

研究要旨

1) メニエール病内リンパ囊における水代謝関連分子：難治性メニエール病の診断で内リンパ囊手術を行った症例より内リンパ囊組織を採取し、抗利尿ホルモン受容体V2Rおよび水チャネルAQP2の遺伝子発現を検索した。メニエール病内リンパ囊では、V2RおよびAQP2遺伝子の発現量が対照群に比して有意に上昇した。内リンパ囊にV2RおよびAQP2遺伝子が過剰発現していることが一側メニエール病の発症の基礎的背景として重要と推察された。

2) GE社製3テスラMRI装置を用いた内耳ガドリニウム造影画像：鼓室内に造影剤であるガドリニウムを注入する事で、Siemens社製MRI装置により内リンパ水腫を画像診断できるとの報告を踏まえ、同様の手技により、GE社製MR装置を用いた内リンパ水腫画像診断の可能性について検討した。GE社製MR装置でも内リンパ水腫の検出が可能で、メニエール病における内リンパ水腫陽性率は突発性難聴に比べ有意に高かった。

3) タイトジャクソン構成分子の内耳機能への関与：内耳タイトジャンクションの形態とその構成分子について解析した。蝸牛・前庭感覚細胞のタイトジャンクションは、Claudin9、claudin14、tricellulin分子が複雑に結合し緻密なバリアー構造を形成することで、内耳のwater homeostasisにも関与すると推察された。

4) 眼球運動三次元解析による中枢性頭めまい症とクプラ結石症との鑑別：舌下神経前位核付近の小梗塞が原因で方向交代性上向性眼振を生じた症例では、頭位変換時の前庭動眼反射と逆向きの眼振が観察され、回転後眼振の向きと一致した。速度蓄積機構の構成要素である傍舌下神経核の障害により速度蓄積機構の時定数が延長し、回転後眼振の遷延が生じたものと推察された。

5) 何らかの原因で一側内リンパ囊にV2R遺伝子が過剰発現し、その下流のcAMP活性が上昇していることが内リンパ水腫発症の基礎的背景として重要であり、ストレス環境下で血中抗利尿ホルモン上昇を来した際、一側メニエール病もしくは同側型遅発性内リンパ水腫を発症する可能性が示唆された。

6) 難治性メニエール病に対する内リンパ囊開放術後に気骨導差の認められた症例では、聴力改善成績が有意に優れており、この気骨導差は内リンパ囊が前庭水管まで広範囲に削開開放できていることを意味し、術後経過の指標として有用であると示唆された。最近、Merchantの第3の内耳窓仮説が提唱されているが、術後の気骨導差の発生機序として内リンパ囊開放部位が第3の内耳窓となっている可能性が考えられた。

7) 左上半規管裂隙症候群の1例に対して経乳突アプローチによるresurfacing手術を行った。術前に観察された右下向き回旋性の自発眼振および外耳道加圧による眼振は消失し、自覚的なめまいも完全に緩解した。

8) 健常者を含む222耳分の内耳MRI画像を用いて、内耳の標準的な3次元形態画像「内耳テンプレート」を作成した。蝸牛～前庭部分の形態的な個人差は極めて少ないものの、一方、半規管の直径については明らかな個人差が認められた。

9) ガドリニウム鼓室内注入MRI検査により、突発性難聴発症後に2次性に発生した内リンパ水腫を同定した。本検査は、メニエール病のみならず、さまざまな内耳疾患に併発する内リンパ水腫の検出に有用である可能性が示唆された。

10) 方向交代性上向性眼振症例（以下AH-BPPV）と方向交代性下向性眼振症例（以下GH-BPPV）の自然経過を比較したところ、AH-BPPVはGH-BPPVに比べ難治とは言えず、治癒機転としては、水平半規管クプラ結石が水平半規管の近位部もしくは遠位部を経由して前庭に移動すると考えられた。

11) 両側内耳破壊ラットに対して前頭葉機能を反映するタスクを負荷したところ、両側前庭障害によって前頭葉に関連する注意機能障害と海馬に関連する空間認知障害の両者が生じる可能性が示唆された。

1 2) 良性発作性頭位めまい症 (BPPV) における前半規管型BPPVの割合は1%程度である。健側へのDix-Hallpike (D-H) 法により眼球の上極が患側へ向かう回旋成分に加え、下眼瞼向きの垂直成分をもつ垂直回旋混合性眼振を示す場合に前半規管型BPPVと診断する。今回は、前半規管型BPPVの診断を下した症例に対してreverse Epley法を施行し、そのときの眼振を眼球運動三次元解析システムにより検討した。Reverse Epley法は前半規管に存在する半規管結石を一定方向に移動させる頭位治療であるので、その間に観察される眼振の方向は一定であるはずであるが、偽前半規管型BPPVも存在するので、診断の際には慎重を要すると考えられた。

1 3) CAVE (virtual reality装置) によって作成した3次元映像を用いて、視覚入力と前庭入力を矛盾させることにより、自覚症状と、重心動揺が悪化し、自由に歩行した際などに、眼振や歩行偏位が起こることを証明してきた。CAVEによって視覚的に環境がスライドする空間の中で「歩行後停止する」という日常よく行われる動作を作成し、頭部位置の3次元的測定を行うことで、この環境がふらつきへ与える影響について解析した。同時に、Postural stability questionnaire (PSQ) とSimulator sickness questionnaire (SSQ) の2種類のアンケートを行った。水平、垂直、奥行き方向のすべてで、歩行停止までの距離が短く、刺激提示時間の長い条件でふらつきが大きかったため、動く広告などは、階段前や曲がり角など歩行速度が変化する場所に設置すると、ふらつきを増悪させる危険性があることが示唆された。また、PSQ、SSQにおいて高感受性群で刺激の種類の影響を受けやすく、刺激としては平行刺激よりも回転刺激の方がふらつきへの影響が大きい可能性が考えられた。

A. 研究目的

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

2) メニエール病の本体である内リンパ水腫の診断にはこれまでグリセロールテスト、フロセミドVORテスト、蝸電図検査などの生理学的検査が主として行われてきたが、最近内リンパ水腫を画像的に診断する試みがなされるようになってきた (Nakashima T et al. 2007; Naganawa S et al., 2008)。これらの報告では、Siemens製MR装置を用い、鼓室内に造影剤であるガドリニウムを注入する事でFLAIR画像では外リンパ腔のみ造影され内

／外リンパにコントラストが付き、内リンパ水腫を画像的に診断できると報告している。本研究ではGE製MR装置で同様の手技を用いて、内リンパ水腫の画像診断の可能性について検討した。本研究は大阪大学医学部附属病院臨床研究倫理審査委員会の承認のうえ施行した (承認番号07101)。

3) 内耳は、内リンパ腔と外リンパ腔と呼ばれる全く組成の違うコンパートメントから構成されており、また水代謝の破綻が原因の1つと考察されている内リンパ水腫という病態があるように、Water homeostasisが内耳の機能を維持するためには必須である。また、細胞間をシールする細胞接着装置であるタイトジャンクション (密着結合) がparacellular pathway (細胞間隙経路) を介して物質の移動を制御していることが知られており、Water homeostasisにタイトジャンクションが深く関与しているものと考えられる。そこで、我々は内耳におけるタイトジャンクションの形態とその構成分子について検討した。

