

Meniere's disease and delayed endolymphatic hydrops using the transtympanic membrane massage device: A preliminary report. Acta Otolaryngol (Stockh), 131:1178-1186, 2011

・將積日出夫: 前庭誘発筋電位 (VEMP) ー取り方、読み方のピットフォールー Equilibrium Res, 70:215-222, 2011

・坪田雅仁、將積日出夫、堀悦郎、藤坂実千郎、西条寿夫、渡辺行雄: 強大音刺激により無麻酔サル眼窩周囲で記録される誘発反応の検討 Equilibrium Res 70:497-503, 2011

## 2. 学会発表

・將積日出夫、十二町真樹子、渡辺行雄、峯田周幸、青木光広、坪田雅仁、渡辺一道、五島史行、重野浩一郎: 難治性内リンパ水腫疾患に対する中耳加圧療法の長期成績 第112回日本耳鼻咽喉科学会総会、2011, 5, 京都

・十二町真樹子、將積日出夫、浅井正嗣、藤坂実千郎、渡辺行雄: 難治性内リンパ水腫疾患に対する経鼓膜的圧刺激による中耳加圧療法、2011, 5, 京都

・將積日出夫、牛島良介、渡辺行雄: フレンツェル眼鏡用超小型眼振撮影装置の試作 第70回日本めまい平衡医学会総会、2011, 11, 千葉

・將積日出夫、渡辺行雄、十二町真樹子、浅井正嗣: 難治性内リンパ水腫疾患に対する中耳加圧療法の比較 第70回日本めまい平衡医学会総会、2011, 11, 千葉

・坪田雅仁、將積日出夫、藤坂実千郎、堀悦郎、西条寿夫、渡辺行雄: 骨導刺激で無麻酔サル眼窩周囲で記録される誘発反応の検討 第70回日本めまい平衡医学会総会、2011, 11, 千葉

・高倉大匡、將積日出夫、西条寿夫、渡辺行雄: 近赤外線分光法 (NIRS) を用いた動的姿勢制御中の中枢応答の解析 第70回日本めまい平衡医学会総会、2011, 11, 千葉

・浅井正嗣、上田直子、金沢佑治、成瀬陽、西田悠、伏木宏彰、將積日出夫、渡辺行雄、安村佐都紀: 難治性めまい患者の治療 第70回日本めまい平衡医学会総会、2011, 11, 千葉

## G. 知的財産権の出願・登録状況

・特許取得

(出願状況)

出願番号: 特願 2011-151280

出願日: 平成 23 年 7 月 7 日

出願人: 富山大学

発明者: 將積日出夫

発明の名称: フレンツェル眼鏡用眼振撮影装置

### 1. 実用新案登録

なし

### 2. その他

なし

### 研究要旨

高齢者には椎骨脳底動脈の循環不全によるめまいが多いと考えられているが、虚血時の前庭神経核を含むニューロンの反応は不明な点が多い。また車の運転時や駅の階段など特異な視覚条件下で平衡障害を訴える患者は視性めまいと考えられている。これら非末梢前庭性めまいの機序を解明するため、①虚血時における前庭神経内側核(MVN)の働きについて脳幹スライス標本のパッチクランプ法にて、②視覚と平衡障害の相互作用について特異な視刺激による自覚的視性垂直位(SVV)を用いて検討した。

MVNニューロンは虚血により自発発火が消失したが、生理的条件下に戻すことで速やかに回復し、虚血に対して寛容であり、循環不全時にみられる一過性めまいの臨床所見に合致すると推測された。

めまい患者では周辺視野に呈示された錯視図形でSVVがより変異し、障害された末梢前庭機能の代わりに視覚により依存していると推測された。

### A. 研究目的

- ①前庭神経内側核(MVN)の一過性虚血に対する反応を調べる。
- ②視覚を錯乱した時の自覚的視性垂直位(SVV)の偏倚について調べる。

### B. 研究方法

#### ①MVNの一過性虚血

生後3-4週齢(P17-24)のWisterラットを用い、麻酔下に断頭し、小脳脳幹を摘出した。厚さ250 $\mu$ mの脳幹スライス標本を作製し、スライスパッチクランプ法にて、MVNニューロンの自発発火を記録した。電極の抵抗は3-5M $\Omega$ 、細胞内液(current clamp)はK-gluconate、細胞外液(voltage clamp)はCs-gluconateを使用した。記録は一過性の虚血負荷を再現するために、「生理的条件下」-「5分間の虚血条件」-「wash outして生理的条件下に戻す」ことで経時的に記録した。虚血状態は、ニューロンの栄養源を除去した灌流液を流すことで作り出した。すなわち細胞外液を、酸素なし(N<sub>2</sub>+CO<sub>2</sub>ガス)、グルコースなし(sucroseで浸透圧調整)に置換した(Oxygen-Glucose Deprivation; OGD)。ATP枯渇とK<sup>+</sup>イオンに関連したイオンチャンネルとしてATP感受性K<sup>+</sup>チャンネルを候補とし、その阻害剤(glibenclamideとtolbutamide)を使用した状態での虚血(OGD)反応を調べた。さらに、

実際に細胞外へ流出するK<sup>+</sup>イオン電流を直接的に測定し、阻害剤存在下での変化を観察した。

#### ②視覚を錯乱した時のSVVの偏倚

説明と同意を得ためまい患者15名(男7名、女8名、平均年齢47.6歳)の群と、健常者群としてめまい既往のない健康成人8名(男4名、女4名、平均年齢27.6歳)を対象に、錯視図形の長さで自覚的視性垂直位(SVV)を測定した。めまい群は、非発作期で自発眼振やめまい感のない時期に検査を行った。疾患の内訳は、頸性めまい1例、遅発性内リンパ水腫1例、前庭神経炎2例、メニエール5例、聴神経腫瘍6例であった。

#### 実験1 Muller Lyer錯視

水平直線の左右に開いた矢印 >-< と閉じた矢印 <-> をつけると両者の長さが違って見える錯視(Muller Lyer錯視)で、2本の水平線の長さが同じ条件、10%短い条件をランダムに16回呈示して、長さが「同じ」or「違う」を答えさせ、めまい群と健常者群とで正答率を比較した。

#### 実験2 Rod and Frame test (RFT)

SVVのバー周囲に-18度、0度、+18度傾いた正方形(Frame)を呈示したまま、垂直バー(Rod)を回転してSVVを測定した。RodとFrameの傾きの組み合わせ6通りをランダムに3セット繰り返し呈示してSVVの平均値を測定し、ば

らつき具合を絶対値で評価した。Frameが0度の場合と傾きをつけた場合とを評価し、めまい群と健常者群とを比較した。

(倫理面への配慮)

実験動物については、群馬大学医学部の動物実験倫理委員会にて承認されている。

## C. 研究結果

### ①MVNの一過性虚血

ATP感受性K<sup>+</sup>チャンネル阻害剤であるglibenclamide存在下でのOGD負荷では、一過性過分極は観察されなかった。もう一つのATP感受性K<sup>+</sup>チャンネル阻害剤であるtolbutamide存在下でのOGD負荷でも一過性過分極は観察されなかった。膜電位を-60mVに固定してOGD負荷を与えると約100pAの細胞外へ流出するK<sup>+</sup>イオン電流が確認できたが、阻害剤存在下でのOGD負荷では外向きK<sup>+</sup>イオン電流を確認できなかった。

