

### 13. CREBリン酸化up regulationと前庭神経系

下郡博明、豊田英樹、菅原一真、橋本 誠、山下裕司（山口大）

#### [はじめに]

CREBとはcAMP応答配列結合と呼ばれる脳細胞の核の中に存在する分子であり、CREBのリン酸化はneurogenesisに深く関与しているとされている。たとえば、海馬においてはマイルドなストレスはリン酸化されたCREBの活性化を引き起こし、神経細胞の突起が増加することが報告されている。前庭神経節細胞においても、種々の刺激や障害でCREBのリン酸化が生じることがわかっている。我々は、障害後の前庭神経系の回復を円滑に行うためには、このCREBのリン酸化が重要であると考えている。抗うつ剤として開発されたロリプラムは、cAMPを活性化しプロテインキナーゼA(PKA)を活性化することで、核内のCREBのリン酸化を促進させる作用がある。今回我々は、この薬剤を内耳局所投与に用い得る可能性を検討するために、ロリプラムを一側内耳に直接投与することが前庭神経系に与える影響を、前庭神経節細胞内でのCREBのリン酸化や振子様回転検査を通して検討したので報告する。

#### [対象と方法]

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。方法は当科で以前より報告している浸透圧ポンプを用いた薬剤の内耳直接投与手技に準じた。キシラジンとケタラルー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。浸透圧ポンプは背部皮下に留置した。術側は全て右耳とした。ロリプラムが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調整したカテーテルを浸透圧ポンプに接続した。術前とロリプラム注入後12時間、36時間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、両側前庭神経節を摘出後、p-CREBを免疫染色にて観察した。

#### [結果]

ロリプラム注入後36時間の時点で投与側のVOR gainは低下する傾向を認めた(図1)。ロリプラム投与後12時間では、両側前庭神経節細胞にp-CREB陽性所見を認め、これは36時間後でも同様であった。しかし、36時間後には前庭神経節細胞に空胞様の変化を認めた。(図2)

#### [考察]

迷路破壊や半規管部分切断を行うことで前庭神経節細胞にp-CREBの発現は認めるものの、全て障害早期のみであり障害後8時間以内に消失している過去の研究結果から考えると、ロリプラムを内耳に局所投与することで、前庭神経節細胞にp-CREBの発現を継続的に誘導できることがわかった。しかし、同時に前庭神経節細胞に何らかのダメージを与える可能性が、機能面、形態面でも示唆された。このことは、ロリプラムを用いたCREBリン酸化は必ずしも前庭神経系にとっては安全なものではない可能性があると考えた。

#### [結論]

ロリプラムの内耳局所投与は、前庭神経節細胞でのCREBリン酸化のup regulationを誘導したが、機能面、形態面で何らかのダメージを与える可能性も示唆された。

図1

VOR gainの経時変化

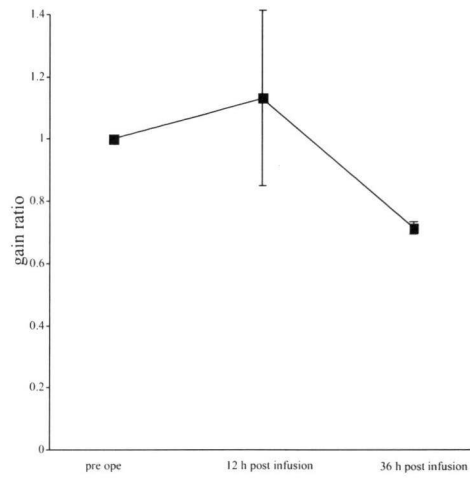
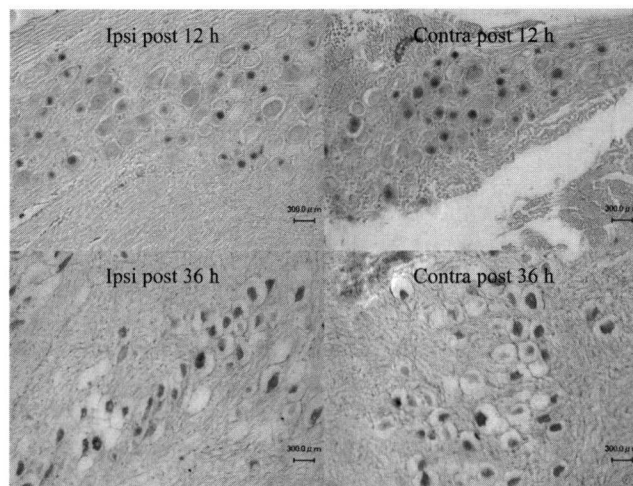


図2

組織学的所見



## 14. ポリフェノールによる有毛細胞保護の試み

菅原一真、福田裕次郎、橋本 誠、豊田英樹、下郡博明、山下裕司（山口大）

### [はじめに]

ポリフェノールは植物に含有される多くのフェノールが結合した化合物の総称であり、約5000種類が知られている。近年、その作用を期待され、健康食品や医薬品への利用が進んでいる。ある種のポリフェノールは、細胞保護作用を持つことが知られており、その有用性が期待される。しかしながら、これまで耳科領域での効果はほとんど検討がなされていない。今回、我々は、ポリフェノールであるResveratrolの有毛細胞保護効果について検討したので、報告した。

### [対象と方法]

実験動物として生後4週から6週のCBA/Nマウスを用いた。深麻酔下に無菌操作で両側の卵形嚢を摘出した。組織は培養液（BME/EBSS 2:1 %v）に浮遊させ、CO<sub>2</sub>インキュベーター内で培養した。有毛細胞死を誘導するために2 mMのネオマイシンを培地に加えた。卵形嚢培養を分割し、コントロール群、ネオマイシン群、ポリフェノール群を作成した。コントロール群では溶媒のDMSOのみ溶解させた。ネオマイシン群では、2 mMのネオマイシンとDMSOを培地に加えた。ポリフェノール群では、ネオマイシン（2 mM）に暴露させる1時間前にResveratrolを1-100 μMの濃度で培地に少量のDMSOとともに溶解させた。培養時間はネオマイシンに暴露させた後の24時間とし、培養終了後、組織は速やかに4%パラホルムアルデヒドで固定した。有毛細胞を標識するために、一次抗体として抗カルモデュリン抗体、抗カルビンディン抗体を用いた2重免疫組織化学染色を行い、顕微鏡下に単位面積あたりの有毛細胞数を評価した。

また、ヒドロキシラジカルの産生を評価するために、3群の培養時間を12時間とした標本を作成し、一次抗体として、抗4-ヒドロキシノネラル抗体を用いた免疫組織化学染色を行い、蛍光顕微鏡で観察した。

### [結果]

24時間培養後の残存有毛細胞の密度を図に示す。抗カルビンディン抗体で標識された有毛細胞が存在する部分を、Striolar regionとして評価し、抗カルモデュリン抗体のみで標識された有毛細胞が存在する部分をExtrastricular regionとして評価した。コントロール群では有毛細胞の消失はほとんど認めなかったが、ネオマイシン群では、24時間の培養後に有毛細胞は約50%に減少していた。ポリフェノール群では、有毛細胞密度の減少が有意に抑制されていた。効果は濃度依存的であり、100 μMのResveratrolを加えた群で、残存有毛細胞が最も多かった。ヒドロキシラジカルの代謝産物である4-ヒドロキシノネラルに対する免疫組織化学染色では、ネオマイシン群で認められた染色性の増加は、ポリフェノール群で抑制されているように認められた（データ非掲載）。