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

5) メニエール病内リンパ水腫の発生とストレス・ホルモンである抗利尿ホルモンとの関

連を検討するため、一側メニエール病および同側型遅発性内リンパ水腫と診断され、内リンパ嚢手術を施行した症例の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 の遺伝子発現および受容体シグナルを下流に伝達する cyclic AMP 活性を検索した。

6) 難治性メニエール病に対して内リンパ嚢手術を行った際、術後遠隔期に鼓膜、鼓室所見に異常を認めないにもかかわらず、低周波数領域の気骨導閾値差を呈する症例をしばしば経験する。術後 2 年以上経た症例に対して諸検査を施行し、気骨導差の発生機序について検討を加えた。

7) 1998 年 Minor らが最初に報告した上半規管裂隙症候群 (SCDS) は、いわゆる 3rd mobile window の存在により聴力低下、めまい、眼振を呈する疾患である。今回われわれは、経乳突アプローチで外科治療を行った SCDS 症例を経験したが、手術前後での聴覚・平衡機能の解析からその眼振発生機序を推察した。

8) 希釈ガドリニウム (Gd) を鼓室内投与する内耳造影 MR 検査に代表される内耳 MRI 画像を用いた研究が増加している。従来は個々の症例ごとに読影を行ってきたが、読影や画像処理に熟練を要し、また主観的要素が含まれる可能性があった。標準的な内耳形態の画像 (内耳テンプレート) を作成するために、多数の内耳 CISS (Constructive Interference with Steady State) 画像を収集した。

9) 突発性難聴発症後に 2 次性内リンパ水腫形成が起こるかどうか検討するため、ガドリニウム鼓室内注入による造影 MRI 検査を施行した。

10) 方向交代性上向性眼振症例 (以下 AH-BPPV) は水平半規管のクプラ結石がその病態と考えられており、方向交代性下向性眼振症例 (以下 GH-BPPV) に対する Lempert 法のようないくつかの頭位治療の報告があるが、その治療成績は GH-BPPV に対するものよりも悪いとされる。我々は GH-BPPV の自然経過をすでに報告している (Neurology, 2005)。本研究では、AH-BPPV は GH-BPPV に比べ、自然経過も悪いのかどうかを検討した。

11) ラット、ヒトにおいて末梢前庭機能障害が空間記憶に影響を及ぼすことが確認され、前庭入力系の変化による海馬での分子生物学的、電気生理学的変化の解析が進み、前庭入力系と海馬の関連が明らかになってきた。

一方、末梢前庭機能破壊が注意機能 (attention) に及ぼす影響については未だ研究されていないため、本研究では前頭葉の機能に関連するタスクを用いてラットの両側内耳破壊が注意機能にどのような影響を及ぼすかを検討した。

12) 良性発作性頭位めまい症 (BPPV) における前半規管型 BPPV の割合は 1% 程度である。健側への Dix-Hallpike (D-H) 法により眼球の上極が患側へ向かう回旋成分に加え、下眼瞼向きの垂直成分をもつ垂直回旋混合性眼振を示す場合に前半規管型 BPPV と診断する。今回は、前半規管型 BPPV の診断を下した症例に対して reverse Epley 法を施行し、そのときの眼振を眼球運動三次元解析システムにより検討した。

13) 近年、映画やテレビなどで 3 次元映像が汎用されているが、人体への影響については不明な点が多い。我々は、CAVE (virtual reality 装置) によって作成した 3 次元映像を用いて、視覚入力と前庭入力を矛盾させることにより、自覚症状と、重心動揺が悪化し、自由に歩行した際などに、眼振や歩行偏位が起こることを以前に証明してきた。産業技術総合研究所では、3 次元映像の安全性について国際基準を検討中であり、共同研究を行った CAVE によって作成された視覚的に環境がスライドする空間の中で、「歩行後停止する」という日常よく行われる動作を、頭部位置を 3 次元的に測定しながら行い、この環境がふらつきへ与える影響について解析した。

B. 研究方法

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

2) 難治性メニエール病あるいは遅発性内リ

ンパ水腫でゲンタマイシン鼓室内投与治療前の一側性メニエール病6例、同側形遅発性内リンパ水腫症例4例、および突発性難聴で鼓室内ステロイド投与治療前の5例を対象とした。年齢は13-66才、男性5例、女性10例である。局麻下鼓膜切開後、8倍希釈したガドリニウム(オムニスキャン)を患側の鼓室内へ注入し1時間静置、GE社製3テスラMR装置(Signa Excite)を用い、約24時間後に中内耳を含む頭部のCISSおよびFLAIR画像を撮影した。得られた画像は、MRIcro、SPM2及びMATLAB上で動作する自作プログラムで解析した。

3) マウス内耳の外有毛細胞を凍結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。

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

(倫理面への配慮)

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

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

5) 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12例、遅発性内リンパ水腫6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)。内リンパ嚢組織か

らtotal RNAを抽出し、V2R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の遺伝子発現量を測定した。メニエール病3例の培養内リンパ嚢組織を対象とし、日本ジェネティクス社の蛍光アッセイ・キットを用い、内リンパ嚢組織におけるcyclic AMP活性を検索した。両実験の対照群は便宜上、聴神経腫瘍患者の内リンパ嚢とした。

6) 難治性メニエール病に対して内リンパ嚢手術を行い術後2年以上観察し得た症例で、2008年4月から2009年3月までの間に、純音聴力検査、中内耳ターゲットCTをほぼ同日に行うことのできた50例(男性24例、女性26例。平均年齢53.1歳)を対象とした。気骨導差あり(ABG(+))は便宜上、250Hz、500Hz、1000Hzの周波数領域の平均が20dB以上とした。手術所見は主として、術中に裏面骨が確認された(OPC(+))か否かを検討した。中内耳ターゲットCT所見は主として、前庭水管を含む水平断スライスの上下を併せた3mmにおいて、後半規管後下方の脳硬膜露出が確認された(PFD(+))か否かを検討した。めまい発作完全抑制例もしくは10dB以上の聴力改善例をそれぞれVS(+))もしくはHG(+))とし、気骨導差との相関を検討した。

7) 症例は81歳男性で、「外耳道加圧・減圧によるめまい」を主訴として精査目的で当科を受診した。純音聴力検査では、約55デシベルの左右差のない両側感音難聴を認めた。初診時にはフレンツェル眼鏡下で明らかな自発眼振、外耳道加圧による眼振の出現は確認できなかった。CT画像で左上半規管に裂隙を確認し、SCDSの診断に至った。カロリック検査では左半規管麻痺(CP)を認めた。保存的治療で経過を見ていたが、症状の増悪が著明で、日常生活動作に大きな支障を来すようになり外科治療の適応となり、同時に、手術前後での聴覚・平衡機能検査の解析を行った。

8) 2007-2009年に大阪大学・耳鼻咽喉科を受診し、院内(59例)または近隣他院(52例)にて内耳MRI(CISS)を撮影、内耳形態に異常を認めなかった7-79歳の男性43名・女性66名、および健常者2名の内耳CISS画像を用いた。患者群の疾患内訳は、突発性難聴 29名、メニエール病 25名、難聴 16名、めまい症 13名、遅発性内リンパ水腫 9名、耳鳴 7名、聴神経腫瘍 4名、BPPV 3名、顔面神経麻痺 2名、頭痛 1名