### ②視覚を錯乱した時のSVVの偏倚

Muller-Lyer錯視の正答率は、めまい患者で低かった。Rod and Frame testでFrameに傾きがない場合、めまい患者群と健常者群とでSVV値に大きな差はなかった。Frameに傾きがある場合、めまい患者群では優位にSVV値が大きかった。Muller-Lyer錯視の正答率とSVV値との間に負の相関を疑ったが有意差はなかった。

## D. 考察

### ①MVNの一過性虚血

MVNニューロンは、虚血(OGD)に対して、ATP感受性K<sup>+</sup>チャンネルを介して外向きカリウム電流を生じ、自身を過分極させて自発発火を停止させる。この事実は虚血に伴うグルタミン酸由来の過興奮状態によるニューロン死を防ぐ、自己防衛機構と解釈できる。

### ②視覚を錯乱した時のSVVの偏倚

めまい患者群は、Frameが重力方向に正しい場所であれば、その視覚を頼りにして自覚的垂直位を表すことができた。しかし、間違ったFrame情報を与えると、空間織が錯乱して垂直位を正しく示すことができなかった。以上より、めまい患者では平衡障害がある分、視覚に依存していると推測される。錯視による直線の長さを答える課題の正答率が、めまい患者群で悪かったことから、錯視課題が視

覚依存の指標になるか検討したが、有意差はなかった。

## E. 結論

### ①MVNの一過性虚血

虚血(OGD)に対するMVNニューロンの一過性過分極はATP感受性K<sup>+</sup>チャンネルによる外向きカリウム電流による現象と考えられた。

### ②視覚を錯乱した時のSVVの偏倚

めまい患者は錯視にだまされ易く、Frameの傾きにつられてSVV値が大きくなることから、視覚に依存している可能性が示唆された。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

・Shino M, Takahashi K, Murata T, Iida H, Yasuoka Y, Furuya N: Angiotensin II receptor blocker-induced angioedema in the oral floor and epiglottis. *Am J Otolaryngol* 2011;32:624-626.

・Murata T, Yasuoka Y, Shimada T, Shino M, Iida H, Takahashi K, Furuya N: A new and less invasive procedure for arytenoid adduction surgery: Endoscopic-assisted arytenoid adduction surgery. *Laryngoscope* 2011;121:1274-1280.

・Mitsumura K, Hosoi N, Furuya N, Hirai H: Disruption of metabotropic glutamate receptor signalling is a major defect at cerebellar parallel fibre-purkinje cell synapses in staggerer mutant mice. *J Physiol* 2011;589:3191-3209.

### 2. 学会発表

・紫野正人, 高安幸弘, 宮下元明, 高橋克昌, 古屋信彦. 虚血による内側前庭神経核ニューロンの一過性過分極を説明するATP感受性K<sup>+</sup>チャンネル由来の外向きカリウム電流. 第70回日本めまい平衡医学会学術講演会, 2011. 11. 千葉.

・高安幸弘, 紫野正人, 古屋信彦. 前庭小脳unipolar brush cellにおける発火特徴と無酸素無グルコース刺激に対する感受性. 第70回日本めまい平衡医学会学術講演会, 2011. 11. 千葉.

・高橋克昌，松山敏之，岡宮智史，紫野正人，高安幸弘，宮下元明．錯視図形と視性自覚的垂直位．第70回日本めまい平衡医学会学術講演会，2011．11．千葉．

・宮下元明，松山敏之，岡宮智史，高安幸弘，高橋克昌．めまいを主訴に多発脳神経障害を呈した Ramsay Hunt 症候群の1例．第70回

日本めまい平衡医学会学術講演会，2011．11．千葉．

G．知的財産権の出願・登録状況  
なし

H．健康危険情報について  
なし

研究要旨 メニエール病の病態の解明と新しい治療法の開発に対する基礎的検討として、マウスを用い内耳、特に前庭器でのアクアポリン、バゾプレッシン受容体の発現を免疫組織学的に明らかにした。その結果、メニエール病のめまい発作の発症にはアクアポリン、バゾプレッシンが大きく関与することが明らかとなった。また、メニエール病の新しい治療法の開発の基礎的研究として内耳での $H^+$ ,  $K^+$ -ATPaseの局在を明らかにした。さらに治療薬の候補として、アスタキサンチンが前庭感覚細胞障害を軽減することが明らかとなり、今後の、メニエール病の新しい治療法の開発の基礎になるものと期待された。

## A. 研究目的

メニエール病の病態の解明と新しい治療法の開発を目的に、基礎的研究として、アクアポリン (AQP)、バゾプレッシン受容体 (V2R)、 $H^+$ ,  $K^+$ -ATPaseの内耳での局在を免疫組織学的に明らかにするとともに、新しい治療薬の開発のため抗酸化剤であるアスタキサンチンの前庭感覚細胞障害軽減効果について検討した。

## B. 研究方法

### 1) AQP、V2Rの内耳での局在

実験にはプライエル反射正常のCBA/Jマウス、8週齢（体重約20g）を使用した。動物はネンブタールによる深麻酔下に4%パラホルムアルデヒドにて灌流固定後、断頭、側頭骨を摘出した。試料はEDTAにて脱灰後、4 $\mu$ mの厚さで凍結切片を作製、AQP1、AQP2、AQP3、V2Rに対する抗体を用いて、免疫染色を行い蛍光顕微鏡にて観察した。

### 2) $H^+$ , $K^+$ -ATPaseの内耳での局在

実験にはプライエル反射正常のCBA/Jマウス、8週齢（体重約20g）を使用した。動物はネンブタールによる深麻酔下に4%パラホルムアルデヒドにて灌流固定後、断頭、側頭骨を摘出した。試料はEDTAにて脱灰後、4 $\mu$ mの厚さで凍結切片を作製、 $H^+$ ,  $K^+$ -ATPase  $\alpha$ 、 $H^+$ ,  $K^+$ -ATPase  $\beta$  に対する抗体を用いて、免疫染色を行い蛍光顕微鏡にて観察した。

### 3) アスタキサンチンの前庭感覚細胞障害軽減作用

実験にはプライエル反射正常の成熟、有色モルモット（体重250-300g）を使用した。動物はネンブタールによる深麻酔下に断頭、末梢前庭器を摘出し、一部は機械的方法により単離有毛細胞を作製した。最初にアスタキサンチン (AST) のフリーラジカル産生に対する作用を前庭器でのNO、活性酸素種 (ROS) の産生を指標に検討した。摘出卵形囊、半規管ならびに単離有毛細胞に10 $\mu$ M DAF-2DA、20 $\mu$ M DHTMRosにより20分間のloadingを行い、1mM ゲンタマイシン (GM) の負荷によるNO、ROSの産生を検討した。加えて10 $\mu$ M ASTによるNO、ROSの産生の抑制能を検討した。