### [考察]

Resveratrolは、ブドウの皮に含まれるポリフェノールであり、赤ワインの消費量と冠動脈疾患の有病率に逆相関を認めること<sup>1)</sup>や、高カロリー食を与えたマウスの寿命を延長すること<sup>2)</sup>で注目されている物質である。薬理的には、抗酸化作用、抗血小板作用、線溶促進作用が有用であるとされてきた。

今回示した結果では、Resveratrolの添加がアミノグリコシドによる有毛細胞障害を有意に抑制した。アミノグリコシドによる有毛細胞障害にはヒドロキシラジカルの産生が関与していることが知られており、ヒドロキシラジカルの代謝産物である4-ヒドロキシノネラルについて評価した。その結果、Resveratrol

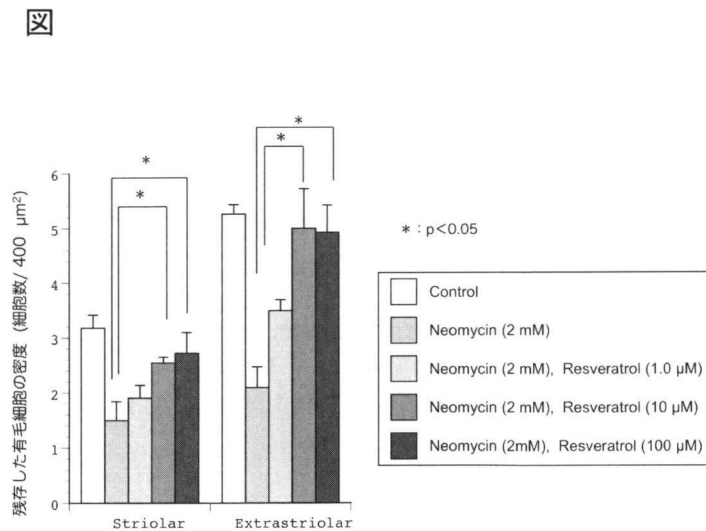
は有毛細胞においてヒドロキシラジカルの産生を抑制することが明らかになった。これは有毛細胞が保護された機序のひとつとして考えられる。ただし、Resveratrolの作用機序は、抗酸化作用以外にも多く知られており、その他の薬理作用も同時に有毛細胞保護に働いた可能性がある。今後、これらの機序を検討する必要があり、検討課題としたい。

[結論]

ポリフェノール的一种であるResveratrolが、アミノグリコシドによる内耳障害を抑制できることを示した。保護作用の機序のひとつとして、Resveratrolの抗酸化能が考えられた。

[参考文献]

- 1) Renaud SC et al. Alcohol and platelet aggregation: the Caerphilly Prospective Heart Disease Study. Am J Clin Nutr 55: 1012-7, 1992.
- 2) Baur JA et al. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. Nature 444: 337-42, 2006.



## 15. サブスタンスPによる末梢前庭保護効果の検討

豊田英樹、下郡博明、菅原一真、橋本 誠、山下裕司 (山口大)

### [はじめに]

サブスタンスPは興奮性の神経伝達物質として中枢神経および末梢神経に広く存在することが知られている。また、末梢前庭においても非常に豊富なサブスタンスPが存在することが報告されているが、その機能については不明な部分がほとんどである。これまで我々は、SPを一側内耳投与すると一過性に投与側の前庭機能亢進を認めることを報告してきた。今回はサブスタンスPが急性前庭障害に対する治療薬となりうる可能性を検討するために、AMPAによる急性前庭障害に対するサブスタンスPの有効性を検討したので報告する。

### [対象と方法]

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。方法は当科で以前より報告している浸透圧ポンプを用いた薬剤の内耳直接投与手技に準じた。キシラジンとケタラー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、シリンジポンプで10 mM AMPA 0.6 ml/h を5分間注入し障害モデルを作成した。さらに同じ小孔より浸透圧ポンプを接続したカテーテルを留置し、サブスタンスPおよびコントロールとして人工外リンパ液を持続的に投与した。浸透圧ポンプは皮下に留置し、術側は全て右耳とした。サブスタンスP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、人工外リンパ液を満たしたカテーテルをポンプに接続した。急性期の自発眼振数の計測と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。

### [結果]

サブスタンスP投与群では、サブスタンス投与後速やかに自発眼振数は軽減傾向となった (図1)。サブスタンスP投与3日後、7日後においてVOR gainの低下が抑制された (図2)。

### [考察]

サブスタンスP投与開始早期に自発眼振が抑制されたこと、さらにサブスタンスP投与3日目においてもVORの低下が抑制されたことより、サブスタンスPが神経保護効果を示してAMPAによる障害を抑制したと考えられた。

### [結論]

サブスタンスPはAMPAによる前庭障害に対する保護効果を有すると考えられた。

図1. 急性期自発眼振の経時的変化

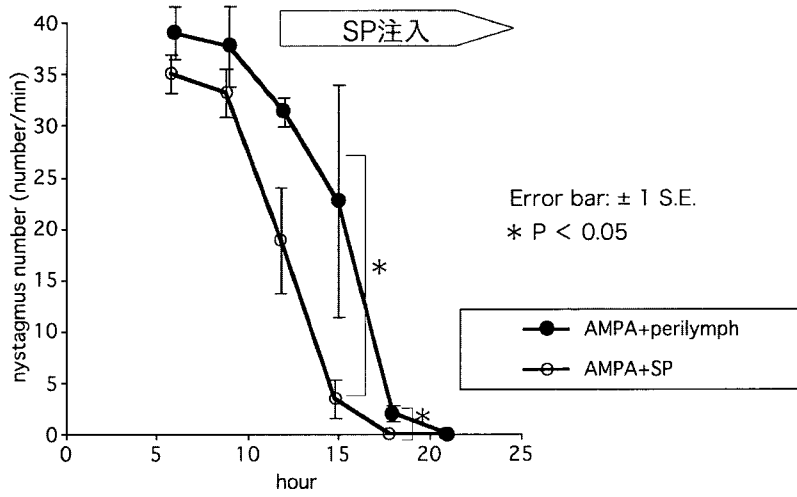
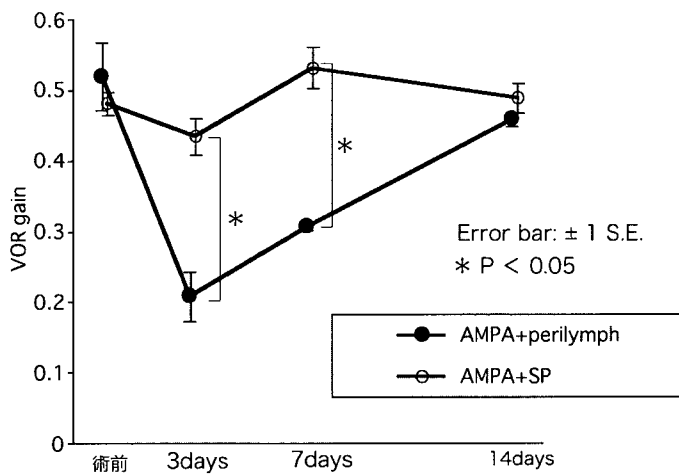