であった。内耳CISS画像は1.5テスラまたは3テスラのMRI装置で撮影されており、ほとんどが $0.4 \times 0.4 \times 0.5$ mm程度の分解能のものであった。111名222耳分の画像からMRIcroおよびMATLAB上で動作する自作プログラムを用いて内耳部分を切り出し、次いで $0.31 \times 0.31 \times 0.31$ mmの分解能へリサンプルした。また、左耳画像は左右反転して右耳の向きとした。222耳分の画像をSPM2のcoregister機能を使って、ある健常者1人の右内耳画像に重ね合わせ、それらの平均voxel値を揃えたあと加算平均した。次いでSPM2のNormalize機能を用いて、先ほど作成した加算平均画像をターゲットとして、元の内耳画像を解剖学的標準化した。Normalize処理が終わった画像222耳分を、平均voxel値を揃えたあと加算平均し内耳テンプレートとした。

9) 鼓室内ゲンタマイシン投与前のメニエール病確実例9例、鼓室内ステロイド投与前の突発性難聴8例を対象とした。仰臥位で鼓膜切開後、患側中耳に8倍希釈オムニスキャンを約0.5ml注入、1時間仰臥位を保たせ、24時間後にGE製3T-MRIユニットで、CISS(1mmスライス、0.5mm毎)およびFLAIR画像(2mmスライス、2mm毎)を軸位で撮像した。得られた画像は、MRIcro、SPM2及びMATLAB上で動作する自作プログラムで解析した。CISS画像は内/外リンパを合わせた内耳全体のアウトラインを見るのに有用な画像であり、これを解剖学的指標とし、該当するFLAIR画像で透亮像の有無を検討した。二人の医師が別々に画像診断を行い、透亮像の有無すなわち内リンパ水腫の有無に関して診断した。

10) 症例は2001年4月から2003年11月に関連病院耳鼻咽喉科にてAH-BPPVと診断された男性7名、女性7名(平均年齢59歳)である。初診時の問診により頭位めまいの発症時期を確認した後、2週間ごとの再診を指示した。再診時に頭位眼振検査を行い、頭位眼振が消失していればいつの時点でめまい症状が消失したか確認し、めまい症状の出現日からめまい症状の消失日までの日数を検討した。

11) Wistarラットを用い、両側内耳破壊(BVD)群10匹、シャム手術群10匹の2群で、前庭代償の完成した術後6ヶ月の時点で実験開始とした。まず5CSRTT(5-choice serial reaction time task; 5CSRTT)のトレーニングを各ラットに毎日1セッション行い、

それぞれが課題の達成基準(正選択率 $>70\%$ かつ無視 $<20\%$ 、それが3日間連続つづくこと)に達したところで課題を遂行した。

12) 症例: 症例は34歳男性と66歳男性である。どちらの症例もD-H法により、眼球の上極がD-H法で左右に傾けた方向とは反対側に向かう回旋成分に加え下眼瞼向きの垂直成分をもつ垂直回旋混合性眼振を認め、34歳男性は右前半規管型BPPV、66歳男性は左前半規管型BPPVと診断した。さらに、それぞれの症例にReverse Epley法を施行した。

13) 条件としては、テクスチャの運動提示時間(=歩行停止位置; 中心から0.3m or 0.6m)、テクスチャの運動種類(回転 or 平行)、運動方向(右 or 左)をおのおの変化させた。Postural stability questionnaire (PSQ) と Simulator sickness questionnaire (SSQ) の2種類のアンケートを用い、低感受性群と高感受性群に分け、自覚症状とふらつきの関連について解析し、ふらつきに影響を与える因子を検討した。

C. 研究結果

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

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

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

3) 有毛細胞におけるタイトジャンクションは、Apical側ではparallel strand patternが形成され、その下部ではbranching strand patternを構成していた。また、3細胞が接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 側に局限していた。Claudin 9 は、junction 領域全体に広く発現していた。Tricellulin は、tricellular junction 領域にのみ発現していた。強制発現した COS-7 cell の系では、claudin 9、claudin 14、tricellulin いずれにおいても細胞の重なり合った領域においてそれぞれの分子が集中、集積していた。そして、claudin 14 を強制発現した系では、有意に parallel strand を形成していた。Co-culture 法では、claudin 14 と tricellulin は、同部位に集積し共発現していたが、claudin 9 と tricellulin に関しては、同部位に集積を示さなかった。

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

5) メニエール病、遅発性内リンパ水腫の内リンパ嚢では、V2R 遺伝子の発現量が対照群に比して有意に上昇していた。またメニエール病の内リンパ嚢における cyclic AMP 活性は基礎的に有意に上昇しており、抗利尿ホルモン刺激に対する反応性も有意に上昇していた。

6) 術後 ABG(+) 症例は 25 例 (50.0%) (術前は全例 ABG(-))、術中 OPC(+) 症例は 36 例 (72.0%)、中内耳ターゲット CT で PFD(+) 症例は 30 例 (60.0%) であった。各症例の各検査時期における手術成績は VS(+) が 42 例 (84.0%)、HG(+) が 20 例 (40.0%) であった。気骨導差の有無と手術所見に関して有意な相関が認められた (χ^2 乗検定: $p < 0.05$)。気骨導差の有無と CT 所見に関しては有意な相関が認められなかった (χ^2 乗検定: $p > 0.05$)。気骨導差の有無と手術成績に関して、めまい抑制成績は有意な相関は認められなかったが (χ^2 乗検定: $p > 0.05$)、聴力改善成績は有意な相関が認められた (χ^2 乗検定: $p < 0.05$)。

7) 術前のカロリック検査では左半規管麻痺 (CP) を認め、眼球運動の解析により右下向き、軽度回旋性の自発眼振が確認された。ま

た、外耳道加圧により眼振の水平方向成分は右向きから左向きに変化した。初診時の純音聴力検査では約 55 デシベルの左右差のない両側感音難聴を認めた。左聴力は変動性難聴を呈し、低音～中音域に気導-骨導差を認めるようになった。術後の眼球運動解析では、自発眼振の消失が確認され、外耳道加圧時の眼振出現も見られなかった。骨導聴力には手術前後で変化は見られなかった。自覚的なめまいは完全に消失した。

8) 第一段階の Coregister 機能にて 222 耳の画像を重ねる際には、蝸牛～前庭の形態のバラツキはほとんど見られなかったが、一部被験者において特に後半規管の大きさが小さい場合があり、他の被験者の内耳画像へ重ね合わせる際にずれが認められる場合があった。第二段階の Normalize 機能を用いた重ね合わせの際は、蝸牛・前庭・半規管の形態は正しく変換され、ずれはほとんど認めなかった。

9) 2 名の診断医の間で、内リンパ水腫の有無に関して診断が相違することはなかった。メニエール病では 9 例中 8 例で内耳のいずれかの部位に内リンパ水腫を認めた。突発性難聴では 8 例中 2 例で内リンパ水腫を認めた。メニエール病における内リンパ水腫陽性率と突発性難聴における内リンパ水腫陽性率には有意な差を認めた。

10) AH-BPPV の自然寛解までの日数は 平均 13 日、中央値 7 日であった。以前の研究にて GH-BPPV の自然寛解までの日数は平均 16 日、中間値 7 日であったことを報告している。

11) $> 70\%$ の正選択率に到達するまでに BVD 群は 48 日かかり、シャム手術群の 30 日に比べ、有意に長い期間を要した。また正反応数は BVD 群ではシャム手術群より有意に少なく ($p = 0.006$)、誤反応数も有意に多かった ($p = 0.00$)。一方で、無視 (omission) 数と尚早反応 (premature response) 数は両群に差がなく、また衝動反応 (perseverative response) 数は BVD 群で有意に多かった。