次に、ASTの感覚細胞障害予防効果をGMによる感覚細胞死を指標にLIVE/DEAD systemを使用し検討した。実際には摘出卵形囊、半規管、単離有毛細胞をHBSS中にて培養し、10 $\mu$ M アスタキサンチンによる2mg/ml GM負荷後の感覚細胞の生存率に及ぼす影響を検討した。

（倫理面への配慮）

実験に際しては広島大学動物実験等規則に従い、同委員会の承認（承認番号A10-53）を受けて行なった。

## C. 研究結果

### 1) AQP、V2Rの内耳での局在

#### ①V2R

蝸牛ではV2Rの発現は血管条基底細胞、蝸牛内外有毛細胞、支持細胞の一部、蝸牛神経節細胞に認められた。前庭器ではV2Rの発現は半規管、球形囊、卵形囊の感覚細胞、上皮下の神経線維に認められた。卵形囊、半規管

の暗細胞、移行上皮にも発現が認められ、前庭神経節では神経節細胞、神経線維に発現が認められた。内リンパ嚢では上皮細胞に V2R の発現が認められ、特に細胞頂部で強かった。

#### ②AQP1

蝸牛では AQP1 はラセン靱帯の 3 型線維細胞に強く発現しており血管条では弱い発現が一樣に認められた。コルチ器では支持細胞の一部、蝸牛神経節細胞の一部にも発現が認められた。前庭器では感覚細胞、暗細胞、移行上皮、前庭神経節細胞で発現が認められ、内リンパ嚢上皮での発現は弱かった。

#### ③AQP2

蝸牛では AQP2 の発現は血管条基底細胞、ラセン靱帯 2 型線維細胞、蝸牛内毛細胞、蝸牛神経節細胞で認められた。前庭器では AQP2 の発現は半規管、球形嚢、卵形嚢の感覚細胞、上皮下の神経線維に認められ、特にクチクラ板に強く認められた。暗細胞、移行上皮にも発現が認められ、前庭神経節では神経節細胞、神経線維に発現が認められた。内リンパ嚢では上皮細胞に AQP2 の発現が認められた。

#### ④AQP3

蝸牛では AQP3 の発現は血管条、蝸牛神経節細胞に認められた。前庭器では V2R の発現は卵形嚢、半規管の暗細胞、移行上皮に強い発現が認められ、前庭神経節では神経節細胞に発現が認められた。内リンパ嚢では上皮細胞に AQP3 の発現が認められた。

### 2) $H^+$ , $K^+$ -ATPase の内耳での局在

#### ① $H^+$ , $K^+$ -ATPase $\alpha$ の発現

$H^+$ ,  $K^+$ -ATPase  $\alpha$  の発現は、蝸牛では蝸牛外側壁に強く認められた。蝸牛外側壁ではラセン靱帯下部で II 型と IV 型の線維細胞の存在する部位と血管条辺縁細胞に認められた。また、蝸牛神経節細胞でも発現が認められた。前庭器では半規管、球形嚢、卵形嚢の感覚細胞、上皮下の神経線維に認められた。卵形嚢、半規管の暗細胞下部の basal infolding の部位、移行上皮にも発現が認められ、前庭神経節では神経節細胞細胞質に発現が認められた。内リンパ嚢では上皮細胞に発現が認められ、特に細胞頂部で強かった。

#### ② $H^+$ , $K^+$ -ATPase $\beta$ の発現

$H^+$ ,  $K^+$ -ATPase  $\beta$  の内耳での発現は  $H^+$ ,  $K^+$ -ATPase  $\alpha$  とほぼ一致しており、蝸牛外

側壁のラセン靱帯下部で II 型と IV 型の線維細胞の存在する部位と血管条に発現が認められた。また、蝸牛神経節細胞でも発現が認められた。前庭器では半規管、球形嚢、卵形嚢の感覚細胞、上皮下の神経線維、卵形嚢、半規管の暗細胞下部、移行上皮にも発現が認められ、前庭神経節では神経節細胞細胞質に発現が認められた。内リンパ嚢では上皮細胞に発現が認められ、特に細胞頂部で強かった。

### 3) アスタキサンチンの前庭感覚細胞障害軽減作用

GM 刺激による前庭感覚細胞での NO、ROS の産生は AST を投与した場合には有意に抑制された。

AST の GM による前庭感覚細胞の生存率の低下 AST により抑制され、GM 投与 2 時間後の時点で比較すると GM 投与で  $51 \pm 8.0\%$  に低下した前庭感覚細胞生存率が AST 投与により  $81 \pm 13.0\%$  と有意に軽減された ( $p < 0.01$ )。

## D. 考察

### 1) AQP、V2R の内耳での局在

AQP は腎臓においては水の再吸収に関与していることがわかっており、内耳でも VP-AQP2 機構が水代謝に強く関連することが示唆されており、AQP1, 2, 3 や V2R が血管条に存在することが報告されている。今回の検討から、前庭器においても暗細胞、移行上皮といった水分輸送に関係する部位で AQP1, 2, 3, V2R の発現が認められたことは、蝸牛や内リンパ嚢と同様に前庭器においても AQP や V2R が水代謝に関与していることを示唆する結果といえる。さらに前庭感覚細胞や、神経節細胞においても AQP や V2R が出現していたことから、これらが内耳での感覚伝達に関与していることを示唆するものであると考えられた。

### 2) $H^+$ , $K^+$ -ATPase の内耳での局在

近年、gastric type  $H^+$ ,  $K^+$ -ATPase (gPP) が蝸牛外側壁に存在することが明らかになっている。RT-PCR による検討では蝸牛には gastric  $\alpha 1$ -と  $\beta$ -subunit が存在するが、colonic  $\alpha 2$ -subunit は存在しないことが明らかになっており、gPP が蝸牛での  $K^+$  の循環と EP の生成に重要な役割を果たすことが示唆されている。今回の検討で前庭暗細胞でも蝸牛血管条辺縁細胞と同様に暗細胞の basal infolding に一

致してgPPが認められたことより、前庭においてもK<sup>+</sup>の循環やpHの調節に関与していることが考えられた。さらに、gPPは内リンパ嚢上皮細胞にも認められ、蝸牛のみでなく内耳全体のpHの調節に関与していること、また蝸牛、前庭神経節細胞での発現は内耳感覚伝達機構に少なからず関係していることが示唆された。前述したように内耳の虚血と、gPPの活性が保たれていることから生じる閉じた空間である内リンパの代謝性アシドーシスは陰イオンの内リンパへのオーバーロード、浸透圧の上昇をきたしその結果として内リンパ水腫が生じ、メニエール病の特徴である、変動性聴力障害、耳鳴、めまいを引き起こすという仮説がなされているが、今回の結果はこの仮説に反しないものと考えられ、PPIのメニエール病に対する有効性を検討するための基礎的背景になると考えられた。