図2. 振子様回転刺激によるVOR



## 16. クプラの変性が半規管反応性に及ぼす効果について

飯村陽一、鈴木 衛、大塚康司、稲垣太郎、清水重敬、許斐氏元、小川恭生（東京医大）

### [はじめに]

クプラは半規管受容器の刺激装置として重要な役割を担っている。しかし形態学的に脆弱なためクプラ自体の研究は少ない。我々はすでにゲンタマイシンの外リンパ腔注入でクプラが縮小することを報告した(1)。このようなクプラの収縮は半規管の活動性やめまい症状を変化させる可能性がある。また、臨床的に温度眼振反応と頭振り眼振検査の結果に乖離のあることが知られている。この差は従来、緩徐な刺激と急速な刺激に対する異なった周波数感受性を持つ感覚細胞が存在するためと報告されてきた(2)。しかしながら、クプラが縮小したとすれば両者の結果に同様の差が生じることが推測される。今回、半切サイズのクプラに緩徐および急速刺激を与え、惹起される半規管の生理的活動を比較検討した。

### [対象と方法]

ウシガエルの後半規管を用いた。リング液内で後半規管を摘出し、膨大部の卵形囊側から墨汁で染色したクプラを微細ガラス管にて摘出した。クプラを摘出す手技は以前に報告した(3)。摘出したクプラを水平方向に微細剪刀で半切し(図1)、その下半分を膨大部稜上に再挿入した(図2)。マイクロシリンジに接続した微細ポリエチレン管を半規管切断部に挿入し、シリンジをマイクロマニピュレータで駆動し、機械的内リンパ流動によるクプラの刺激を行った。刺激は反膨大部方向へ $0.012\mu\text{l}$ の流動を立ち上がり1秒で与える急速刺激と5秒で与える緩徐な刺激の2種類を用いた。全刺激時間は10秒とし、半規管神経をガラス吸引電極で吸引し複合活動電位(CAP)を測定した(図3)。またクプラを摘出し、半切を行わずそのまま再挿入したものをコントロール群とし同様の実験を行った。解析方法は、5秒刺激の最大スパイク数を1秒刺激の最大スパイク数に対する百分率で表した。また、5秒刺激の反応持続時間を1秒刺激の反応持続時間に対する百分率で表した。

### [結果]

コントロール群では5秒刺激の1秒刺激に対する平均最大スパイク数比は109.7%であった。5秒刺激の1秒刺激に対する平均反応持続時間比は111.7%であった。クプラ半切群では5秒刺激の平均最大スパイク数はすべてのプレパラーションで1秒刺激より小さく79.8%であり(図4)、5秒刺激の平均反応持続時間比は1例を省いて1秒刺激より大きく平均163.1%であった(図5)。すなわち、コントロール群では平均最大スパイク数、平均反応持続時間ともに1秒刺激と5秒刺激の結果に差はなく、クプラ半切群では最大スパイク数は全ての標本において5秒刺激の方が1秒刺激に比べ小さい結果であった。また、反応持続時間は5秒刺激の方が1秒刺激に比べて長くなる傾向があった。

### [考察]

クプラは、半規管受容器刺激装置として重要な役割を担っている。しかし、形態学的な脆弱なためクプラの研究は少ない。我々はゲンタマイシン注入でクプラが縮小することを確認した(1)。この間、クプラの変化と感覚上皮の変化は必ずしも並行せず、クプラが縮小しても感覚上皮は保たれる。クプラが縮小するとクプラと膨大部壁との間で間隙が生じ、緩徐刺激ではこのスペースを内リンパが逃げるため活動電位が低下すると考えられた。また、急速な刺激では反応持続時間が短くなった。これはクプラと膨大部壁との間隙があるため、いったん偏位したクプラが容易にスイングバックするためと考えられた。

Head shaking test (HST) は急速な加速に反応させて前庭機能の不均衡を調べるのに用いられる。頭振りをくり返すと両側の外側半規管の活動性が非対称であれば活動電位が生じ、それが蓄積される。回転の停止により蓄積された電位は放出されて頭振り眼振 (HSN) が生じる。HSNとカロリックテストでの相関に関していくつかの検討がされている。メニエール病ではカロリックテストでCPになる率がHSNで陽性となる率より高い (4)。Weiらは末梢性めまい例でカロリックCP患者の40%がHSN陽性であったと報告している (5)。またJacobsonらは片側性前庭障害ではHSN陽性は21%であり、カロリックCPは44%であったと報告している (6)。このように両検査の結果に乖離が生じるのは、半規管感覚細胞に周波数特異性があるためと考えられてきた (2, 6)。

今回、クプラを半切したモデルでは緩徐な刺激では活動電位は著しく減少した。クプラが縮小すると急速な刺激ではクプラが動き電位が出るが、カロリックなど緩徐な刺激では刺激効果が弱まり活動活性が減少し電位が低下すると考えられる。急速な刺激では左右の半規管の活動にあまり差が出ず、HSNが出現しにくくなると考えられる。したがって、カロリックテストがCPでもHSNが出現する可能性が考えられる。メニエール病では内リンパ水腫により膜迷路が伸展することが報告されている (7, 8)。膜迷路の伸展によって、クプラ周辺に間隙が生じ、クプラが縮小した際と同様の影響をもたらす可能性が予想される。すなわちメニエール病では内リンパ水腫と同時に、相対的なクプラの縮小が生じカロリック反応が低下する可能性がある。また、縮小したクプラでは膨大部壁との接着がないためクプラの可動性が増し、頭位・頭位変換によりふらつき、めまいが生じ、難治性の頭位性めまい症の一因となることも推測された。

#### [まとめ]

1. クプラが縮小した場合の半規管神経電位の変化をモデル実験により観察した。
2. コントロール群では、平均最大スパイク数、平均反応持続時間ともに1秒刺激と5秒刺激の結果に差はなかった。
3. クプラ半切群では、5秒刺激の方が1秒刺激に較べて最大スパイク数は小さく、反応持続時間は長くなる傾向があった。
4. クプラの縮小がカロリック反応低下および難治性の頭位性めまい症の一因となりうると推測した。

#### [参考文献]

1. Konomi U, Suzuki M, Otsuka K, et al : Morphological change of the cupula due to an ototoxic agent-A comparison with semicircular canal pathology- Acta Otolaryngol [Epub ahead of print], 2009
2. Ahmed MF, Goebel JA, Sinks BC: Caloric test versus rotational sinusoidal harmonic acceleration and step-velocity tests in patients with and without suspected peripheral vestibulopathy. Otol Neurotol 30:800-805, 2009
3. Suzuki M, Harada Y, Kishimoto A: An experimental study on the physical properties of the cupula. Effect of cupular sectioning on the ampullary nerve action potential. Arch Otorhinolaryngol 241: 309-316. 1985
4. Park HJ, Migliaccio AA, Santina CCD, et al : Search-coil head-thrust and caloric tests in Meniere's disease. Acta Otolaryngol 125: 852-857, 2005
5. Wei D, Hain TC, Proctor LR: Head-shaking nystagmus: Associations with canal paresis and hearing loss. Acta Otolaryngol 108: 362-367, 1989
6. Jacobson GP, Newman CW, Safadi I: Sensitivity and specificity of the head-shaking test for detecting vestibular system abnormalities. Ann Otol Rhinol Laryngol 99:539-542, 1990
7. Schuknecht HF: Pathophysiology of endolymphatic hydrops. Arch Otolaryngol Head Neck Surg