12) D-H 法により、眼球の上極が D-H 法で左右に傾けた方向とは反対側に向かう回旋成分に加え下眼瞼向きの垂直成分をもつ垂直回旋混合性眼振を認めたため、34 歳男性は右前半規管型 BPPV、66 歳男性は左前半規管型 BPPV と診断した。それぞれの症例で、Reverse Epley 法を施行したところ、34 歳男性では右前半規管が刺激されたときに観察される眼振と同じ

垂直回旋混合性眼振であった。一方、66歳男性では、reverse Epley法中の眼振の方向が逆転し、reverse Epley後に再度右D-H法を施行したところ、今度は右後半規管型BPPVに典型的な頭位変換眼振を示した。

13) 水平、垂直、前後方向ともに、歩行停止までの距離が短く、刺激提示時間の長い0.6m条件のほうでふらつきが大きかった。PSQでは、高感受性群でのみ、テクスチャの運動条件によって、平行条件より回転条件で大きなふらつきが見られた。SSQでは、特定のスコアについて、高感受性群でのみ、テクスチャの運動提示時間および歩行停止までの距離によるふらつきに差が見られた。

D. 考察

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

2) 従来のSiemens社製に加えGE社製MR装置でも、内耳ガドリニウム造影MRI法により内リンパ水腫を検出できることが示され、今後同法を用いた内リンパ水腫の画像診断がますます普及していくと思われる。メニエール病例で内リンパ腔の拡大を認める比率が突発性難聴例より高く、メニエール病の病態が内リンパ水腫であることを画像的に確認できた。病理解剖により内リンパ水腫を認めた例のみdefinite Meniere's diseaseと定義されているが、今後は内耳ガドリニウム造影MRIによる内リンパ水腫検出例をdefinite例に加えることも検討してよいと思われる。これまで遅発性内リンパ水腫や突発性難聴例では高音部の難聴のため蝸電図による内リンパ水腫の検出が困難である例が多かった。このような例でも内耳ガドリニウム造影MRIは内リンパ水腫の診断に有用であると思われる。今後、突発性難聴や前庭神経炎、外傷例などメニエール病以外の内耳疾患でも内リンパ水腫が画像的に診断される例が出てくるとと思われるが、こ

れらはおそらく2次性の内リンパ水腫であり、特発性内リンパ水腫であるメニエール病とは区別して認識する必要がある。

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

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

5) 何らかの原因で一側内リンパ嚢にV2R遺伝子が過剰発現し、その下流のcyclic AMP活性が上昇していることが一側の内リンパ水腫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たした際、一側メニエール病もしくは同側型遅発性内リンパ水腫を発症する可能性が示唆された。

6) 術中に裏面骨が確認できた症例では、術後気骨導差が有意に認められた。また術後気骨導差の認められた症例では、聴力改善成績が有意に優れていた。これらの結果から、術後に生じる気骨導差は内リンパ嚢が裏面骨付近の前庭水管まで広範囲に削開開放できていることを意味し、術後経過の指標として有用である可能性が示唆された。

7) 本症例では左上半規管に裂隙を認めたが、眼振の下向き垂直性成分の発生機序としては左上半規管刺激が推察された。眼振の右向き水平成分の発生機序としては、裂隙により生じた内耳リンパ液流動の異常が長期間存在したため、左外側半規管の機能低下が惹起されたものと推察された。感音難聴の発症機序としては、加齢変化に加え、長期間の内耳リンパ液流動の異常の影響が、気導-骨導差の機序としては、3rd mobile windowの存在、2次性内リンパ水腫の可能性も推察された。

8) 健常者を含む222耳分の内耳MRI画像を用

いて、内耳の標準的な3次元形態画像「内耳テンプレート」を作成したところ、蝸牛～前庭部分のずれがほとんど見られなかったことから、この部分の形態の個人差は極めて少ないものと考えられた。一方、半規管の直径については明らかな個人差が認められた。

9) 突発性難聴等の多様な内耳疾患後に、2次性に内リンパ水腫が引き起こされることがGd鼓室内注入によるMRI検査で確認された。

10) AH-BPPVはGH-BPPVに比べ難治とは言えなかった。水平半規管のクプラに付着したクプラ結石はクプラからはずれ水平半規管の近位部を經由して前庭に結石がもどる症例、逆に遠位部を經由して前庭に結石がもどる症例が存在すると考えられた。

11) 両側内耳破壊群では注意機能障害が生じることが示唆された。しかし、単に注意力のみの障害とするならばBVD群ではomission数が増加し正選択率が低下しているはずであるが、BVD群ではシャム群と比べomission数には差がなく、注意機能障害によるものだけでは説明がつかない。一方、過去に両側内耳破壊により空間認知力障害が生じることから、今回の結果は前頭葉の注意機能+海馬の空間記憶機構におきた障害によると考察できる。

12) Reverse Epley法は前半規管に存在する半規管結石を一定方向に移動させる頭位治療であるので、その間に観察される眼振の方向は一定であるはずであり、34歳男性は真の前半規管型BPPVと考えられる。66歳男性のreverse Epley法中の眼振は左前半規管に存在する半規管結石では説明できず、本当は右後半規管型BPPVであるにもかかわらず、左前半規管型BPPVの頭位変換眼振が観察されたと考え、これを偽前半規管型BPPVと診断した。前半規管型BPPVはまれな疾患であり、偽前半規管型BPPVも存在するので、診断の際には慎重を要すると考えられる。

13) 水平、垂直、奥行き方向のすべてで、歩行停止までの距離が短く、刺激提示時間の長い0.6m条件でふらつきが大きかったため、動く広告などは、階段前や曲がり角など歩行速度が変化する場所に設置すると、ふらつきを増悪させる危険性があることが示唆された。また、PSQ、SSQにおいて口乾受精群で刺激の種類の影響を受けやすく、刺激としては平行刺激よりも回転刺激の方がふらつきへの影響

が大きい可能性が考えられた。

E. 結論

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

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

3) 蝸牛および前庭の感覚細胞でのタイトジャンクションは、いくつかの異なる構成分子による数種類のサブドメインから形成されている。そして、それらのコンビネーションにより感覚細胞周囲の緻密な構造が形成されバリアーとしての役割を果たしており、water homeostasisが保たれていると思われる。

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

5) 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、さらには内リンパ囊におけるV2R-cyclic AMP細胞内情報伝達系に対する遺伝子療法が期待され、今後の当研究班活動において進めていく予定である。

6) 当科の内リンパ囊開放術では、可能な限り前庭水管付近まで骨削開が行われ、内リンパ囊は広く開放されている。最近、前庭水管拡大症、上半規管裂隙症候群にしばしば観察される低周波数領域の見かけ上の気骨導差は内耳骨欠損部位の存在により生じるという、Merchantの第3の内耳窓仮説が提唱されているが、本術後に生じる気骨導差に関しても内リンパ囊開放部位が第3の内耳窓となっている可能性が考えられた。

7) 半規管裂隙症候群(SCDS)の1例に対して、経乳突アプローチによるresurfacing手術を行ったところ、術前に観察された右下向き回旋性の自発眼振および外耳道加圧・減圧

による眼振は術後消失した。同時に、自覚的なめまい、頭位・体位変換時のめまいもほぼ完全に術後消失した。左上半規管の裂隙による左半規管内での内耳リンパ液流動の異常による、左上半規管刺激および左外側半規管の機能低下が示唆された。