### 3) アスタキサンチンの前庭感覚細胞障害軽減作用

内耳障害の原因には感染、老化、耳毒性薬剤など様々なものが考えられるが、近年の研究により、内耳障害をきたすような病態では、その原因のいかんに関らず共通した障害機構が存在することが明らかになっており、なかでもNOや活性酸素をはじめとするフリーラジカルが大きな役割を果たしている。このような観点から我々はフリーラジカルを制御することで内耳障害の予防や治療が可能なることを報告してきた。今回、メニエール病に対する新しい薬剤を導入するため、アスタキサンチンの作用をフリーラジカルの観点から検討した。ASTは赤橙色を呈するカロテノイドの中のキサントフィルの一種で、主に海産物の筋肉や体表に多く含まれている。サケの魚肉部分や、イクラやスジコにもASTが多く含まれており、また、タイやキンメダイ、メバル、キンキ、ニシキゴイ、金魚といった魚の表皮や、エビ、カニの甲殻や身の赤身もASTによって生み出されている。ASTは活性酸素の中でも特に毒性の強い「一重項酸素」の酸化反応と、体内の組織を連鎖的に障害していく「過酸化脂質」の生成を抑える力が強く、抗酸化力はビタミンEの1,000倍に及ぶとされている。その応用は広範囲に及び、糖尿病合併症の抑制、眼疾患の抑制や眼精疲労の改善、癌予防、抗疲労作用などが報告されている。

今回の検討の結果、ASTにフリーラジカルの産生を抑制する作用があること、その結果、GMによる内耳障害の軽減作用があることが明らかとなった。ASTのフリーラジカル抑制作用については、ASTがROSとNOの産生を抑制すること、それにより神経保護作用を示すことが小脳や眼の研究により明らかになっているが、今回の結果によりASTは前庭感覚細胞においても感覚細胞の障害抑制作用を示すことが明らかとなった。前述したようにASTの抗酸化作用はビタミンCやビタミンEなどに比較しても非常に強力であり、今回の結果と我々のこれまでの検討をあわせて、ASTがメニエール病の治療に応用可能な薬剤と考えられ実際の臨床応用を検討すべきであると思われる。

### E. 結論

メニエール病の病態の解明と新しい治療法の開発を目的に、基礎的研究として、アキアポリン(AQP)、バゾプレッシン受容体(V2R)、H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPaseの内耳での局在を免疫組織学的に明らかにし、新しい治療薬の開発のためアスタキサンチンの前庭感覚細胞障害軽減効果について検討した結果、卵形嚢、球形嚢、半規管でAQP1、AQP2、AQP3、V2Rの蛋白発現を認め、これらが前庭での水代謝や感覚伝達機構に関与していることが示唆された。

また、蝸牛外側壁、神経節細胞、前庭暗細胞、前庭神経節細胞、内リンパ嚢上皮細胞でgPPの発現が認められ、これらが内耳でのK<sup>+</sup>の循環、pH調節、内耳感覚伝達機構に関与していることが示唆された。

さらにメニエール病の新しい治療薬の候補として、アスタキサンチンが前庭感覚細胞障害を軽減することが明らかとなり、今後の、メニエール病の新しい治療法の開発の基礎になるものと期待された。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- ・Takumida M, Anniko M: Localization of prostanoid receptors in the mouse inner ear. *Acta Otolaryngol* 131:142-148, 2011
- ・工田昌也：薬剤による高齢者のふらつき。

MB ENT 125:22-27, 2011.

・ Takumida M, Kakigi A, Egami N, Nishioka R, Anniko M: Localization of aquaporin1, 2, 3 and vasopressin type2 receptor in the mouse inner ear. Acta Otolaryngol 2011; in press

## 2. 学会発表

- ・ 工田昌也、平川勝洋：ラタノプロストによる内リンパ水腫の軽減効果. 第70回日本めまい平衡医学会. 平成23年11月18日、京都
- ・ 工田昌也：アスタキサンチンによる前庭感覚細胞障害の軽減作用. 第29回頭頸部自律神経研究会. 平成23年8月27日、大阪
- ・ 工田昌也：基礎研究から見たメニエール病の病態と治療. 第12回京滋めまいカンファレンス、特別公演. 10月22日、2011年、京都
- ・ 工田昌也：難聴に対するアスタキサンチンの可能性. AstaReal Symposium2012. 平成24年2月19日、京都

## H. 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

BPPV における半規管結石とクプラ結石の病態の違いは、頭位めまいの治癒経過に影響しない可能性が示唆された。高齢者、長期臥床、頭部外傷は、頭位めまいの治癒経過を遷延させる難治化因子と考えられた。内耳疾患および骨粗鬆症の既往は、頭位めまいの治癒経過に影響を与えなかった。

## A. 研究目的

良性発作性頭位めまい症（BPPV）の病態は半規管結石症またはクプラ結石症であり、病巣では後半規管（PC）と水平（外側）半規管（HC）でほとんどを占める。一般的には予後良好であるが、難治性 BPPV 症例も少なからず存在する。

理学療法が奏効しない BPPV や再発を繰り返す BPPV に関与する因子は頭部外傷が最も多いが、加齢、長期臥床、メニエール病などの内耳疾患も関係すると報告されている。

本研究では、2次医療機関である屋島総合病院耳鼻咽喉科外来を受診したBPPV症例を対象とし、BPPV症例の頭位めまいの消失過程をendpointとして難治例の評価を行った。

## B. 研究方法

対象は平成21年4月から平成23年6月までに当科を受診し、頭位・頭位変換眼振検査によりBPPVと診断した346例である。初診時に発症日、発症誘因、既往歴に関する詳細な問診を行った。

眼振は赤外線 CCD カメラで観察し、Dix-Hallpike 法で回旋性眼振が解発され、坐位で眼振の方向が逆転したものを後半規管型 BPPV（PC-BPPV）と診断した。PC-BPPV のうち、眼振の持続時間が 1 分以内のものを半規管結石症、1 分以上のものをクプラ結石症と分類した。一方、Supine roll test にて方向交代性眼振が解発されたものを外側半規管型 BPPV（HC-BPPV）と診断した。HC-BPPV のうち、方向交代性下向性眼振（geotropic nystagmus）を示す GHC-BPPV を半規管結石症、方向交代性上向性眼振（apogeotropic nystagmus）を示す AHC-BPPV をクプラ結石症に分類した。

PC-BPPV の半規管結石症に対しては Epley 法を施行し、クプラ結石に対しては自宅での Brandt-Daroff 法を指導した。HC-BPPV に対する耳石置換法の有効性のエビデンスが十分でないことから、理学療法を施行せずに経過を観察した。また、嘔気などの自覚症状が強い場合には、ジフェニドールを投与した。

受診後 1 週間以内に再診してもらい、以降は 1 から 2 週間毎の受診をしてもらった。受診時に頭位・頭位変換眼振検査を行い、眼振が消失した場合には自覚的に頭位性めまいが消失した日を問診した。初診時からの頭位めまいの消失過程を、Kaplan-Meier 法により比較した。

（倫理面への配慮）

解析にあたっては、患者のプライバシーに配慮し、匿名化を行った。

## C. 研究結果

PC-BPPV 症例では、半規管結石症に対して Epley 法を施行した症例の頭位めまいの消失過程とクプラ結石症に対して Brandt-Daroff 法を施行した症例の消失過程との間には、差を認めなかった。半規管結石症の 51.5%とクプラ結石症の 42.3%が、1 週間以内に頭位めまいが消失した。一方、半規管結石症の 21.4%とクプラ結石症の 34.2%が 1 か月以上、治癒が遷延した。

