可能性が指摘されている。迷路気腫（pneumolabyrinth）<sup>(1,2)</sup>は、外リンパ瘻（瘻孔）を經由して中耳内の空気が内耳に迷入することで生じる比較的希な病態で、CT 所見のみで外リンパ瘻と客観的に確定診断できる。Mafee らが 1984 年に初めて報告して以来、英文誌において現在までに 22 編 28 症例（29 耳）が報告されているのみである。我々は迷路気腫を伴った外リンパ瘻の症例を 4 例経験したので、臨床的特徴について過去の報告との比較を交えて報告する。

## B. 研究方法

## 1. 生後ラット内耳における COCH ー蛋白と遺伝子発現の比較ー

生後 3、6、9、12、15、24、36、70 日のウィスターラットを深麻酔下に断頭し内耳を採取した。採取した組織より total RNA を抽出し、吸光度から RNA 濃度を測定した。逆転写反応を行った後、COCH および Gapdh (内部標準) をターゲットとしたリアルタイム PCR を  $\Delta \Delta Ct$  法で行った。Gapdh を内部標準として補正した後、COCH の発現を各発達日数間で相対比較定量した。

## 2. 迷路気腫 4 症例についての臨床的検討

CT 検査で迷路気腫と診断され、当科で加療を行なった 4 症例を対象とした。過去に国際誌に報告のあった 22 編 28 症例 29 耳との比較検討を行なった。

## C. 研究結果

### 1. 生後ラット内耳における COCH ー蛋白と遺伝子発現の比較ー

COCH 遺伝子の発現は生後 3 日目から認められた。その後生後 15 日目をピークに徐々に発現は増強していた。生後 18 日目以降は減少に転じ、生後 70 日目まで徐々に発現は減少した。

### 2. 迷路気腫 4 症例についての臨床的検討

#### 【症例 1】急性中耳炎に合併した迷路気腫

42 歳 男性。既往に DM あり、インスリン使用中であった。旅行のため飛行機に搭乗後、右難聴、耳痛が出現したが自己判断で旅行を続け、3 日間で計 4 回飛行機に搭乗した。その後ひどいめまいが生じ、当科入院となった。聴力は右聾であった。注視眼振検査で Nylen 3 度の麻痺性眼振を認め、右鼓膜は全体に膨隆し、拍動性の耳漏を認めた。血液検査では WBC15200/ $\mu$ l、CRP24.68gm/dl と高度の炎症所見を認めた。強い頭痛を訴えたため、髄液検査を施行、細胞数 1368/3 と上昇を認め髄膜炎と診断した。耳性髄膜炎の可能性を考え側頭骨ターゲット CT (以下 CT) を施行した所、蝸牛に気泡を認め迷路気腫と診断した。急性中耳炎罹患後の気圧外傷により外リンパ瘻が発症し、重度の迷路炎、さらに耳性髄膜炎に至ったと考えられた。抗生物質の点滴を中心とした保存的治療を選択した。入院 1 ヶ月後

に施行した CT で気腫は消失していた。最終的にめまいは治癒したが、聴力は改善しなかった。入院直後に拍動性の耳漏の CTP 検査を行ったが、陰性であった。

#### 【症例 2】アブミ骨手術後の迷路気腫

当院で左耳硬化症に対しアブミ骨手術施行。術後 3 日目に pop 音とともにめまいが出現。骨導閾値の明らかな上昇はなく、その後めまいも軽快したため経過観察を行っていた。術後 8 日目に高度混合難聴となったため CT 検査を施行したところ、前庭内に空気を認め迷路気腫と診断した。保存治療を 1 週間行なったが、聴力は不変であったため、手術治療を行った。前庭の空気を生理食塩水で置換し内耳窓閉鎖術を行なった。術後めまいは治癒し、聴力も劇的に改善した。本症例には CTP 検査は施行しなかった。