8. Merchant SN, Adams JC, Nadol JB: Pathophysiology of Meniere's syndrome: Are symptoms caused by endolymphatic hydrops? Otol Neurotol 26:74-81, 2005

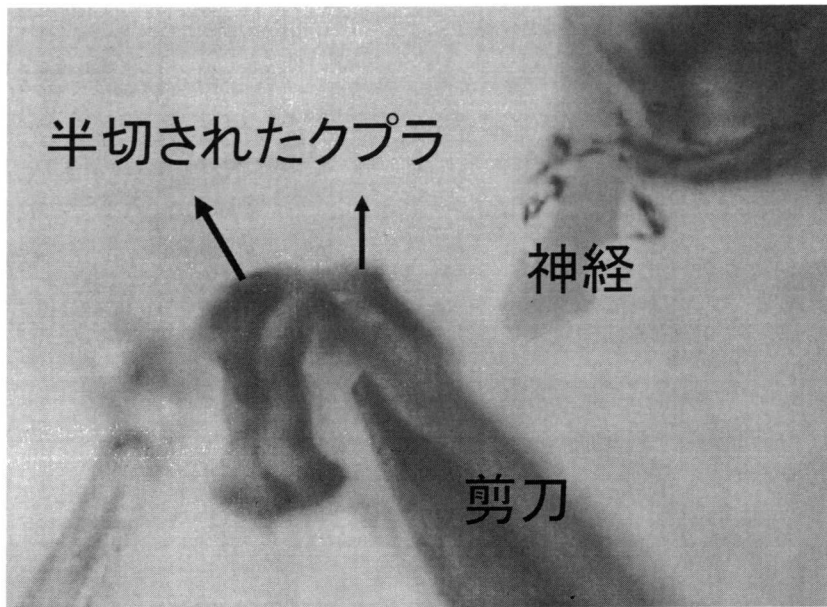


図1.クプラ半切の写真。

摘出したクプラを水平方向に微細ガラス管で保持しながら微細剪刀で半切した。

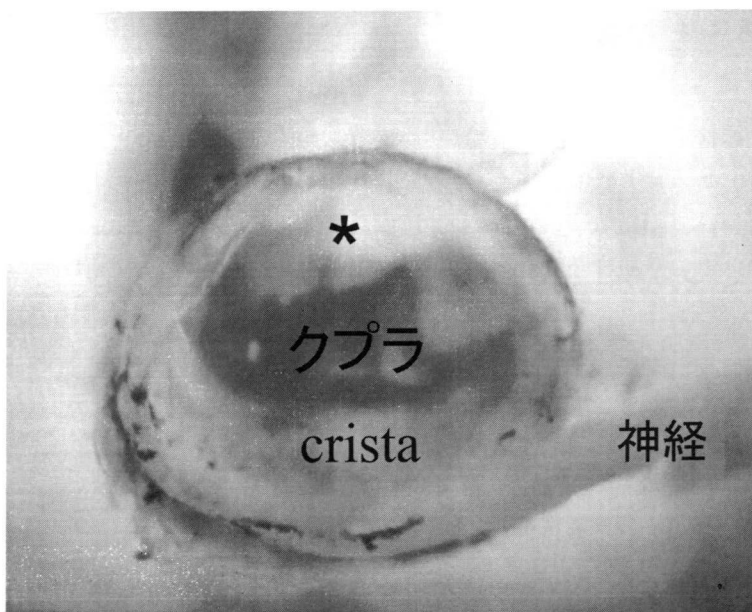


図2. 膨大部稜上に戻した半切クプラ

\* 印はクプラと膨大部周囲との間隙を示す。

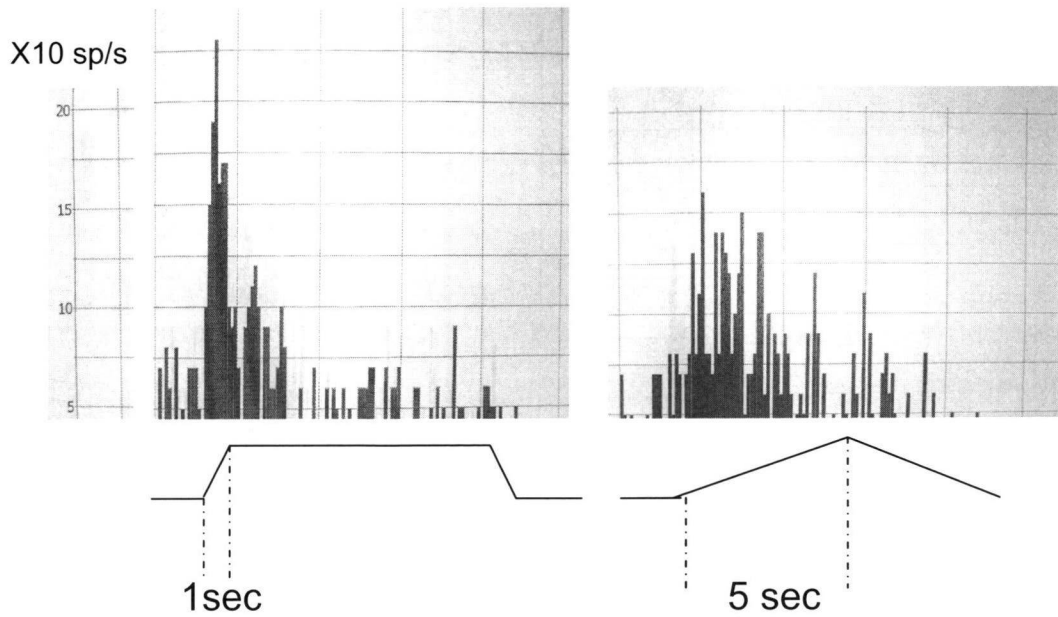
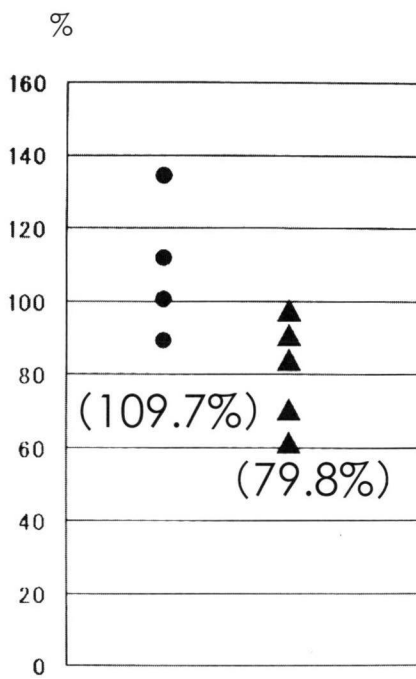