一方、HC-BPPV 症例では、半規管結石症の GHC-BPPV 症例とクプラ結石症の AHC-BPPV 症例の間には、頭位めまいの自然治癒過程に差を認めなかった。GHC-BPPV 症例の 51.6%と AHC-BPPV 症例の 44.1%が、1 週間以内に頭位めまいが消失した。一方、GHC-BPPV 症例の 21.3%と AHC-BPPV 症例の 24.3%が 1 か月以上、

治癒が遷延した。

65歳以上のBPPV症例は、64歳以下のBPPV症例に比べ、有意に頭位めまいの消失過程が遷延していた。様々な疾患による長期臥床中に発症したBPPV症例は、発症誘因のない特発性BPPV症例に比べ、有意に頭位めまいの消失過程が遷延していた。頭部外傷後に発症したBPPV症例は、特発性BPPV症例に比べ、有意に頭位めまいの消失過程が遷延していた。

一方、メニエール病や突発性難聴などの内耳疾患と関連して発症したと考えられたBPPV症例と特発性BPPVの間では、頭位めまいの消失過程に差はなかった。さらに、骨量減少および骨粗鬆症を合併する特発性BPPV症例と、骨量が正常範囲の特発性BPPV症例の間で、頭位めまいの消失過程に差はなかった。

#### D. 考察

本研究より、BPPVにおける半規管結石とクプラ結石の病態の違いは、頭位めまいの治癒経過に影響しない可能性が示唆された。眼振の持続時間で診断したPC-BPPVクプラ結石症の割合は21.7%であったが、眼振の時定数により診断したPC-BPPVのクプラ結石症の割合は7.2%と報告されている。本研究では、時定数は短い最大緩徐相速度の大きい症例をクプラ結石症と診断した可能性が考えられた。一方、HC-BPPVのクプラ結石症は難治であると言われているが、頭位めまいの消失過程は半規管結石症の消失過程と比較して差を認めなかった。ただし、一部のクプラ結石症では、頭位めまいの消失が遷延している傾向が認められた。外側半規管のクプラに付着した耳石がshort arm側に落下するとすみやかに卵形嚢に排出されるが、long arm側に落下すると治癒が遷延する可能性が考えられた。

本研究から、高齢者のBPPVは頭位めまいの消失が遷延することが明らかになった。高齢者は平衡斑の変性が強く耳石が脱落しやすいためdebrisの量が多く、卵形嚢へ排出されにくいと考えられる。そのため、高齢者のPC-BPPV症例の理学療法後および理学療法を行わなかったHC-BPPV症例の頭位めまいの消失過程が遷延したと考えられた。また、高齢者のPC-BPPV症例では、首の可動制限のため理学療法が十分に行えていなかった

可能性も考えられる。さらに、HC-BPPV症例では理学療法を行わなかったため、日常生活における頭の動きに伴ってdebrisが卵形嚢へ排出されると考えられる。高齢者は日常生活の活動性が低下しているため、治癒が遷延した可能性も考えられる。

長期臥床や頭部外傷が誘因となったBPPV症例は、誘因のない特発性BPPV症例と比較して、頭位めまいの消失過程が遷延していた。長期臥床では原疾患により寝返りや運動が困難であるためdebrisが凝集して半規管内を移動しにくいいため、治癒が遷延した可能性が考えられる。一方、頭部外傷では多くの耳石が脱落するため、debrisの量が多いと考えられる。そのため、debrisが卵形嚢へ排出されにくく、治癒が遷延した可能性が考えられる。

ところが、内耳疾患および骨粗鬆症の既往を持つBPPV症例の頭位めまいの消失過程は、特発性BPPV症例の消失過程と比較して差を認めなかった。内耳疾患の既往は耳石を変性させ、骨粗鬆症は耳石の代謝に悪影響を与えると考えられる。そのため、耳石が脱落しやすく、BPPVの再発が多いと報告されている。しかし、一度に脱落する耳石の量は特発性BPPVと違いはなく、卵形嚢への排出には影響しなかった可能性が考えられる。

#### E. 結論

BPPVにおける半規管結石とクプラ結石の病態の違いは、頭位めまいの治癒経過に影響しない可能性が示唆された。高齢者、長期臥床、頭部外傷は、頭位めまいの治癒経過を遷延させる因子と考えられた。内耳疾患および骨粗鬆症の既往は、頭位めまいの治癒経過に影響を与えなかった。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- Imai T, Takeda N, Ito M, Inohara H: Natural course of positional vertigo in patients with apogeotropic variant of horizontal canal benign paroxysmal positional vertigo. *Auris Nasus Larynx*, 38: 2-5, 2011.
- Umehara H, Mizuguchi H, Mizukawa N, Matsumoto M, Takeda N, Senba E, Fukui H: Deprivation of anticipated food under