8) 現時点では個別の計算は行えていないが、今後はテンプレートを活用し、半規管の直径・半規管間の角度の自動計算、バラツキの数値化などを行う予定である。また、内耳造影 MRI 法で得られた画像の断面が内耳のどの部分かを図示可能であり、被験者によって MRI 画像の断面位置・方法が異なる場合でも、内耳のどの部分が表示されているかを 3D 画像上で直感的に理解できるようになった。

9) ガドリニウム鼓室内注入 MRI 検査は、メニエール病のみならず、さまざまな内耳疾患に併発する内リンパ水腫の検出に有用であると考えられた。

10) 方向交代性上向性眼振症例（以下 AH-BPPV）と方向交代性下向性眼振症例（以下 GH-BPPV）の自然経過を比較したところ、AH-BPPV は GH-BPPV に比べ難治とは言えず、治癒機転としては、水平半規管クブラ結石が水平半規管の近位部もしくは遠位部を経由して前庭に移動すると考えられた。

11) 両側内耳破壊ラットに対して前頭葉機能を反映するタスクを負荷したところ、両側前庭障害によって前頭葉に関連する注意機能障害と海馬に関連する空間認知障害の両者が生じる可能性が示唆された。前庭機能の障害により能動行動に影響が出ることが予測されることから、めまい患者における QOL 改善のための治療やめまいのリハビリテーション法の開発に際して、注意力障害や能動行動障害の改善にも留意することの重要性が示唆された。

12) 前半規管型 BPPV はまれな疾患であり、偽前半規管型 BPPV も存在する。診断の際には、Reverse Epley 法を追加で施行して眼振の観察を行い、慎重に診断する必要がある。

13) CAVE (virtual reality 装置) によって作成した 3 次元映像を用いて、視覚入力と前庭入力を矛盾させることにより、ふらつきの自覚、自由歩行の際の眼振や歩行偏位が起こることを報告してきた。このふらつきに影響を与える因子として、歩行停止までの距離、視覚刺激の提示時間、PSQ および SSQ に対す

る高感受性が推察された。また、平衡刺激と比較して、回転刺激によりふらつきの自覚が増悪すると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Kitahara T, Doi K, Maekawa C, Kizawa K, Horii A, Kubo T, Kiyama H: Meniere's attacks occur in the inner ear with excessive vasopressin type-2 receptors. *J Neuroendocrinol*, 20: 1295-1300, 2008.
- Kitahara T, Kubo T, Okumura S, Kitahara M: Effects of endolymphatic sac drainage with steroids for intractable Meniere's disease: A long-term follow-up and randomized controlled study. *Laryngoscope*, 118: 854-861, 2008.
- Imai T, Takada N, Sato G, Sekine K, Ito M, Nakamae K, Kubo T: Changes in slow phase eye velocity and time constant of positional nystagmus at transform from cupulolithiasis to canalolithiasis. *Acta Otolaryngol*, 128: 22-28, 2008.
- Imai T, Takeda N, Sato G, Sekine K, Ito M, Nakamae K, Kubo T: Differential diagnosis of true and pseudo-bilateral benign positional nystagmus. *Acta Otolaryngol*, 128: 151-158, 2008.
- Sato G, Uno A, Horii A, Umehara H, Kitamura Y, Sekine K, Tamura K, Fukui H, Takeda N: Effects of hypergravity on histamine H1 receptor mRNA expression in hypothalamus and brainstem of rats: implications for development of motion sickness. *Acta Otolaryngol*, 129: 45-51, 2009.
- Maekawa C, Kitahara T, Horii A, Miyabe J, Kubo T: Vestibular type of Mondini anomalies with BPPV and Meniere's disease-like symptoms. *Auris Nasus Larynx*, 2009 in press.
- 堀井 新:めまいの発症機序を考える:不安障害/抑うつとの関与. *Equilibrium Res*, 67: 245-251, 2008.
- 宮部淳二、北原 紘、堀井 新、前川千絵、木澤 薫、久保 武:メニエール病に対するイソソルビド液状とゼリー状の治療効果と服薬コンプライアンスの比較検討。

- Equilibrium Res, 67: 307-310, 2008.
- 土井勝美：めまいの発症機序を考える：メニエール病の遺伝的素因. Equilibrium Res, 67: 222-227, 2008.
 - 土井勝美：めまい. ガイドライン外来診療 2009、日経メディカル, 東京, 490-496, 2009.
 - Kitahara T, Maekawa C, Kizawa K, Horii A, Doi K : Plasma vasopressin and V2 receptor in the endolymphatic sac in patients with delayed endolymphatic hydrops. Otol Neurotol, 30 : 812-819, 2009.
 - Maekawa C, Kitahara T, Horii A, Miyabe J, Kubo T : Effects of endolymphatic sac drainage with steroids for intractable Meniere's disease. Auris Nasus Larynx, 36: 218-220, 2009.
 - Kondoh K, Kitahara T, Morihana T, Yamamoto K, Kubo T, Okumura S : Changes in caloric responses after temporal bone surgery with posterior tympanotomy. Auris Nasus Larynx, 36: 521-524, 2009.
 - Horii A, Kitahara T, Osakai Y, Imai T, Fukuda K, Sakagami M, Inohara H : Intractable benign paroxysmal positioning vertigo: Long-term follow-up and inner ear abnormality detected by three-dimensional magnetic resonance imaging. Otol Neurotol, 31: 250-255, 2009.
 - Imai T, Takeda N, Ito M, Sekine K, Sato G, Midoh Y, akamae K, Kubo T : 3D analysis of benign positional nystagmus due to cupulolithiasis in posterior semicircular canal. Acta Otolaryngol, 129 :1044-1049, 2009.
 - 大崎康宏, 畑澤 順: PET/SPECT. Equilibrium Res, 68: 54-61, 2009.
 - T. Imai, A. Horii, N. Takeda, T. Kitahara, K. Higashi-Shingai, H. Inohara: A case of apogeotropic nystagmus with brainstem lesion: An implication for mechanism of central apogeotropic nystagmus. Auris Nasus Larynx 37: 742-746, 2010.
 - C. Maekawa, T. Kitahara, K. Kizawa, S. Okazaki, T. Kamakura, A. Horii, T. Imai, K. Doi, H. Inohara, H. Kiyama: Expression and translocation of aquaporin-2 in the endolymphatic sac in patients with Meniere's disease. J Neuroendocrinol 22: 1157-1164, 2010.
 - A Horii, T Kitahara, Y Osaki, T Imai, K Kukuda, M Sakagam, H Inohara: Intractable benign paroxysmal positioning vertigo: long-term follow-up and inner ear abnormality detected by three-dimensional magnetic resonance imaging. Otol Neurotol 31: 250-255, 2010.
 - K Kizawa, T Kitahara, A Horii, C Maekawa, T Kuramasu, T Kawashima, S Nishiike, K Doi, H Inohara: Behavioral assessment and identification of a molecular marker in a salicylate-induced tinnitus in rats. Neuroscience 165: 1323-32, 2010.
 - N. Hikita-Watanabe, T. Kitahara, A. Horii, T. Kawashima, K. Doi, SI. Okumura: Tinnitus as a prognostic factor of sudden deafness. Acta Otolaryngol 130: 79-83, 2010.
 - K. Terao, S. Cureoglu, PA. Schachern, MM. Paparella, N. Morita, T. Sato, K. Mori, K. Murata, K. Doi: Marrow-middle ear connections: a potential cause of otogenic meningitis. Otol Neurotol 32: 77-80, 2010.
 - H. Shojaku, Y. Watanabe, N. Takeda, T. Ikezono, M. Takahashi, A. Kakigi, J. Ito, K. Doi, M. Suzuki, M. Takumida, K. Takahashi, H. Yamashita, I. Koizuka, S. Usami, M. Aoki, H. Naganuma: Clinical characteristics of delayed endolymphatic hydrops in Japan: A nationwide survey by the Peripheral Vestibular Disorder Research Committee of Japan. Acta Otolaryngol 130: 1135-40, 2010.
1. 学会発表
- 土井勝美, 大崎康宏, 久保 武 : メニエール病および遅発性内リンパ水腫症例への両側鼓室内Gd注入MRI検査. 第67回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 秋田.
 - 堀井新, 大崎康宏, 北原紘, 土井勝美 : 鼓室内ガドリニウム注入MRIによる内リンパ水腫の画像診断. 第67回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 秋田.
 - 北原 紘, 前川千絵, 木澤 薫, 堀井 新, 土井勝美 : ストレスとメニエール病発作. 第67回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 秋