#### 【症例 3】アブミ骨外傷性迷路気腫

耳かきで左耳を受傷した直後より左耳閉感と軽いめまいが出現し、受傷翌日に当院を受診した。聴力検査では混合難聴を認めた。めまいがあり鼓膜穿孔が後上象現のため、CT 施行した所、迷路気腫を認め、手術治療を行なった。アブミ骨底板は外側へ脱臼しており、外リンパの漏出を認めた。キヌタ骨もずれていたため、合わせて元の位置に戻し、アブミ骨周囲を筋膜で被覆して手術を終了した。めまいは治癒し、聴力も改善した。CTP 検査は陽性であった。

#### 【症例 4】アブミ骨外傷性迷路気腫

耳かきで左耳を受傷した直後より左難聴、頭位性めまい出現。めまいが続くため、受傷 1 ヶ月後に他院より紹介。聴力は伝音難聴。CT 所見では、アブミ骨の陥入と前庭内の気泡をみとめ、迷路気腫と診断した。アブミ骨陥入例であり、手術治療による内耳障害のリスクも考えたが、発症 1 ヶ月経過例であり、かつ当科初診時に行なった CTP 検査が強陽性であった。このため外リンパの漏出が持続することにより、遅発性の内耳障害を来す可能性が高いと考えられたため、手術治療を選択した。アブミ骨は前庭内に陥入していたが、抵抗なく引き抜けたので、アブミ骨は摘出した。伝音再建はアブミ骨手術に準じテフロンピストンを使用して行った。術後聴力は改善し、頭位性めまいも治癒した。

## D. 考察

1. 内耳発達過程における COCH 遺伝子の発現について今まで報告はされていない。今回の検討により、ラットにおいて COCH 遺伝子は生後 3 日目、cochlin は外リンパにおいて生後 9 日目とそれぞれ内耳が成熟する前から発現していることが明らかとなった。Cochlin の機能は今までではっきりとは分かっていないが、内耳の細胞外マトリックスとして線維細胞周囲の結合組織の特にタイプ II コラーゲンに付着し (6, 7)、内耳の成熟とともに発現が増強することから、イオンや水輸送などに関与する蛋白ではないかとの推測もされている。外リンパをサンプルとした生後発達過程における難聴遺伝子関連蛋白の発現パターンの解析は未だ報告されておらず、外リンパには未知の部分が多い。今後、外リンパの研究が発展することにより、cochlin の未知の機能が明らかになる一助となっていくものと思われる。

2. 1984 年に Mafee らによって初めて報告されて以来、迷路気腫は現在までに国際誌において、22 編 28 例、29 耳が報告されているのみの比較的稀な疾患とされている。海外の報告では迷路気腫の受傷機転として、側頭骨骨折をはじめとした、頭部外傷や術後性迷路気腫の報告が多いが、本邦では「耳かき」の習慣があるためか、直達外力による迷路気腫の報告が多い傾向にある。耳かきがアブミ骨に当たることでアブミ骨が陥入、骨折することで生じる迷路気腫の症例が多い。症例 4 のように、発症 1 ヶ月経過しても迷路気腫が存在＝漏出が持続していながら、感音成分が正常であった症例もあり、従来考えられている臨床像とは異なる経過をたどる外リンパ瘻が存在する。

本疾患の診断名は英文誌においては一般に迷路気腫 (pneumolabyrinth) が使われている。しかしながら、本邦の論文や会議録などの報告では、「前庭に気泡を認めた症例」など、診断名が統一されていない。今後、「迷路気腫」という診断名が認知されることにより症例が増えることで、迷路気腫の臨床像がよりはっきりとしたものになるものと考えられる。

## E. 結論

めまいを伴う遺伝性難聴 (非症候性優勢遺伝性難聴 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. 研究発表