図3. 急速刺激(左)と緩徐刺激(右)による半規管神経活動電位のスパイク密度ヒストグラムの例。

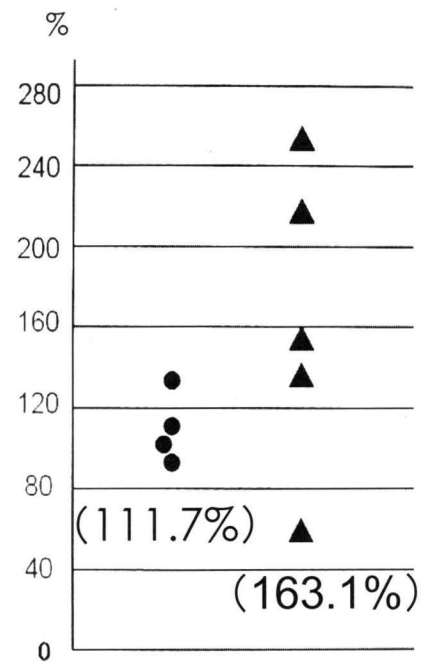


コントロール群 半切クプラ

図4

図4. 5秒刺激の最大スパイク数%

コントロール群では5秒刺激の平均最大スパイク数比は109.7%。クプラ半切群では5秒刺激の最大スパイク数は1秒刺激より小さく79.8%であった。



コントロール群 半切クプラ

図5

図5. 5秒刺激の反応持続時間%

コントロール群では5秒刺激の平均反応持続時間比は111.7%、クプラ半切群では5秒刺激の反応持続時間比は平均163.1%であった。

## 17. 実験的にみた BPPV 頭位療法後の耳石塊の動態について

大塚康司, 鈴木 衛, 清水重敬, 稲垣太郎, 許斐氏元, 飯村陽一, 小川恭生 (東京医大)

[はじめに]

良性発作性頭位めまい症 (BPPV) はめまい疾患の中で最も多く、主として卵形囊から剥脱した耳石塊が半規管内に迷入して起こるとされる。Epley (1) は迷入した耳石塊を再び卵形囊に戻す頭位治療を報告した。頭位治療後、患者は姿勢保持を強いられることが多い。しかし、頭位療法後の姿勢保持は必要ないとの報告もある。今回、姿勢保持の必要性につき両生類膜迷路をモデルとして用い実験を行った。

[方法]

110-220g のウシガエルを使用した。鈴木らの方法 (2) に従い、エーテル麻酔の後に断頭しリングル液内で膜迷路を摘出した。卵形囊斑周囲の膜を切除し、斑を明視下に置いた。球形囊から採取した耳石塊を卵形囊斑に置き、頭位療法の状態を模した。耳石塊を置いた直後、3 分後、5 分後に卵形囊斑を垂直に立てた。この位置変換は 1 秒間で行い、垂直位を 10 秒間維持した (図 1)。この 10 秒間の耳石塊の動態を実体顕微鏡で観察した。全ての実験は東京医科大学倫理委員会動物実験規則に準じて施行した。

BPPV 患者の卵形囊斑の状態は症例により異なることが想定されるので、異なった卵形囊斑の状態を作成した (図 2)。

### ・実験 1 (正常卵形囊斑)

頭位治療後、耳石塊は卵形囊に戻る。耳石塊は卵形囊斑の直上に戻る場合と端に戻る場合が想定される。それゆえ、耳石塊を置く場所によって実験 1 を A と B に分けた。実験 1A (n=4) では正常卵形囊斑の直上に耳石塊を置いた (図 3)。実験 1B は (n=4) では正常卵形囊斑の端に耳石塊を置いた (図 4)。

### ・実験 2 (耳石部分剥離卵形囊斑)

微細ガラス針にて卵形囊斑耳石を部分剥離した。耳石塊を部分剥離した卵形囊斑に置いた。

### ・実験 3 (耳石除去卵形囊斑)

リングル液を注射器で噴射して卵形囊斑耳石を除去した。耳石塊を耳石除去卵形囊斑に置いた。

[結果]

### ・実験 1 (正常卵形囊斑)

卵形囊斑の直上または端に置いても全ての標本において、耳石塊は直ちに固定し、標本を位置変換しても耳石塊は移動しなかった (表 1)。

### ・実験 2 (耳石部分剥離卵形囊斑)

6 標本中の 4 個 (66.7%) で耳石塊を置いた直後に固定した。全ての標本で耳石塊を置いて 3 分後に固定した (表 1)。

### ・実験 3 (耳石除去卵形囊斑)

全ての標本において、耳石塊を置いた直後は位置変換にて移動した (図 5)。8 標本中の 5 個 (62.5%) で 3 分後に固定した。8 標本中の 7 個 (87.5%) で 5 分後に固定した (表 1)。

[考察]

BPPV の原因は遊離した耳石塊が半規管内で移動して生じる半規管結石症か耳石塊がクプラに付着して生じるクプラ結石症とされている。過去の報告 (3, 4) では、両方のメカニズムとも生理学的妥当性がある

といえるが、眼振出現に潜時があり、眼振の持続時間の短いBPPVのタイプに合致するのは半規管結石症である。半規管結石症に対する頭位治療の臨床的効果は広く知られているが、頭位治療直後ふらつきを感じる患者は多い。Inagakiら(5)はウシガエル摘出卵形嚢を用いて耳石塊が卵形嚢に戻ったときの影響を調べた。耳石塊が卵形嚢斑に置かれた瞬間に卵形嚢神経電位が変化した。また、耳石塊を卵形嚢斑に置いた直後と10分後に振子様運動刺激を与えたところ卵形嚢神経複合活動電位は変化した。頭位治療後に卵形嚢斑に戻った耳石塊が卵形嚢反応性を変化させ、頭位療法後のふらつきを起していると考えられる。

頭位治療後、卵形嚢斑に戻った耳石塊が卵形嚢斑上で安定する前に半規管に戻らないよう患者は姿勢保持を指示される。Epley(1)は48時間は頭位を直立に近い姿勢で維持することを推奨している。Herdmanら(6)は頸部に装具を付け固定して48時間は頭位を直立に維持することを推奨している。さらに、患者は蹲踞したり、見上げたり、臥位になることを禁止される。その後の5日間は臥位を許されるが、患側下の頭位は禁止される。Lynnら(7)は以下のことを推奨している。① 頭位を直立に48時間維持、② 首を後屈、前屈しない、③ 1週間患側下の睡眠頭位を避ける。

我々は頭位治療後の姿勢保持の有用性を判断することが必要と考えた。もし、姿勢保持が必要なければ、患者は直ちに日常生活に戻ることができるわけである。

姿勢保持が頭位治療の効果を向上させることは確定されていない。実際、姿勢保持は必要ないことを支持する報告がある(8-10)。Casqueiroら(11)は391人のBPPV患者に対して前向き連続二重盲検を行った。207人の患者には頭位療法後、姿勢保持を指導し、184人には療法後に何の姿勢保持もさせなかった。姿勢保持(+)群(一回の療法での改善率80.2%)と姿勢保持(-)群(72.3%)では、症状改善までに要した療法の回数に統計学上の有意差はなかった。再発率においても両群(2.3%と3.1%)で有意差はなかった。さらに、ふらつきの改善率も両群において近似していた(97.1%と98.9%)。つまり、耳石置換法の改善率は、姿勢保持によって向上しないと結論づけられた。