- 田.
- 西村将彦, 柿木章伸, 土井勝美, 竹田泰三: Vasopressin投与によるラット血管条の形態変化について (第二報). 第67回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 秋田.
 - 大崎康宏, 工藤香児, Mikhail Kunin, Theodore Raphan, Catherine Cho, Bernard Cohen: 歩行速度と歩行率がトレッドミル歩行時の足の動きに与える影響. 第67回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 秋田.
 - 今井貴夫, 真貝佳代子, 堀井新, 武田憲昭: 方向交代性上向性眼振を示す中枢性頭位めまいと思われる一症例. 第67回日本めまい平衡医学会, 2008, 10, 秋田.
 - 土井勝美, 川島貴之, 大崎康宏, 久保武: メニエール病症状を呈した内リンパ嚢原発奇形種の一例. 第18回日本耳科学会, 2008, 10, 神戸.
 - 西村将彦, 柿木章伸, 西岡利恵, 土井勝美, 竹田泰三: ラット内リンパ嚢におけるAQPサブタイプ・V2-R・NKCCサブタイプの発現について. 第18回日本耳科学会, 2008, 10, 神戸.
 - 大崎康宏, 土井勝美, 川島貴之, 久保武: 両側中耳Gd注入MRI検査での内耳造影効果の検討. 第18回日本耳科学会, 2008, 10, 神戸.
 - 北原 紘, 堀井新, 久保武, 奥村新一, 北原正章: Endolymphatic sac drainage and steroid-instillation surgery for intractable Meniere's disease. 第18回日本耳科学会, 2008, 10, 神戸.
 - 堀井新, 北原紘, 久保武: Intratympanic gentamicin injection therapy for intractable Meniere's disease. 第18回日本耳科学会, 2008, 10, 神戸.
 - 北原 紘, 堀井新, 久保武, 奥村新一, 武田憲昭, 三代康雄, 北原正章: 内リンパ嚢への高濃度ステロイド局所投与による難治性メニエール病治療の無作為化比較試験. 第109回日本耳鼻咽喉科学会総会, 2008, 5, 大阪.
 - 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テスラ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.
- T Imai, A Uno, S Nishiike, T Kitahara, A Horii, N Takeda, H Inohara: 3D analysis of benign positional nystagmus due to cupulolithiasis in posterior semicircular canal. 25th Barany Society Meeting 2010. 11, Kyoto.
- 岡崎鈴代, 西池季隆, 堀井新, 北原紘, 宇野敦彦, 今井貴夫, 猪原秀典, 渡邊洋: 仮想現実による光流動刺激が姿勢制御に与える影響. 第 69 回日本めまい平衡医学会, 2010. 11, 京都.
- 今井貴夫, 増村千佐子, 宇野敦彦, 西池季隆, 武田憲昭, 堀井新, 北原紘, 真貝佳代子, 猪原秀典: エプリー法で治療した後に前半規管型良性発作性頭位めまい症に変化したと思われる眼振の責任半規管の同定. 第 69 回日本めまい平衡医学会, 2010. 11, 京都.

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究要旨

1 前庭障害に対する抗うつ薬局所投与法の有効性を検討するために、正常動物に対して抗うつ薬の一つであるロリプラムの局所投与の影響を調べた。ロリプラム局所投与は前庭神経節細胞に可塑性の分子であるCREBリン酸化を誘導した。また、末梢前庭器の形態には大きな影響を及ぼさなかったが、前庭機能、前庭神経節細胞の形態にはなんらかの障害を示す可能性が示唆された。

2 抗うつ薬の一つであるアミトリプチリン全身投与が一側末梢前庭障害に及ぼす影響を検討した。障害後1ヶ月の時点で、アミトリプチリンは前庭機能の回復を促進する可能性が示唆された。

3 熱ショック応答を誘導するテプレノンの経口投与が、前庭感覚細胞を障害から保護することができるかを検討した。テプ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、テプ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。

4 ポリフェノールであるResveratrol、IGF-1由来のペプチドSSSRの前庭有毛細胞保護効果について検討した。Resveratrolの添加がネオマイシンによる有毛細胞障害を有意に抑制し、その作用機序の一つとして、有毛細胞におけるResveratrolのヒドロキシラジカル産生抑制が明らかになった。同様にSSSRも有毛細胞をネオマイシンより保護する作用が認められ、この両者は共に内耳障害に対する治療薬となる可能性が示唆された。

5 サブスタンスP局所投与による末梢前庭保護効果について検討した。サブスタンスP投与により、AMPA障害後の自発眼振数は有意に抑制された。またVOR測定により、機能的にも保護効果を示すことが明らかとなった。次にサブスタンスP由来のペプチドFGLM-NH₂とIGF-1由来のペプチドSSSRとの混合液の有効性を検討した。FGLM-NH₂がSSSR存在下にAMPAによる前庭障害回復を促進した可能性が考えられ、同液の内耳障害に対する治療薬となる可能性が示唆された。

6 赤外線CCDカメラの記録映像を画像解析ソフトImageJを用いてvideo-oculography (VOG)を行い、独自のマクロプログラムによる解析にて、めまい平衡医学会の平衡機能検査法基準化のための資料に基づいた眼振矢印の解析を試みた。Image J を用いたVOGにおける温度刺激検査の定量的評価を行い、従来の矢印による眼振表記について、客観的な結果として記録することが可能となった。また、video-oculography (VOG)による視標追跡検査において、パソコンのプログラムから刺激を出し、同時に記録を行うことにより、刺激と記録を同期させる試みを行った。刺激と記録を同期させることにより刺激の情報が直接記録に反映されることによって、より正確に結果の定量的解析を行うことができた。さらには、市販のファイリングソフトを用いてVOGを行うシステムを開発した。ファイリングしながら画像の取込、結果の管理が出来るようになり、日常診療においてストレスが少なく、効率的に検査を行うことが可能となった。

A. 研究目的

1) 抗うつ薬の一つであるロリプラム局所投与が前庭神経系に与える影響を正常動物を用いて前庭神経系の形態、前庭神経節細胞でのCREBリン酸化誘導の有無を指標に検討する。
2) 抗うつ薬の一つであるアミトリプチリン全身投与が一側末梢前庭障害に及ぼす影響を