### 1. 論文発表

- Ikezono T, Sugizaki K, Shindo S, Sekiguchi S, Pawankar R, Baba S, Yagi T. (2009) : Temporal analysis of profuse fluid leakage (gusher) from cochleostomy Acta Oto-Laryngologica. (in press)
- Li L, Ikezono T, Sekine K, Shindo S, Matsumura T, Pawankar R, Ichimiya I, Yagi T. (2009) : Molecular cloning of the Coch gene of guinea pig inner ear and its expression analysis in cultured fibrocytes of the spiral ligament. Acta Oto-Laryngologica. (in press)
- Hosokawa S, Mizuta K, Nakanishi H, Hashimoto Y, Arai M, Mineta H, Shindo S, Ikezono T. (2009) : Ultrastructural localization of cochlin in the rat cochlear duct. Audiol Neurootol. (in press)
- Ikezono T, Shindo S, Sekiguchi S, Morizane T, Pawankar R, Watanabe A, Miura M, Yagi T. (2009) : The performance of CTP detection test for the diagnosis of perilymphatic fistula. Audiol Neurootol. 15(3) : 168-174.
- Ikezono T, Shindo S, Sekiguchi S, Charuk H, Li L, Pawankar R, Morizane T, Baba S, Koizumi Y, Sekine K, Watanabe A, Komatsuzaki A, Murakami S, Kobayashi T, Miura M, Yagi T. : Cochlin-tomoprotein (CTP), a novel perilymph-specific protein and a potential marker for the diagnosis of perilymphatic fistula. Audiol Neurootol. 14:338-344.
- 池園哲郎、清千鶴子、酒主敦子、小泉康雄、新藤晋、八木聡明：めまい及び随伴症状に対するカリジノゲナーゼとアデノシン三リン酸

ニナトリウムの治療効果比較. Equilibrium Research . (in press)

- ・池園哲郎(2009)：【メニエール病を理解する】メニエール病と周辺疾患 急性低音障害型感音難聴. JOHNS 25(6)：895-898.
- ・渡辺行雄、池園哲郎、伊藤壽一、柿木章伸、肥塚泉、鈴木衛、高橋克昌、工田昌也、武田憲昭、土井勝美、山下裕司、青木光広、宇佐美真一、高橋正紘、長沼英明：厚生労働省難治性疾患克服研究事業前庭機能異常に関する調査研究班(2009)メニエール病診断基準. Equilibrium Research 68(2)：103-106.
- ・小泉康雄、池園哲郎(2009)：乗り物酔いの機序とその予防対策. 小児科. 50(5)：629-635.
- ・池園哲郎(2009)：【訴えからみためまいの見分け方】外傷後のめまい. ENTONI 102：53-59.
- ・池園哲郎(2010)：外リンパ瘻の診断と治療のEBMとは. EBM耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍の治療(武田 憲昭編)：2010-2011, 中外医学社 . (印刷中)
- ・池園哲郎(2010)：外リンパ瘻『よくわかる『聴覚障害』 難聴と耳鳴のすべて』(小川 郁編)：永井書店. (印刷中)
- ・池園哲郎(2009)：外傷による恒常性の破綻と内耳障害. 日常臨床に役立つめまいと平衡障害(内野善生編)：123-130, 金原出版.

## 2. 学会発表

- ・池園哲郎：シンポジウム 頭頸部外傷への対応 -聴器外傷-. 第20回日本頭頸部外科学会 2010.1(予定)
- ・松田帆、池園哲郎ら：当科における真珠腫初回手術例の進展度. 第19回日本耳科学会, 2009, 10.
- ・椎葉恭子、新藤晋、池園哲郎、関根久遠、八木聰明：生後ラット内耳における COCH -蛋白と遺伝子発現の比較-. 第19回日本耳科学会, 2009, 10.
- ・池園哲郎、新藤晋、八木聰明：癒着鼓膜の再癒着防止効果と換気機能も併せ持ったH型換気ドレーンチューブ-その使用方法と治療効果-. 第19回日本耳科学会, 2009, 10.
- ・池園哲郎、新藤晋、八木聰明：癒着性中耳炎治療用のH型換気ドレーンチューブの開発. 第110回日本耳鼻咽喉科学会, 2009, 5.