我々は両生類膜迷路を用いて頭位療法後の姿勢保持の必要性を判断するために実験を行った。カエルの前庭器は哺乳類の前庭器と解剖学的にも生理学的にも類似している。さらに、カエルの膜迷路は強靱でモデル実験をするのに適している。BPPV患者の卵形嚢斑の状態はそれぞれで異なっているため、実験1、2および3によって異なる卵形嚢斑の状態を作成した。頭位療法後、耳石塊は卵形嚢に戻されるが、卵形嚢斑の直上に戻る耳石塊もあれば、卵形嚢の端に戻るものもあると想像される。そのため、我々は実験1を耳石塊の置く場所によってAとBに分けた。

実験1において、全ての耳石塊は、卵形嚢斑に置いた直後に固定した。卵形嚢斑耳石は非常に粘稠なムコ多糖類からなるゼラチン物質の中に埋没しているため、卵形嚢斑に戻った耳石塊はとらえられ固定すると考えられた。実験2において、全ての耳石塊は3分後には固定した。卵形嚢斑耳石部分剥離後でも卵形嚢斑耳石の表面はまだ粘稠と考えられた。実験3においても、大部分の標本で5分後には耳石塊は固定した。これは耳石塊と有毛細胞が接着するためと考えるが、有毛細胞の表面にはglycocalyxと呼ばれる炭水化物の膜があるために接着すると考えられる。glycocalyxは感覚細胞の不動毛と動毛の全長と支持細胞の表面に認められ(12)、ウシガエル、モルモット、ヒトなど多くの種に存在する(13)。以上の結果から、頭位治療後の長時間の姿勢抑制は原則として必要ないと考えた。

頭位治療後、どの程度の時間、頭位を直立に保持すべきかが問題となる。我々は、治療後、数時間頭位を直立にするように患者に説明してきた。しかし、今回の実験結果から頭位の直立位保持は10-20分で充分と推定される。かつて頭位治療数分後に蹲踞したためにふらつきが生じ、転倒した症例を2例経験した。それゆえ、我々は頭位治療直後は頭を動かさないよう勧めている。

[まとめ]

(1) 正常卵形嚢斑では全ての標本で耳石塊を置いた直後に固定した。(2) 耳石部分剥離卵形嚢斑では全ての

標本で耳石塊を置いて3分後に固定した。(3) 耳石除去卵形囊斑では大部分の標本で耳石塊を置いて5分後に固定した。(4) 耳石置換法後の長時間の姿勢保持は原則として不要と考えた。

[参考文献]

1. Epley JM: The canalith repositioning procedure: For treatment of benign paroxysmal positional vertigo. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1992; 107: 399-404
2. Suzuki M, Harada Y, Hirakawa H, et al: An experimental study demonstrating the physiological polarity of the frog's utricle. *Arch Otorhinolaryngol* 1987; 244: 215-217
3. Suzuki M, Kadir A, Hayashi N, et al: Functional model of benign paroxysmal positional vertigo using an isolated frog semicircular canal. *J Vestib Res* 1996; 6: 121-125
4. Otsuka K, Suzuki M, Furuya M: A model experiment of BPPV mechanism using the whole membranous labyrinth. *Acta Otolaryngol* 2003; 123: 515-518
5. Inagaki T, Suzuki M, Otsuka K, et al: Model experiments of BPPV using isolated utricle and posterior semicircular canal. *Auris Nasus Larynx* 2006; 33: 129-134
6. Herdman S, Tusa R, Zee D: Single treatment approaches to benign paroxysmal positional vertigo. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1993; 119: 450-454
7. Lynn S, Pool A, Rose D, et al: Randomized trial of the canalith repositioning procedure. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1995; 113: 712-720
8. Massoud EA, Ireland DJ: Post-treatment instruction in the non-surgical management of benign paroxysmal positional vertigo. *J Otolaryngol* 1996; 25: 121-125
9. Nuti D, Nati C, Passali D: Treatment of benign paroxysmal positional vertigo: No need for postmaneuver restrictions. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000; 122: 440-444
10. Moon SJ, Bae SH, Kim HD, et al: The effect of postural restrictions in the treatment of benign paroxysmal positional vertigo. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2005; 262: 408-411
11. Casqueiro JC, Ayala A, Monedero G: No more postural restrictions in posterior canal benign paroxysmal positional vertigo. *Otol Neurotol* 2008; 29: 706-709
12. Takumida M, Wersäll J, Bagger-Sjöbäck D: Stereociliary glycoalyx and interconnections in the guinea pig vestibular organs. *Acta Otolaryngol* 1998; 106: 130-139
13. Takumida M, Suzuki M, Harada Y, et al: Glycoalyx and ciliary interconnections of the human vestibular end organs. *ORL* 1990; 52: 137-142