検討する。

3) 熱ショック応答を誘導するテプレノンの経口投与が、前庭感覚細胞を障害から保護することができるかを検討する。

4) アミノグリコシドによる前庭有毛細胞障害に対するResveratrol、IGF-1由来のペプチドSSSRの保護効果について検討する。

5) AMPAによる末梢前庭障害に対するサブスタンスP、サブスタンスP由来ペプチドFGLM-NH₂とIGF-1由来のペプチドSSSR混合液局所投与の保護効果について検討する。

6) Image J を用いたVOGにおける温度刺激検査の定量的評価を行い、従来の矢印による眼振表記について、客観的な結果として記録できるかを検討する。video-oculography (VOG) による視標追跡検査において、刺激と記録を同期させる試みを検討する。市販のファイリングソフトを用いてVOGを行うシステムを開発する。

B. 研究方法

1) プライエル反射正常、鼓膜正常なハートレイ系白色モルモットの雄を用いた。キシラジンとケタラルで全身麻酔を行い、耳後切開後に中耳骨胞を開放した。正円窓下に小孔を作成し、浸透圧ポンプを接続したカテーテルを留置した。浸透圧ポンプは皮下に留置した。術側は全て右耳とした。ロリプラムは、全身麻酔の影響が完全に消失した術後 12 時間から内耳に投与されるように、生理食塩水を満たしたカテーテルをポンプに接続した。術前とロリプラム注入後 12、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、側頭骨を摘出後、膜迷路を採取して、外側半規管膨大部、卵形嚢の形態学的変化を観察した。また、前庭神経節を摘出後、p-CREB を免疫染色した。

2) モルモット一側中耳腔にクロロホルムを注入して前庭障害を作成した。アミトリプチリン、あるいは生食を 1 週間連日腹腔内投与し、障害前、障害後 1 ヶ月での前庭機能を VOR で評価した。

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

(1) Hsp70 の発現について

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

(2) 感覚細胞の保護効果について

2 群のマウスに対し、ペントバルビタールに

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

4) 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、CO₂ 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は 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。

同様の手技で、マウス培養卵形嚢を用いて、コントロール群、ネオマイシン群、ネオマイシン+SSSR 群を作成した。培養終了後、組織を固定、免疫染色を行い、顕微鏡下に単位面

積あたりの有毛細胞数を評価した。

5) プライエル反射正常、鼓膜正常なハートレイ系白色モルモットの雄を用いた。キシラジンとケタラルで全身麻酔を行い、耳後切開後に中耳骨胞を開放した。正円窓下に小孔を作成し、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、IGF-1、FGLM-NH₂+SSSR 混合液、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。薬物は、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。急性期の自発的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。

6) 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。視標表示のムービーを作成し、パソコンから外部モニタ (パソコン上のモニタでも可) へ出力した。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撮影し、USB キャプチャユニットを用い、1 秒間 30 フレーム、H. 264 形式で、視標を表示させた同じパソコンに同期して取り込んだ。Image J マクロプログラムの

校正用コマンドで校正を行った。Image J マクロプログラムの解析用コマンドにより解析した。視標の表示、画像の取込は、ファイルメーカー上から、Automater 機能で自動化して行い、画像ファイリングを含めて行った。解析結果もファイルメーカーでファイリングを行った。ファイリングソフト FileMaker Pro 11.0 と Apple 社製 PC を用いた。Apple Sprict でプログラムを組み、FileMaker と連動させて、眼球画像を頭位毎に QuickTime 形式で PC に取り込んだ。解析ソフトは Image J を用い、ファイルメーカーと連動させて当該眼球運動ファイルを開くことができるようにした。これまでに報告した方法で解析を行い、眼振図、眼振矢印を表示した。結果一覧を表示、カルテに取り込んだ。

(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) ロリプラム投与により、外側半規管膨大部、卵形囊には、明らかな組織学的変化を認めなかった。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。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用の変化を認めた。
- 2) アミトリプチリン投与群では、障害後 1 ヶ月の時点での VOR gain が回復傾向にあった。
- 3) Hsp70 mRNA はコントロール群においても発現を認めたが、テプ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プ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、カルビ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、テプ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。
- 4) 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 μ M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。

SSSR投与においては、24時間培養後の残存有毛細胞については、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。ネオマイシン+SSSR群では、有毛細胞密度の減少が有意に抑制されていた。

5) サブスタンスP投与群、FGLM-NH₂+SSSR混合投与群では薬物投与後、速やかに自発眼振が軽減し、また薬物投与3日後においてVORの低下が有意に抑制された。

6) video-oculography (VOG)による温度刺激検査で観察、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。視刺激検査では、コンピュータ解析の利点を生かした定量的な評価が可能であるが、刺激と記録を同期させることにより刺激の情報が直接記録に反映されることによって、より正確に結果の定量的解析を行うことが期待できた。さらには、多額な費用をかけることなく、ファイリングしながら画像の取込、定量的解析、結果の管理、検索、エクスポート、報告書作成が可能となった。

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、末梢前庭器の形態に大きな変化をきたさなかった。また、ロリプラムの内耳局所投与は、前庭神経節細胞でのCREB up regulationを誘導したが、前庭機能、前庭神経節の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。

2) 抗うつ剤はCREBの活性化をきたすことでBDNFの産生増加を誘導して細胞新生に寄与するといわれており、これらと同様の機序が前庭神経系に影響を及ぼした可能性を考えた。

3) 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、当施設でもテプ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、テプ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、本実験のテプ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、製剤の工夫などの工夫が必要になるが、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。

4) 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や、高カロリー食を与えたマウスの寿命を延長することで注目されている物質である。薬理学的には、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となり、このことは有毛細胞が保護された機序のひとつと考えられた。

SSSRは有毛細胞をアミノグリコシドより保護する作用が認められた。SSSRにTGF- β の産生を促進する作用が報告されており、作用機序のひとつと考えた。低分子量の物質であり組織移行性は良好であることが予想され、内

耳障害に対する治療薬のひとつとなる可能性を考えた。

5) サブスタンス P 単独、あるいは、FGLM-NH₂ が SSSR 存在下に AMPA による前庭障害回復を促進した可能性が考えられた。同液は人体に対する安全性が確立されており、分子量が小さく内耳への移行も期待できる。

6) 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つことも考えられる。

video-oculography (VOG) による視刺激検査では、コンピュータ解析の利点を生かした定量的な評価が可能となり、刺激と記録を同期させることにより刺激の情報が直接記録に反映されることによって、より正確に結果の定量的解析を行うことができる。また視刺激装置は不要で、パソコン（とモニタ）があれば検査が可能であり、機動性にも優れ例えばベッドサイドでも施行可能であり、これまでよりもさらに手軽に行うことが可能となった。

問題点として刺激の速度を上げたり、視野角を広げるとモニタ上にブレがおこりうまく表示できず改良が必要である。さらに定量的評価の項目について、検討が必要である。

ファイリングしながら画像の取込、結果の管理が出来るようになり、日常診療においてストレスが少なく、効率的に検査を行うことが可能となった。さらに初診時や救急外来等で使用して、とりあえずの眼球運動画像を記録しておけば、後からでも解析して急性期の所見を確認することができ、診断や病状把握に大変有用となると考えられる。

E. 結論

1) ロリプラムの内耳局所投与は、前庭神経節細胞での CREB 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。

2) アミトリプチリン全身投与が末梢前庭障害後の機能回復を促進した。

3) テプ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、テプ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。