- ・杉崎一樹、他(9人中2番目)：外リンパ瘻脳脊髄液ガッシャー噴出液の生化学的解析. 第110回日本耳鼻咽喉科学会, 2009, 5.
- ・新藤晋、池園哲郎他：経外耳道的中耳外傷のマルチセンタースタディー. 第110回日本耳鼻咽喉科学会, 2009, 5.

## G. 知的財産権の出願状況

- ・特許  
(特許取得)
  1. 【日本】発明の名称：外リンパ瘻の検出方法  
特許権者：学校法人日本医科大学・三菱化学株式会社  
発明者：池園哲郎、八木聰明、大森彬  
特許番号：特許第4172777号(2008年8月22日)  
公開番号：特開2004-85552(2004年3月18日)  
出願番号：特願2003-182860(2003年6月26日)
  2. 【日本】発明の名称：耳治療用成型物  
特許権者：学校法人日本医科大学・株式会社高研  
発明者：池園哲郎、八木聰明  
特許番号：特許第4172808号(2008年8月22日)  
公開番号：特開2008-161545(2008年7月17日)  
出願番号：特願2006-356080(2006年12月28日)
  3. 【外国 中国】発明の名称：外リンパ瘻の検出方法  
特許権者：学校法人日本医科大学  
発明者：池園哲郎、八木聰明、大森彬  
特許番号：ZL03815172.3(2007年9月5日)  
公告番号：CN100335502-C(2007年9月5日)  
出願番号：03815172.3(2003年6月26日)
  4. 【外国 オーストラリア】発明の名称：外リンパ瘻の検出方法  
特許権者：学校法人日本医科大学  
発明者：池園哲郎、八木聰明、大森彬  
出願番号：2003243985(2003年6月26日)  
特許番号：2003243985(2009年7月3日)

特許申請状況

NO. 特許権者、発明者、特許番号等

(特許申請中)

1. 【外国 アメリカ合衆国】発明の名称：外リンパ瘻の検出方法

特許権者：学校法人日本医科大学

発明者：池園哲郎、八木聰明、大森彬

出願日：2003年6月26日

出願番号：10/517,778

2. 【外国 EP (ヨーロッパ特許)】発明の名称：外リンパ瘻の検出方法

特許権者：学校法人日本医科大学

発明者：池園哲郎、八木聰明、大森彬

出願日：2003年6月26日

出願番号：03736265.4

(特許審査請求中)

1. 【日本】発明の名称：眼振誘発装置

出願人：学校法人日本医科大学

発明者：加藤政利、新藤 晋、野原秀明、池園哲郎、八木聰明

特許出願番号：特願 2005-179515 (2005年6月20日)

特許公開番号：特開 2006-346346 (2006年12月28日)