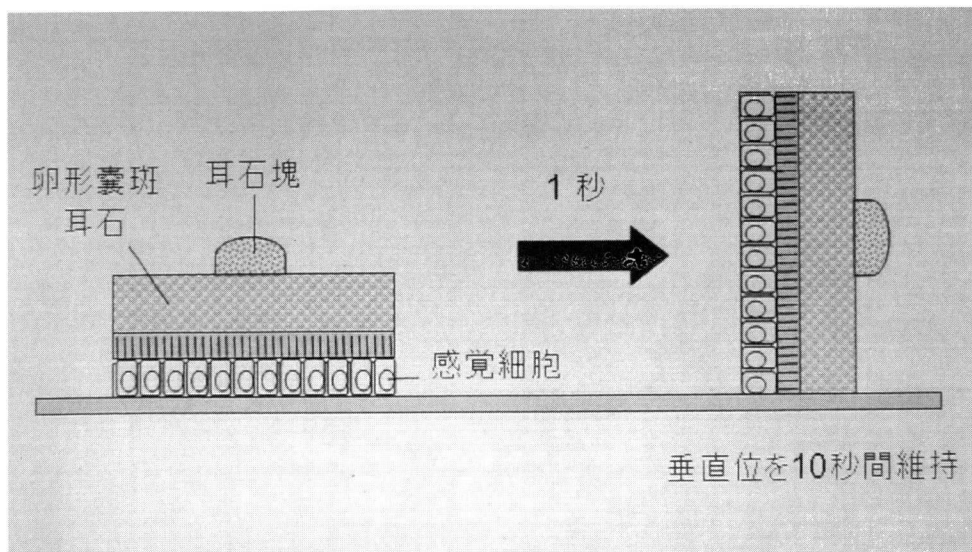


図1. 耳石塊を卵形囊斑に置き、卵形囊斑を垂直に立て、耳石塊の動態を観察した。この位置変換は1秒間で行い、垂直位を10秒間維持した。

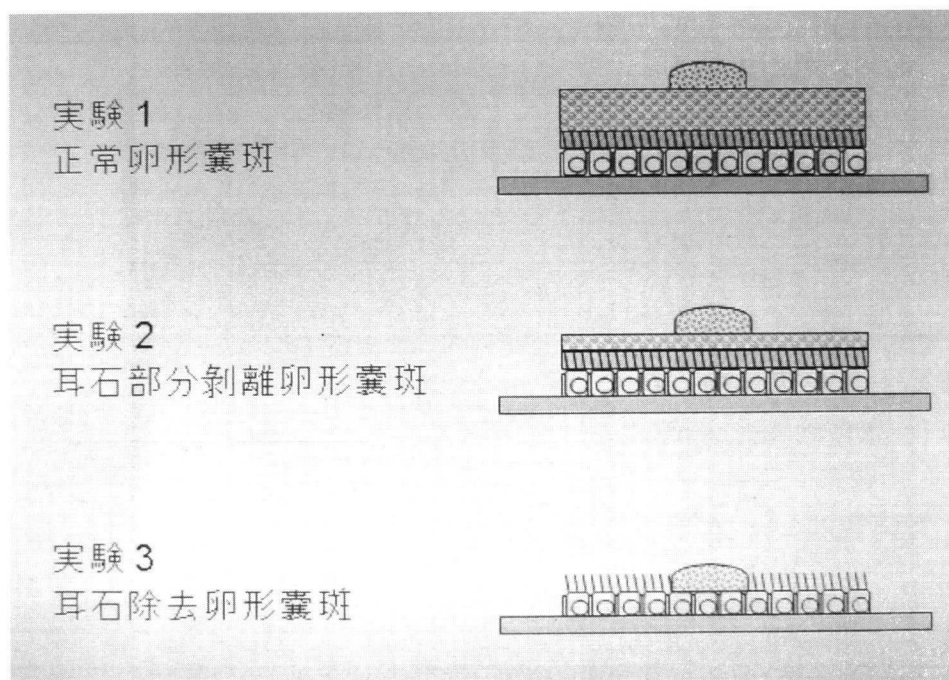


図2. 3種類の異なる卵形囊斑の状態

実験1、正常卵形囊斑。実験2、耳石部分剥離卵形囊斑。実験3、耳石除去卵形囊斑。

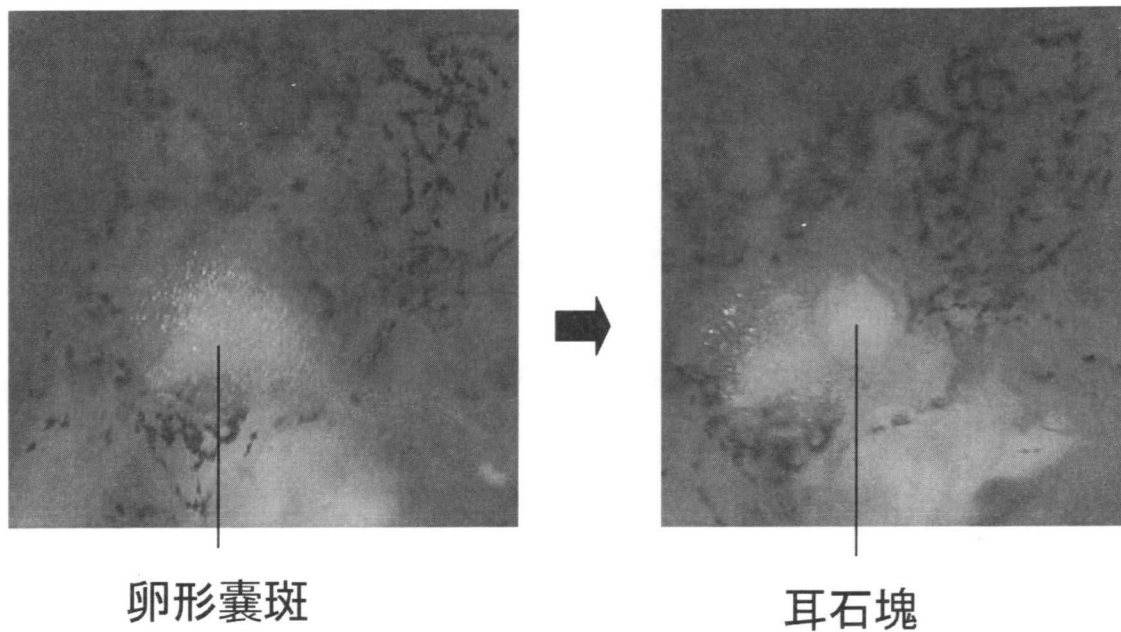


図3. 実験 1A (正常卵形囊斑) : 卵形囊斑の直上に耳石塊を置いた。

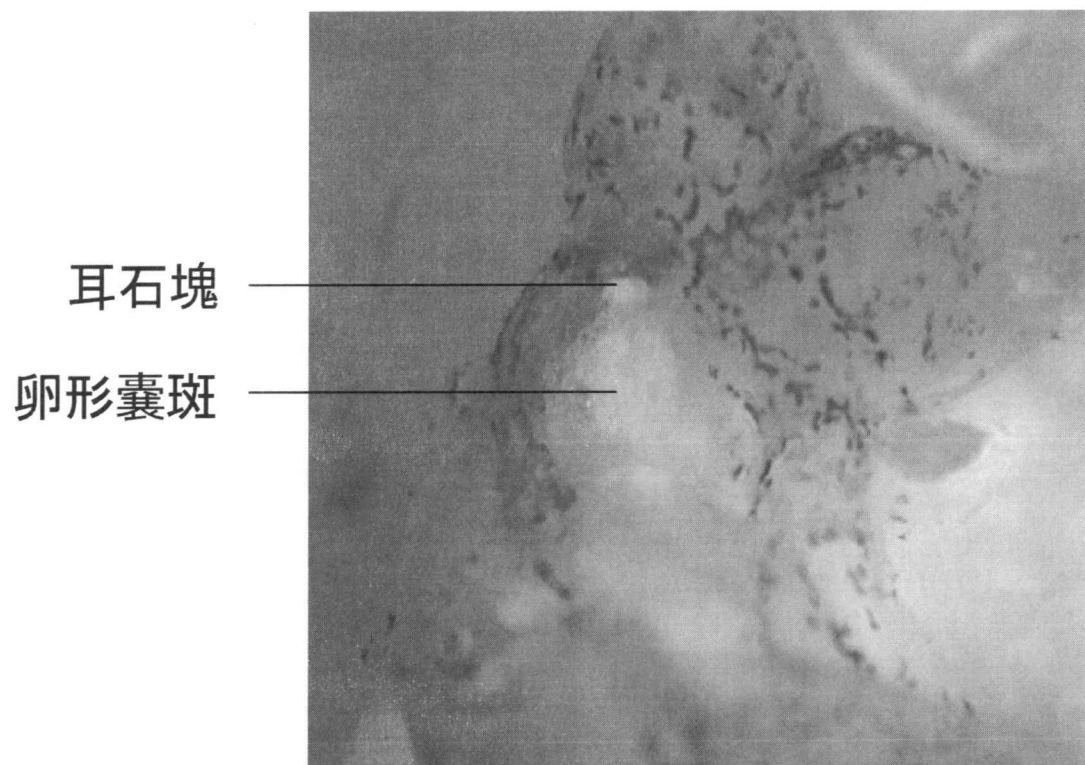
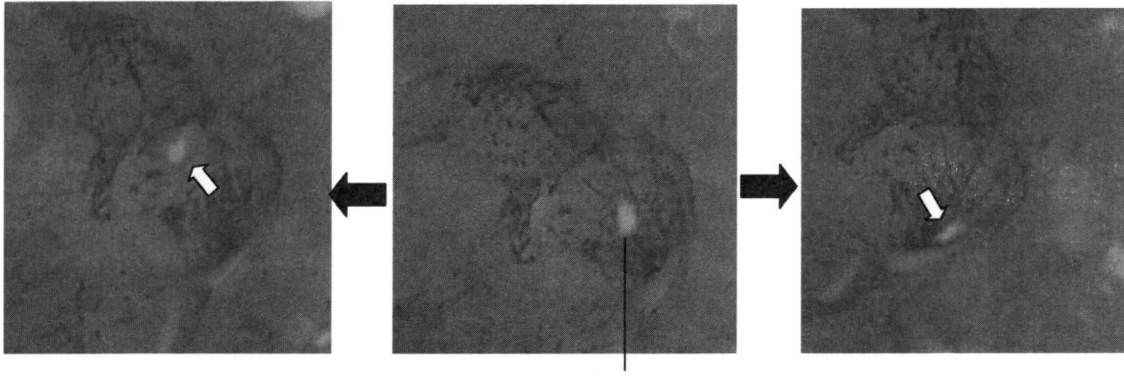