4) ポリフェノール的一种である Resveratrol、IGF-1 由来のペプチドである SSSR が、アミノグリコシドによる内耳障害を抑制した。Resveratrol の保護作用の機序のひとつとして抗酸化作用が考えられた。

5) AMPA による末梢前庭障害に対して、SP、FGLM-NH₂ + SSSR 混合液は障害回復を促進した。

6) 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。視標追跡検査において、パソコンのプログラムから刺激を出し、刺激と記録を同期させて VOG を行った。手軽に検査を行うことができる上、さらにより正確な定量的評価が期待できると考えた。市販のファイリングソフトを用いて VOG を行うシステムを構築し、効率的に検査を行う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手法-. JOHNS24(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.
- ・Yoshinobu Hirose, Kazuma Sugahara, Takefumi Mikuriya, Makoto Hashimoto, Hiroaki Shimogori, Hiroshi Yamashita. Effect of water-soluble coenzyme Q10 noise-induced hearing loss in guinea pigs. Acta Oto-Laryngologica 128: 1071-1076, 2008.
- ・Tsubuyuki Arai, Kazuma Sugahara, Takefumi Mikuriya, Yuji Miyauchi, Yoshinobu Hirose, Makoto Hashimoto, Hiroaki Shimogori, Hiroshi 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.
- ・Takefumi Mikuriya, Kazuma Sugahara, Kazutaka Sugimoto, Mitsuaki Fujimoto,

- Tsuyoshi Takemoto, Makoto Hashimoto, Yoshinobu Hirose, Hiroaki Shimogori, Naoki Hayashida, Sachiye Inouye, Akira Nakai, Hiroshi 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.
- Hiroshi Orita, Hiroaki Shimogori, Hiroshi 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.
 - 山下裕司, 下郡博明. 内耳ドラッグデリバリーと薬物療法. めまいと平衡障害: 145-149, 2009.
 - 池田卓生, 橋本誠, 山下裕司. ImageJ を用いた眼振解析とその表示—平衡機能検査法基準化のための資料に基づいて—. めまい平衡医学会 68(2): 92-96, 2009.
 - 橋本誠, 山下裕司. メニエール病に対する鼓室内薬液注入療法. *JOHNS* 26(6): 945-948, 2009.
 - 山下裕司, 御厨剛史. 熱ショック応答と内耳保護機能. *耳鼻咽喉科展望* 52(5): 65-67, 2009.
 - 中本哲也, 御厨剛史, 菅原一真, 山下裕司. 蝸牛における音響障害後の炎症性サイトカインの動向. *頭頸部自律神経* 24: 15-17, 2010.
 - 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 の影響. *頭頸部自律神経* 24: 18-19, 2010.
 - 菅原一真, 山下裕司. 感音難聴と酸化ストレス. よくわかる聴覚障害 難聴と耳鳴のすべて. 334-336, 2010.
 - 山下裕司. 前庭神経炎の治療の EBM とは? EBM 耳鼻咽喉科・頭頸部外科の治療. 218-219, 2010.
 - 橋本誠, 山下裕司. めまい急性期に対するカクテル療法. *ENTONI* 120: 8-13, 2010.
 - 下郡博明. II. めまい検査 1. 眼振検査 (注視眼振, 頭位・頭位変換眼振). *耳鼻咽喉科・頭頸部外科の検査マニュアル 方法・結果とその解釈*. 89-93, 2010.
 - 福田裕次郎, 岡崎吉紘, 中本哲也, 橋本誠, 山下裕司. ふらつきで受診した Creutzfeldt-Jakob 病例. *耳鼻臨床* 104: 97-101, 2011.
- ## 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 大阪 2008.5.
 - 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大阪 2008.5.
 - 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大阪 2008.5.
 - 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 大阪 2008.5.
 - 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 大阪 2008.5.
 - 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 東京 2008.6.
 - 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 東京 2008.6.
 - 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 東京 2008.7.
 - 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 大阪 2008.8.
 - 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 大阪 2008.8.

- ・ 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 東京 2008.10.
- ・ 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 東京 2008.10.
- ・ 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 東京 2008.10.
- ・ 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 神戸 2008.10.
- ・ 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 回日本耳科学会総会・学術講演会 神戸 2008.10.
- ・ 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 神戸 2008.10.
- ・ 菅原一真, 下郡博明, 宮内裕爾, 橋本 誠, 山下裕司. テプ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 秋田 2008.10.
- ・ 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 秋田 2008.10.
- ・ 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 秋田 2008.10.
- ・ 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 秋田 2008.10.
- ・ 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 秋田 2008.10.
- ・ 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 広島 2008.12.
- ・ 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 広島 2008.12.
- ・ 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 東京 2009.5.
- ・ 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総 東京 2009.5.
- ・ 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 東京 2009.5.
- ・ 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 東京 2009.5.
- ・ 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 東京 2009.5.
- ・ 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総会・学術講演会 東京 2009.5.
- ・ 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 日本抗加齢医学会総会 東京 2009.5.
- ・ 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 北海道 2009.7.
- ・ 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 東京 2009.7.
- ・ 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 東京 2009.7.
- 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 大阪 2009.8.
 - 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 の影響 第27回 頭頸部自律神経研究会 大阪 2009.8.
 - 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 東京 2009.10.
 - 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 東京 2009.10.
 - 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 東京 2009.10.
 - 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 横浜 2009.10.
 - 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 横浜 2009.10.
 - 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 横浜 2009.10.
 - 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 徳島 2009.11.
 - 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 徳島 2009.11.
 - 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総会徳島 2009.11.
 - 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 徳島 2009.11.
 - 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 徳島 2009.11.
 - 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 および FGLM 投与による末梢前庭保護効果 第111回 日本耳鼻咽喉 仙台 2010.5.
 - 橋本 誠, 池田卓生, 岡崎吉紘, 菅原一真, 下郡博明, 山下裕司: video-oculography (VOG) により定量化した眼振記載法 第111回 日本耳鼻咽喉科学会 仙台 2010.5.
 - 御厨剛史, 菅原一真, 下郡博明, 山下裕司: 内耳熱ショック蛋白質と凝集体についての検討 第111回 日本耳鼻咽喉科学会 仙台 2010.5.
 - 田原晋作, 福田裕次郎, 橋本 誠, 御厨剛史, 金川英寿, 山下裕司: ふらつきを主訴に受診したクロイツフェルト・ヤコブ病の1症例 第36回 中国四国地方部会連合学会 岡山市 2010.6.
 - 山下裕司: 前庭神経炎とめまいを伴う突発性難聴 第27回 日本めまい平衡医学会医師講習会 宇部市 2010.6.
 - 福田裕次郎, 岡崎吉紘, 中本哲也, 橋本 誠, 山下裕司: ふらつきで受診したクロイツフェルト・ヤコブ病の1症例 第72回 耳鼻咽喉科臨床学会 倉敷 2010.7.
 - 御厨剛史, 菅原一真, 広瀬敬信, 山下裕司: 進行性難聴モデルの蝸牛内凝集体についての検討 第4回 聴覚アンチエイジング研究会 東京 2010.7.
 - 菅原一真, 御厨剛史, 広瀬敬信, 下郡博明, 山下裕司: サプリメントによる内耳保護効果について 第4回 聴覚アンチエイジング研究会 東京 2010.7.
 - Kazuma Sugahara, Takefumi Mikuriya, Yoshinobu Hirose, Yujiro Fukuda, Hideki Toyota, Kenji Takeno, Makoto Hashimoto,