審査請求日：2008年6月12日

## 研究要旨

- 1) 末梢前庭障害に対する機能的再生において有毛細胞の再生は重要な課題の一つである。近年耳毒性薬物・内耳虚血などの急性内耳障害、また加齢などによる慢性的内耳障害におけるフリーラジカルの関与が報告されている。また抗酸化剤投与でメニエール病が改善するとの報告もあることより、今回我々は活性酸素を産生する薬剤を用いて前庭耳石器上皮障害し、水素ガスを用いてその抗酸化作用を検討した。水素ガスは近年その抗酸化作用について多くの報告があり、ガス状であるため血液脳関門に捕われずに、頭蓋内に到達することが可能である。今回我々の実験では、水素ガスを投与した群では、有毛細胞の障害が抑制されており、水素ガスは活性酸素を除去し、有毛細胞の保護効果があると考えられた。
- 2) 頸部筋には固有感覚器が豊富に存在し、頸部の捻転刺激で眼振が誘発される（cervico-ocular reflex ; COR）。めまい症例での頸部固有感覚入力への眼運動系への関与を検討し、頸部固有感覚による前庭機能低下の代償は、主に低速度の頭部回転で有用であり、高速度ではあまり機能しないことが判明した。
- 3) 内耳障害の治療として、ラセン神経節の再生を目指して、骨髄間葉系細胞への内耳への移植に関する研究を行った。モルモット骨髄間質細胞をbFGFおよびEGFを用いて、ニューロスフェアに分化誘導を行った。ニューロスフェアは神経前駆細胞のマーカーであるnestinおよびMusashi-1陽性となり神経前駆細胞を含むと考えられた。ニューロスフェアを一定の条件で神経への分化誘導を行ったところ、ニューロスフェアは突起の伸長を認め神経様の細胞へと形態が変化し、神経細胞のマーカーである $\beta$ -III tubulin陽性となり、神経様細胞へ分化し、ニューロスフェアは神経様細胞への分化能を有すると考えられた。続いて、このニューロスフェアを生体内での神経への分化能をみるため、ウアパインによるラセン神経節障害モデルのモルモットに移植を行った。移植4週間後に蝸牛を回収し、組織評価を行ったところ、いずれの蝸牛にも移植細胞の生着を認めた。さらに移植細胞の24.1%が $\beta$ -III tubulin陽性となり、移植後神経様細胞に分化したと考えられた。これはこれまでの報告より高値であり、移植前に神経前駆細胞を含むニューロスフェアに分化誘導を行うことで、特段の分化誘導を行わない場合に比べ移植後、高率に神経様細胞に分化することができた。

## A. 研究目的

- 1) 近年耳毒性薬物・内耳虚血などの急性内耳障害、加齢による慢性的内耳障害におけるフリーラジカルの関与が報告されている。ビタミンEなどの抗酸化物質が注目されており、抗酸化作用には、抗酸化物質に含まれる水素原子の関与が知られているものの、水素分子の生体内での抗酸化作用については殆ど報告されていなかった。しかし、Ohtaらが、水素ガスを用いてフリーラジカルからの大脳神経細胞保護効果を発表した（Ohsawa 2007 Nature Med）。また Kikkawa らは蝸牛上皮を用いて水素ガスの効果を報告した（Kikkawa 2009 Neuroreport）。そこで今回我々前庭耳石

器上皮障害モデルを用いて、水素ガスの抗酸化作用について検証した。

- 2) 頸部筋には固有感覚器が豊富に存在し、頸部の捻転刺激で眼振が誘発される（cervico-ocular reflex ; COR）。これらは網膜結像の安定に寄与すると考えられているものの、その詳細は未だ不明である。今回、めまい症例での頸部固有感覚入力への眼運動系への関与を検討した。
- 3) 骨髄間質細胞を神経前駆細胞に分化誘導後に内耳へ移植することによる効果をみる。

## B. 研究方法

- 1) 生後2日齢マウスより前庭耳石器上皮を

摘出し、培養液を水素ガス飽和液に交換、同時にAntimycin Aを添加した。24時間後、組織を固定し有毛細胞を観察した。またFM1-43の取り込みについても検討し、有毛細胞の機能についても評価した。メカニズム解明のため、HPFにても染色し、フリーラジカルの除去効果についても検討した。

2) 当院めまい外来を受診した各種めまい症例を対象とし、診察椅子の手動回転に対するVOR (passive whole body rotation: bVOR、前庭刺激のみ) の利得を前庭機能の指標とした。さらに、診察椅子に座った被験者の頭部に受動的な振り様回転刺激を与えた時のVOR (passive head rotation: hVOR、前庭刺激と頸部捻転刺激) を記録し、bVORと比較した。

3) 今回の研究にはモルモットを使用した。モルモットの骨髄間質細胞を分離・培養を行い、bFGF、EGF等を含む培養液で培養を行うことで、神経前駆細胞に分化誘導を行った。ウアバインの投与を行い、ラセン神経節に障害を与えた後に、神経前駆細胞に分化誘導を行った骨髄間葉系細胞を移植した。