図4. 実験 1B (正常卵形囊斑) : 卵形囊斑の端に耳石塊を置いた。



耳石塊

図5. 実験3 (耳石除去卵形囊斑) : 全ての標本において、耳石塊を置いた直後は位置変換 (黒矢印) にて移動した(白矢印)。

	直後	3分後	5分後
実験1 (n=8) 正常卵形囊斑	100%	100%	100%
実験2 (n=6) 耳石部分剥離	66.7%	100%	100%
実験3 (n=8) 耳石除去	0%	62.5%	87.5%

表. 実験1では、全ての耳石塊は直ちに固定した。実験2では、全ての耳石塊は3分後に固定した。実験3では、大部分の耳石塊は5分後に固定した。



## 18. 前庭耳石器障害に対する水素ガスの効果および 頸部捻転刺激による眼振検査に関する研究

伊藤壽一（京都大）

### [はじめに]

- 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。
- 2) まためまい症例での頸部固有感覚入力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。

### [対象と方法]

- 1) 生後2日令のマウスの耳石器を器官培養し、Antimycinにて活性酸素で有毛細胞に障害を与えて、水素ガスの有無による効果を形態学的および機能的に評価した。
- 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。
- 3) 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。

### [結果]

- 1) 水素ガスの投与により、Antimycinによる活性酸素障害から有毛細胞を保護することが出来た。
- 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) 細胞移植を行ったすべての内耳で、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。

### [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) 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。

### [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。

[参考文献]

- 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)

## 19. 3T-MRIを用いた遅発性内リンパ水腫の画像診断

福岡久邦, 工 穰, 小口智啓, 古舘佐起子, 宮川麻衣子, 宇佐美真一 (信州大)

### [はじめに]

遅発性内リンパ水腫 (delayed endolymphatic hydrops : DEH) は高度の感音難聴の先行後にメニエール病のめまい発作あるいは対側の聴力変化をきたす疾患である。これまでの報告により、その病態は内リンパ水腫によるものとされている。当教室では、これまでメニエール病患者に対して両耳にガドリニウム鼓室内投与後の3 Tesla 3D-FLAIR MRIを用いて内耳評価の検討を行い、内リンパ水腫の診断のみならず、定量化についての有用性を報告してきた。そこで今回我々は、遅発性内リンパ水腫患者においてメニエール病症例と同様に3T-MRIをもちいて内耳評価の検討を行ったので若干の文献的考察も含め報告する。

### [対象と方法]

当科外来を受診した遅発性内リンパ水腫患者、同側型7例 (確定4例、确实3例) と対側型1例を対象とした。診断基準と鑑別診断 (めまい診断基準化のための資料) に基づき診断した。ガドリニウム鼓室内投与を両側に行った後、3D-FLAIR MRI、3D-real IR画像にて、①内リンパ水腫の有無の確認を行うとともに、②造影効果の左右の比較検討を行った。

### [結果]

遅発性内リンパ水腫と診断された8症例のうち5症例にMRIにて内リンパ水腫像を認めた。確定例においてはすべての症例で内リンパ水腫像を認め(4/4)、一方确实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面積比は0.47~0.67であった。



症例1 (确实例)。難聴側 (右) では蝸牛管の部分が黒く抜けており (透亮像)、内リンパ水腫を示す (矢印)。一方、良聴側 (左) では蝸牛管の確認はできない。

### [考察]

遅発性内リンパ水腫患者においても内リンパ水腫像を確認することができた。確定例においては全例で内リンパ水腫像を認め、診断基準の適切さを裏付けるものとなった。一方、确实例および対側例ではないリンパ水腫像を認めない症例もあり、異なる病態が存在する可能性が示唆された。

内リンパ水腫像が確認できた症例の造影効果の面積比は0.47~0.67と難聴側の造影効果が乏しい結果となり、これは当施設で行ったメニエール病确实例患者と同様な結果であり、同一の病態であることが示唆された。

確定例を除いては、遅発性内リンパ水腫と診断された中にも様々な病態が混在している可能性があるとともに診断に迷う症例も多く、内リンパ水腫の存在の確認にMRIによる診断が非常に有効であると考えられる。また、両側行うことにより、対側型の診断をはじめ定量化が可能となり、治療効果の判定や病状の把握に有効であると考えられる。

[結論]

遅発性内リンパ水腫患者においても3T-MRIによる診断は可能であり、両側行うことにより内リンパ水腫を定量的に評価することが可能であった。3T-MRIによる内耳画像診断は、新しい診断基準の確立や治療効果判定に有用でありさらなる発展、普及が期待される。

[参考文献]

Miyagawa M, Fukuoka H, Tsukada K, Oguchi T, Takumi Y, Sugiura M, Ueda H, Kadoya M, Usami S. Endolymphatic hydrops and therapeutic effects are visualized in 'atypical' Meniere's disease. *Acta Otolaryngol.* 2009 Nov;129(11):1326-9.

Fukuoka H, Tsukada K, Miyagawa M, Oguchi T, Takumi Y, Sugiura M, Ueda H, Kadoya M, Usami SI. Semi-quantitative evaluation of endolymphatic hydrops by bilateral intratympanic gadolinium-based contrast agent (GBCA) administration with MRI for Meniere's disease. *Acta Otolaryngol.* 2009

Kasai S, Teranishi M, Katayama N, Sugiura M, Nakata S, Sone M, Naganawa S, Nakashima T. Endolymphatic space imaging in patients with delayed endolymphatic hydrops. *Acta Otolaryngol.* 2009 Nov;129(11):1169-74.