- scheduled feeding induces c-Fos expression in the caudal part of the arcuate nucleus of hypothalamus through histamine H1-receptors in rats: potential involvement of E3 subgroup of histaminergic neurons in tuberomammillary nucleus. *Brain Res.*, 1387: 61-70, 2011.
- Sarukura N, Kogirima M, Takai S, Ikemoto S, Korin T, Ueda Y, Kitamura Y, Kalubi B, Yamamoto S, Takeda N: Dietary intake and dietary effects on zinc nutrition in healthy Japanese living in the central area of Japan. *J. Med. Invest.*, 58: 203-209, 2011.
  - Nurul I.M, Mizuguchi H, Shahriar M, Venkatesh P, Maeyama K, Mukherjee PK, Hattori M, Choudhuri M.S, Takeda N, Fukui H: Albizia lebeck suppresses histamine signaling by the inhibition of histamine H(1) receptor and histidine decarboxylase gene transcriptions. *Int. Immunopharmacol.*, 11: 1766-1772, 2011.
  - Higashi-Shingai K, Imai T, Takeda N, Uno A, Nishiike S, Horii A, Kitahara T, Fuse Y, Hashimoto M, Senba O, Suzuki T, Fujita T, Otsuka H, Inohara H: 3D analysis of spontaneous upbeat nystagmus in a patient with astrocytoma in cerebellum. *Aurin Nasus Larynx*, in press.
  - Mizuguchi H, Terao T, Kitai M, Ikeda M, Yoshimura Y, Das A.K, Kitamura Y, Takeda N, Fukui H: Involvement of PKC/ERK/poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP) signaling pathway in histamine-induced up-regulation of histamine H1 receptor gene expression in HeLa cells. *J. Biochem.*, in press.
  - Sarukura N, Takai S, Ikemoto S, Korin T, Ueda Y, Kitamura Y, Kalubi B, Yamamoto S, Takeda N: Effects of dietary zinc deprivation on zinc concentration and ratio of apo/olo-activities of angiotensin converting enzyme in serum of mice. *Auris Nasus Larynx*, 2011, in press.
  - Jinnouchi O, Kuwahara T, Ishida S, Okano Y, Kasei Y, Kunitomo K, Takeda N: Anti-bacterial and therapeutic effects of modified Burow's solution on refractory otorrhea. *Aurin Nasus Larynx*, 2011, in press.
  - Azuma T, Nakamura K, Takahashi M, Ohyama S, Toda N, Iwasaki H, Kalubi B, Takeda N: Mirror biofeedback rehabilitation after administration of single dose of botulinum toxin for treatment of facial synkinesis. *Otolaryngol Head Neck Surg.*, 2011, in press.
  - Horii A, Nakagawa A, Uno A, Kitahara T, Imai T, Nishiike S, Takeda N, Inohara H: Implication of substance P neuronal system in the amygdala as a possible mechanism for hypergravity-induced motion sickness. *Brain Res.*, 2011, in press.
  - Fujimoto C, Takeda N, Matsunaga A, Sawada A, Tanaka T, Sawabuchi T, Shinahara W, Yamaguchi M, Hayama M, Yanagawa H, Kido H: Induction and preservation of anti-influenza antigen-specific secretory IgA in nasal washes and IgG in serum of adult influenza patients. *Influenza Other Respi. Viruses.*, 2011, in press.
  - Kitamura Y, Mizuguchi H, Ogishi H, Kuroda W, Hattori M, Fukui H, Takeda N: Pre-seasonal prophylactic treatment with antihistamines suppresses IL-5, but not IL-33 mRNA expression in the nasal mucosa of patients with pollinosis. submitted to *Acta Otolaryngol.*, 2011, in press.
  - 武田憲昭：反復するめまいへの対応。 *日本医事新報*, 4523：55-60, 2011.
  - 武田憲昭：めまい患者にメイロン注射が有効なわけは？ *耳鼻咽喉科診療・私のミニマム・エッセンシャル*。 *日本病院出版*：56-57, 2011.
  - 武田憲昭：めまい・平衡障害。 *今日の治療指針*。 *医学書院*：292-293, 2011.
  - 武田憲昭：自律神経機能異常はめまい発症に強くかかわっているか？ *救急・ER ノート1*：もう怖くないめまいの診かた、帰し方。 *羊土社*：218-222, 2011.

## 2. 学会発表

- ・阿部晃治, 関根和教, 北村嘉章, 武田 憲昭: 当科におけるメニエール病に対する内リンパ嚢手術について. 第 68 回徳島県地方部会, 2011.3, 徳島.
- ・太原一彦, 阿部晃治, 島田亜紀, 武田憲昭: メニエール病に対して内リンパ嚢再手術を行った 1 例. 第 37 回中国四国地方部会連合学会, 2011.6, 松山.
- ・今井貴夫, 増村千佐子, 宇野敦彦, 西池季隆, 堀井 新, 北原 糺, 武田憲昭, 猪原秀典: 真の前半規管型良性発作性頭位めまい症と偽前半規管型良性発作性頭位めまい症との鑑別. 第 112 回日本耳鼻咽喉科学会, 2011.5, 京都.
- ・真貝佳代子, 今井貴夫, 武田憲昭, 宇野敦彦, 西池季隆, 堀井 新, 北原 糺, 猪原秀典: 中枢性上眼瞼向き眼振と末梢性上眼瞼向き眼振の鑑別 ～三次元眼球運動解析による眼振の回転軸の検討～. 第 70 回日本めまい平衡医学会, 2011.11, 千葉.
- ・岡崎鈴代, 西池季隆, 今井貴夫, 堀井 新, 北原 糺, 宇野敦彦, 鎌倉武史, 滝本泰光, 武田憲昭, 猪原秀典, 渡邊 洋: 仮想現実による動的視覚環境が頭部偏位と眼球運動に与える影響. 第 70 回日本めまい平衡医学会, 2011.11, 千葉.
- ・今井貴夫, 滝本泰光, 宇野敦彦, 西池季隆, 堀井 新, 北原 糺, 鎌倉武史, 武田憲昭, 猪原秀典: 先天性眼振の 240Hz 眼球運動三次元解析. 第 70 回日本めまい平衡医学会, 2011.11, 千葉.
- ・増村千佐子, 今井貴夫, 北原 糺, 宇野敦彦, 西池季隆, 堀井 新, 武田憲昭, 猪原秀典: 前半規管型良性発作性頭位めまい症と偽前半規管型良性発作性頭位めまい症の鑑別. 第 70 回日本めまい平衡医学会, 2011.11, 千葉.
- ・松田和徳, 佐藤 豪, 関根和教, 武田憲昭: 良性発作性頭位めまい症の治療経過に対する睡眠頭位の影響. 第 70 回日本めまい平衡医学会, 2011.11, 千葉.
- ・佐藤 豪, 関根和教, 松田和徳, 武田憲昭: 良性発作性頭位めまい症の治療経過に影響を与える因子の検討. 第 70 回日本めまい平衡医学会, 2011.11, 千葉.

- ・滝本泰光, 今井貴夫, 武田憲昭, 宇野敦彦, 西池季隆, 堀井 新, 北原 糺, 岡崎鈴代, 鎌倉武史, 肥塚 泉, 猪原秀典: 偏中心性回転を用いた耳石器機能の検討. 第70回日本めまい平衡医学会, 2011.11, 千葉.

## 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) メニエール病症例の約70%は、保存的治療や生活改善により1年以内にめまい発作の消失をみる。すなわち、80-87%のメニエール病では内科的治療によりめまい発作を抑制可能である。一方で、7-10年という長期間の観察では、めまいの改善率は80-90%、消失は20-60%とされ、一部の症例は難治性メニエール病と診断され外科治療の適応となる。難治性メニエール病の1例に対して、内リンパ嚢開放術を3回施行するもめまい制御が不良となり、最終的に前庭神経切断術を施行した。術後6ヶ月時点でめまいは完全に制御されており、日常生活でも平衡障害の自覚なく、現在のところ順調な経過である。2011年度版のメニエール病診療ガイドラインに従えば、保存的治療に抵抗する難治性メニエール病に対しては、中耳加圧治療、内リンパ嚢開放術などの外科治療が第一選択となるが、それらの外科治療でも治療不能な症例に対しては、最終的には選択的前庭機能遮断術が適応となる。

2) 耳硬化症と内リンパ水腫について、関連性があるのか、偶発的なものであるのかは、現在もなお議論の分かれるところである。本研究では、硬化病巣の程度と水腫の発生に因果関係があるかどうかについて定量的な評価を行い、あわせて硬化病巣の浸潤程度や部位と前庭症状との関連についても検討した。耳硬化病巣の蝸牛、前庭、半規管への浸潤は、耳硬化症患者における、内リンパ水腫や前庭症状発生の理由となると考えられた。耳硬化症は、メニエール症候群の一疾患であることを側頭骨病理学的に証明することができた。耳硬化症の症例では、これまで推察されていた以上に高率に内リンパ水腫の合併がある、内リンパ水腫を病態とする前庭症状の随伴があることを認識すべきである。