移植細胞の生着の有無および、e A B Rを用いて移植によるラセン神経節の機能の改善の有無について評価を行った。

### C. 研究結果

1) Antimycin Aは有毛細胞障害を惹起し、水素ガスによりAntimycin Aによる感覚毛の減少が抑制され、形態も比較的保たれる傾向にあった。またFM1-43の取り込みも、水素ガス投与で多く見られ機能的にも保護されていると考えられた。活性酸素を評価するHPF染色でも、水素ガス投与で抑制され活性酸素が除去されたと考えられた。

2) 前庭機能低下例において頭部回転角速度が低い領域ではhVORの利得はbVORよりも大きくなったが、これは頭部回転速度が大きい領域ではあまり見られず、hVORの入出力は非線形になる傾向を認めた。

3) 骨髄間質細胞をbFGF、EGFを含む培地で培養を行ったところ、sphereの形成を認め、これらの細胞は神経前駆細胞のマーカーであるnestinおよびMusashi-1陽性となり、神経前駆細胞と考えられた。

細胞移植を行ったすべての蝸牛において、移植した細胞の生着を認めた。移植細胞の24.1%は神経のマーカーである $\beta$  III-tubulin

陽性となり、移植後神経細胞に分化したと考えられた。e A B Rによる評価では移植によるラセン神経節の機能の改善はみられなかった。

### D. 考察

1) 水素ガスはAntimycin Aによる活性酸素の発生を除去することで、活性酸素からの障害を保護することが出来た。また機能的にも保護可能であった。水素ガスは安全であることより、臨床応用にも期待できると考えられる。

2) 頸部固有感覚による前庭機能低下の代償は、主に低速度の頭部回転で有用であり、高速度ではあまり機能しないことが示唆された。

3) これまで、ラット、マウスの骨髄間質細胞を神経前駆細胞に分化誘導を行った報告は散見されるが、渉猟し得た限りでは、モルモットの骨髄間質細胞を神経前駆細胞に分化誘導を行った報告はみられない。モルモットの内耳の解剖学的特徴等から、これまで多施設においてモルモットを用いた内耳研究が多く報告されている。これまで我々の研究室でもモルモットへの細胞移植手技を確立してきた。今回同種移植を行うことを目的として、モルモット骨髄間質細胞より神経前駆細胞を作製した。さらに骨髄間質細胞を移植前に神経前駆細胞に分化誘導を行うことで、24.1%が細胞移植後神経細胞に分化した。今回の研究ではこれまでの報告と比べて、高率に移植細胞を神経細胞に分化させることができた。これまでの報告では移植前に特段の分化誘導を行わずに移植を行っていたのに対して、本研究では細胞移植前に神経前駆細胞に分化誘導を行うことで、高率に神経細胞に分化させることができたと考えられる。残念ながら、e A B Rを用いた検査では移植によるラセン神経節の機能の改善をみることはできなかった。今後、移植細胞の分化誘導方法、移植後の処置等について改良が必要と考えられた。

骨髄間質細胞は比較的容易に採取することが可能で、今後臨床応用を考えた際に骨髄間質細胞を用いた細胞移植は有用であると考えられる。今回の研究では、移植前に神経前駆細胞に分化誘導を行うことで、これまでの報告に比べて、高率に移植後神経細胞に分化させることができ、今後、細胞移植による機能

改善を得るためにはさらなる改良が必要と考えられるものの、細胞移植による内耳治療の研究に寄与すると考えられた。

## E. 結論

- 1) 水素ガスは前庭においても活性酸素による有毛細胞の障害を形態的にも機能的にも保護することが可能であった。
- 2) 頸部固有感覚による前庭機能低下の代償は、主に低速度の頭部回転で有用である。
- 3) 骨髄間質細胞を、細胞移植前に神経前駆細胞に分化誘導を行い、蝸牛に移植を行った。移植した細胞は蝸牛内に生着し、これまでの報告と比較し、高率に神経に分化させることができた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- Ogita H, Nakagawa T, Sakamoto T, Inaoka T, Ito J.: Transplantation of bone marrow-derived neurospheres into guinea pig cochlea. *Laryngoscope*. 120(3), 576-581, 2010.
- Akiko Taura, Kojiro Taura, Yun-Hoon Choung, Masatsugu Masuda, Kwang Pak, Eduardo Chavez, Allen F. Ryan: Histone Deacetylase Inhibition Enhances Adenoviral Vector Transduction. *Neuroscience*. 2010 Jan 6. (in press)
- 伊藤壽一: 耳鼻咽喉科手術トレーニング. *耳鼻臨床*, 102(1): 1-3. 2009.

### 2. 学会発表

- Ito J. Round Table Discussion: Meniere's disease - Inner ear pressure regulation out of control. 80th Annual Meeting of the German Society of Oto-Rhino-Laryngology, Head and Neck Surgery. Rostock, Germany. HanseMesse. May 20-24, 2009.
- Ito J. Symposia: Innovations in Pharmacology and the Inner Ear. 'Local Drug Delivery Therapy for Inner Ear Diseases.' 27th Politzer Society Meeting. London, UK. The Queen Elizabeth II Conference Centre. Sep 3-5, 2009.
- Ito J. Instruction Courses: Regeneration Therapy for the Inner Ear Diseases. AAO-HNS 2009 Annual Meeting & OTO EXPO. San Diego U.S.A. San Diego Convention Center. Oct 4-7 2009.
- Ito J. New drug delivery systems for inner ear diseases. The 10th US-Japan Symposium on Drug Delivery Systems. U.S.A. The Westin Maui. Dec 16-20 2009.
- Ogita H, Nakagawa T, Inaoka T, Sakamoto T, Ito J: Regeneration of spiral ganglion neurons by transplanting bone marrow stromal cell-derived neural progenitor cells. 46th. Inner Ear Biology Workshop. Utrecht The Netherlands Sep 12-15, 2008
- 扇田秀章, 中川隆之, 坂本達則, 稲岡孝敏, 伊藤壽一. 骨髄間質細胞を用いたラセン神経節再生. 第 110 回日本耳鼻咽喉科学会, 2009, 5, 14-16, 東京.
- 扇田秀章, 中川隆之, 坂本達則, 稲岡孝敏, 伊藤壽一: 骨髄間質細胞由来神経前駆細胞によるラセン神経節再生. 第 19 回日本耳科学会, 2009, 10, 8-10, 東京
- 扇田秀章, 清水享子, 細見佳子, 田浦晶子, 船曳和雄, 伊藤壽一. めまい症例における自覚的視性垂直位(SVV)と遮眼書字検査の検討. 第 10 回京滋めまいカンファレンス, 2009, 10, 24.
- 扇田秀章, 船曳和雄, 田浦晶子, 伊藤壽一: コンピュータを用いた遮眼書字検査の記録および解析について. 第 68 回めまい平衡医学会, 2009, 11, 25-27, 徳島.
- 重野浩一郎, 扇田秀章, 船曳和雄: 良性発作性頭位めまい症の睡眠頭位: 第 68 回めまい平衡医学会, 2009, 11, 25-27, 徳島.
- 田浦晶子, 中川隆之, 伊藤壽一:  $\gamma$ セクレターゼ阻害剤および Espin 遺伝子による前庭有毛細胞の感覚毛再生. 第 110 回日本耳鼻咽喉科・頭頸部外科学会, 2009, 5, 14-16, 東京.
- 田浦晶子, 扇田秀章, 船曳和雄, 中川隆之, 伊藤壽一: 前庭組織における水素水の活性酸素保護効果. 第 10 回京滋めまいカンファレンス, 2009, 10, 24, 京都.
- 田浦晶子, 中川隆之, 伊藤壽一: 前庭組織における水素水の活性酸素保護効果. 第 68 回めまい平衡医学会, 2009, 11, 25-27, 徳島.