#### A. 研究目的

1) メニエール病の外科治療として、Portmann は 1928 年に内リンパ嚢開放術を開始した。内リンパ嚢手術後 1-2 年間の観察で、めまいの再発率は約 24%、8-10 年の長期観察でも 27-30%の成績で、本手術の施行後にもめまいの再発は少なからずある。最初の 3 年間の観察ではめまい発作は約 75%で消失、聴力も同様に 75%で安定。しかし、5 年間の観察ではめまいのコントロールは 50%に落ちるとされる。

外科治療の究極の手術として、前庭・半規管からの異常信号の遮断を目的に前庭神経切断術が施行される。最初の手術は、Krause が耳鳴に対して第 8 神経切断術を (1898 年) に行っている。Dandy は 1924 年より同手術を開始し、生涯で 587 例の手術を行ったとされる。1960 年代になると、House、Fisch らが選択的な前庭神経切断術を報告して再びこの手術がメニエール病に対する最終的な手術法として発展してきた。前庭神経に到達するアプローチ法により、経中頭蓋窩法、後迷路法、後 S 状静脈洞法に分類されている。

今回、難治性メニエール病の 1 例に対して、

内リンパ嚢手術を 3 回施行し、最終的に前庭神経切断術でめまい発作の制御が可能となった症例を経験したので報告する。

2) 耳硬化症と内リンパ水腫について、関連性があるのか、偶発的なものであるのかは、現在もなお議論の分かれるところである。耳硬化症に内リンパ水腫が発生する理由として、耳硬化症病巣の前庭水管への浸潤による狭窄、閉塞が、水腫発生の理由であるとする報告が散見される。一方、Liston らは、耳硬化症病巣のラセン靭帯への浸潤による、ラセン靭帯の hyalinization が理由であると推察した。現時点では一定の見解は得られておらず、側頭骨病理を用いて定量的に検討された報告は多くない。

House institute の検討では水腫合併例は 5%と報告されているが、パペララボの耳硬化症 183 temporal bone を見直したところ、程度の軽いものも含めると内リンパ水腫の合併例は 38%と、慢性中耳炎について 2 番目に高い合併頻度であった。本研究では、硬化病巣の程度と水腫の発生に因果関係があるかどうかについて定量的な評価を行った。

耳硬化症に前庭症状が合併する頻度は、臨

床報告では 20-30%と報告されている。側頭骨病理を加えた検討では 10-12%と報告されており、Saimらは前庭症状発生の理由は前庭神経の変性であると結論づけているが、前庭神経への病巣の浸潤程度や部位とは関係がなく、神経変性の理由は不明であった。本研究では、硬化病巣の浸潤程度や部位と前庭症状との関連についても検討した。

## B. 研究方法

1) 症例は 64 歳の女性で、右メニエール病の診断を受け保存的治療を受けていたが、右難聴、耳鳴を随伴する回転性めまい発作が頻発するようになり当科を紹介受診し、平成 13 年に右内リンパ嚢開放術を施行した。術後 6 年間めまいは良好に制御されていたが、平成 19 年になり再びめまい発作が出現、薬物治療でも制御不能となったため、同年 2 回目の右内リンパ嚢開放術を施行した。術後 3 年間めまい発作なく順調に経過していたが、平成 22 年になり再びめまい発作が出現し、同年 3 回目の右内リンパ嚢開放術を施行した。術後 1 年で再発したため、平成 23 年に中頭蓋窩法による右前庭神経切断術を施行した。

術前の CT 検査では、右中耳内には異常所見なく、内リンパ嚢開放術により内リンパ嚢、後頭蓋窩の硬膜部分に骨欠損が確認できた。ちなみに、過去 2 回の内リンパ嚢再手術時の内リンパ嚢周囲の所見としては、肉芽組織の増生はなく、内リンパ嚢を被覆するように骨新生が確認できたのみであった。純音聴力検査では右 80-90 dB の感音難聴、カロリック検査では右 CP、回転性めまい発作時には右向き水平性眼振が、緩解期には頭振後眼振としては左向き水平性眼振が観察された。

2) 対象は、米国ミネソタ大学が保有するヒト側頭骨標本の中で、耳硬化症 183 temporal bone のうち中耳炎などの二次性内リンパ水腫をきたす可能性のある疾患を除外した 132 temporal bone とした。内リンパ水腫の合併は 37.9%にみられ、軽度水腫が過半数を占めていた。前庭症状を伴う症例は、27.7%にみられた。

132 temporal bone のうち、水腫合併の有無、前庭症状合併の有無の各々 2 群に分類し、耳硬化症病巣の部位、サイズ、内耳骨内膜への浸潤の程度において差がないか検討した。水腫の程度は、3 つの論文の基準を用い、

mild, moderate, severe hydrops の 3 段階に分類した。蝸牛では、Reissner's membrane の膨隆の程度で分類し、90 度こえるものを severe hydrops とした。卵形嚢、球形嚢は membrane のアブミ骨底板への付着程度で分類した。内耳骨内膜への浸潤の程度は、蝸牛がみられる全スライドで骨内膜への病巣浸潤の長さの合計とし、浸潤面積は全スライド内での最大面積を計測した。さらに蝸牛軸中央がみえるスライドと前後 1 枚の計 3 枚のスライドを用いて、血管条、ラセン靭帯の面積を計測した。

## C. 研究結果

1) 平成 23 年 7 月 6 日、経中頭蓋窩法により右前庭神経切断術を施行した。側頭部に 4x5 cm 開頭の後、側頭葉を剥離・挙上して錐体骨上面を露出させ、顔面神経を膝神経節・迷路部より内耳道方向へ追いかけて内耳道を同定した。内耳道硬膜を切開すると、前方に顔面神経、Bill's bar をはさんで後方に前庭神経が存在していた。耳道底側で上前庭神経を切断した後、直下に存在する下前庭神経も続いて切断し、さらに内耳孔側に十分距離を取って中枢側でも前庭神経の切断を行った。

術後 6 ヶ月が経過した時点で、回転性めまい発作の出現はなく、前庭代償の進行により日常生活における平衡障害は自覚していない。純音聴力検査は、術前と同じレベルに保たれている。

2) 病巣の内耳骨内膜への浸潤部位では、前庭、蝸牛、三半規管、内リンパ管の全ての部位において、水腫有り群、前庭症状有り群において有意に浸潤症例が多いという結果が得られた。特に内リンパ管への浸潤を示す 4 例では、全例で水腫合併有り、前庭症状ありとの結果であった。骨内膜への浸潤程度、浸潤面積の両者ともに、水腫群の方が有意に高値という結果が得られた。また水腫の程度との関連も確認され、水腫の程度がひどいものほど浸潤程度、面積ともに高値という結果が得られた。

前庭症状との関連では、骨内膜への浸潤程度、面積両方とも前庭症状有り群の方が、有意に高値という結果が得られた。血管条、ラセン靭帯の面積計測の結果からは、全ての turn において水腫合併の有無による差は確認できなかった。