## 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

## 研究要旨

メニエール病の病理組織学的特徴は内リンパ水腫である。これまで我々はメニエール病患者の血漿抗利尿ホルモンが高値であることを報告し、このことを基に抗利尿ホルモンを動物（モルモット）に投与することでメニエール病のモデル動物（内リンパ水腫動物）が作成できることを報告してきた。このモデル動物の問題点としては内リンパ水腫の程度が軽度であることがあげられる。これを克服するために、新たな内リンパ水腫動物を作成した。方法は、従来行われてきた内リンパ管および囊閉鎖術を行った動物に抗利尿ホルモン作動薬を投与することである。この方法は抗利尿ホルモン単独投与に比べ高度の内リンパ水腫が作成できる。さらにこの動物モデルにおいて一過性の自発眼振と体平衡異常を認めた。本年度は、さらにこのモデル動物を用いて、より慢性的な動物モデルを作成し、生理学的および形態学的に研究を進めた。具体的には、これまで内リンパ管および囊閉鎖術後1週間飼育した動物を使用していたが、4週間飼育ののちに抗利尿ホルモンを投与前庭機能異常の程度と形態学的変化を検討した。結果は、1週間飼育モデルよりも麻痺性の自発眼振が多い傾向にあり、組織学的にも高度の内リンパ水腫を認めた。このことより、内リンパ囊の障害が高度もしくは内リンパ水腫の状態が長期に及ぶと抗利尿ホルモンの内耳に対する影響がより強くなると考えられる。本モデル動物は、ヒトのメニエール病の病態にきわめて類似していると考えられる。

### A. 研究目的

メニエール病の病態解明のためにモデル動物を作成し前庭機能を検討する。

### B. 研究方法

有色モルモット28匹を使用し、以下の5群について前庭機能と組織学的変化を検討した。

A群（手術群）4匹に対し、全身麻酔下に左側内リンパ管・囊閉塞術を施行後1週間飼育。

B群（デスマプレッシン群）4匹に対し、抗利尿ホルモンV2作動薬であるデスマプレッシン100  $\mu$ g/kgを皮下注。

C群（手術（1W）+デスマプレッシン群）8匹に対し、全身麻酔下に左側内リンパ管・囊閉塞術を施行後1週間飼育後デスマプレッシン100  $\mu$ g/kgを皮下注。

D群（手術（4W）+デスマプレッシン群）8匹に対し、全身麻酔下に左側内リンパ管・囊閉塞術を施行後4週間飼育後デスマプレッシン100  $\mu$ g/kgを皮下注。

コントロール群4匹に対し、生食を皮下注。

これら5群に対し、眼振記録：暗所にて赤外線CCDカメラシステムで測定（各群4匹）、組織学的検討：側頭骨標本をHE染色し、内リンパ水

腫の程度を検討、体平衡異常の観察：C・D群（各4匹）において1時間の行動観察を行った。（倫理面への配慮）

動物実験は、東京大学大学院医学系研究科動物実験委員会の規定に沿って行った。

### C. 研究結果

自発眼振の発生頻度を表1に示す。C・D群においては全例に自発眼振を認めた。図1にC、D群の自発眼振の最大緩徐相速度を示す。図2-4は、内リンパ水腫の程度を示している。表2には各群における内リンパ水腫の程度を示す。D群において内リンパ水腫の程度が最も高度となっている。表3にC、D群の体平衡異常のまとめを示す。各動物によってめまいの性状は若干異なるが、いずれも体平衡障害を認めた。

### D. 考察

今回、新しい内リンパ水腫モデル動物（C、D群）を作成し、従来のモデル（A、B群）と比較した。組織学的には、A、B群では軽度の内リンパ水腫、C、D群ではより高度の内リンパ水腫、特にD群において顕著であった。