## D. 考察

1) 前庭神経切断術に関する当科の成績では、めまい発作の消失率は100%で、聴力の保存も高率(91.6%)、耳鳴については10点法で7以下に軽減した例を有効とすると78.6%の有効率を得ている。めまいの予防効果という点では前庭神経切断術が最も成績が良く、1回のみの手術でめまい発作が消失するよう患者が希望する場合や他の手術を行ったがめまいが再発するような症例に選択すべき手術法である。Dandyが行った初期の手術では聴力が犠牲になる以外に、顔面神経麻痺その他の合併症も少なからずあり、その後薬物療法にとって代わられた。現在でも、顔面神経麻痺、開頭に伴う髄液漏、髄膜炎などの危険性がある。

術後の注意点としては、一側の前庭機能廃絶により、術後自発性めまいが2-3日、誘発性めまいが約1週間続くとされる。すぐに歩行、階段の昇降もできるようになり、2-3週間で社会復帰は可能である。その後は前庭代償の進行により平衡障害はさらに軽快し、日常生活の上で特に支障となることはない。開頭を要すること、術後の前庭代償が不良となる可能性があり、65歳以上の高齢者では適応に慎重にならざるを得ない。

2) 本研究の結果から、硬化性病巣の蝸牛、前庭、半規管の骨内膜への浸潤が水腫発生の理由ではないかと推察した。Listonらは外リンパへの病巣由来のtoxinなどの移行から、コルチ器や蝸牛外側壁の障害がおり、内リンパの吸収障害がおこると推察しているが、我々の検討では、血管条、ラセン靭帯には変化を認めず、確証は得られなかった。

## E. 結論

1) 難治性メニエール病の1例に対して、内リンパ嚢開放術を3回施行するもめまい制御が不良となり、最終的に前庭神経切断術を施行した。術後6ヶ月時点でめまいは完全に制御されており、日常生活でも平衡障害の自覚なく、現在のところ順調な経過である。2011年度版のメニエール病診療ガイドラインに従えば、保存的治療に抵抗する難治性メニエール病に対しては、中耳加圧治療、内リンパ嚢開放術などの外科治療が第一選択となるが、それらの外科治療でも治療不能な症

例に対しては、最終的には選択的前庭機能遮断術が適応となる。

2) 耳硬化病巣の蝸牛、前庭、半規管への浸潤は、耳硬化症患者における、内リンパ水腫や前庭症状発生の理由となると考えられた。耳硬化症は、メニエール症候群の一疾患であることを側頭骨病理学的に証明することができた。耳硬化症の症例では、これまで推察されていた以上により高率に内リンパ水腫の合併がある、内リンパ水腫を病態とする前庭症状の随伴があることを認識すべきである。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- K Terao, S Cureoglu, et al.: Pathologic correlations of otologic symptoms in acute lymphocytic leukemia. *Am J Otolaryngol* HNS 32: 13-18, 2011.
- K Terao, S Cureoglu, et al.: Marrow-Middle ear connections: a potential cause of otogenic meningitis. *Otol Neurotol* 32: 77-80, 2011.
- K Terao, S Cureoglu, et al.: Cochlear changes in presbycusis with tinnitus. *Am J Otolaryngol* HNS 32: 215-220, 2011.
- 土井勝美: 私の処方箋: 良性発作性頭位めまい症. *JOHNS* 27: 1328-1330, 2011.
- 土井勝美: 反復するめまいへの対応: メニエール病. *ENTONI* 136: 1-7, 2011.
- 土井勝美: 突発性難聴とめまい. *Clinical Neuroscience* 中外医学社, 印刷中.
- 土井勝美: メニエール病の手術治療とその効果. 耳鼻咽喉科日常診療スーパーガイド: めまいを見分ける・治療する. 中山書店, 印刷中.
- 土井勝美: 急性感音難聴の最新治療戦略: メニエール病. *JOHNS* 東京医学社, 印刷中.
- 土井勝美: 今日の治療と看護: 神経・精神系: めまい. 南江堂, 印刷中.
- 土井勝美: 今日の治療と看護: 耳鼻咽喉科疾患: メニエール病, 南江堂, 印刷中.
- 土井勝美: 今日の治療と看護: 耳鼻咽喉科疾患: 動揺病. 南江堂, 印刷中.

### 2. 学会発表

・西村将彦, 柿木章伸, 他: Vasopressin投与によるラット血管条細胞間隙の経時的変化とVasopressin type 2 antagonist投与における効果. 第21回日本耳科学会, 2011. 11, 沖縄.

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

H. 健康危険情報について  
なし



#### 研究要旨

1 抗うつ薬であるミルナシプランの全身投与が前庭神経系に与える影響について検討した。ミルナシプラン高濃度腹腔内投与では、前庭眼反射に異常をきたさなかった。ミルナシプラン連日腹腔内投与後のリン酸化 CREB の免疫染色の結果、海馬台では陽性所見を認めたが、前庭神経核、前庭神経節での陽性所見は得られなかった。

2 薬剤の効果をスクリーニングする方法として、ゼブラフィッシュを用いてネオマイシンによる障害モデルを作成し、その有用性を検討した。作成した容量反応曲線からは、本モデルの障害程度は過去の報告と比べて同程度であることがわかった。

3 我々が独自で開発してきた眼球運動解析システムを用いて、眼振表記の振幅・頻度に関して模擬眼振を作成してクライテリアの検証を試みた。暫定クライテリアでは振幅7度の眼振は大打性であったが、模擬眼振では中打性という印象であった。また暫定クライテリアでは頻度3（打/秒）以上を頻打性としていたが、頻度が3（打/秒）より小さい眼振も頻打性に含まれるという印象であった。

#### A. 研究目的

- 1) 抗うつ薬の一つであるミルナシプランの全身投与が前庭神経系に与える影響について検討する。
- 2) 薬剤の効果をスクリーニングする方法として、ゼブラフィッシュを用いてネオマイシンによる障害モデルを作成し、その有用性を検討する。
- 3) 我々が独自で開発してきた眼球運動解析システムを用いて、眼振表記の振幅・頻度に関して模擬眼振を作成してクライテリアの検証を検討する。

#### B. 研究方法

- 1) ハートレイ系白色モルモットに対して、ミルナシプラン10 mg/羽を連日腹腔内投与し、投与前、後3日、5日で振子様回転検査を行った。回転検査は最大角速度60 degree/sec、周期10 secとして、3回連続で行った。VOR gainを測定して、ミルナシプランが前庭眼反射に与える影響を観察した。次いで、ミルナシプラン0.5、1.0、2.0 mg/羽の3濃度で30日間連日腹腔内投与を行い、投与終了時に脳を摘出、切片を作成して、海馬、前庭神経核、前庭神経節でのリン酸化 CREB の発現を免疫染色で検討した。
- 2) 生後5-7日目の野生型ゼブラフィッシュを用い、48穴プレートにゼブラフィッシュを

8-10匹入れ、ネオマイシンを50, 100, 200, 400  $\mu$ Mで1時間暴露した後、4%パラホルムアルデヒドにて固定、1次抗体としてParvalbumin抗体、2次抗体としてAlexa 488抗体にて染色し標本とした。神経小丘のS01、S02、O1、OC1の有毛細胞数を数え、コントロール群を100%としてネオマイシン暴露群の有毛細胞残存率を評価した。

3) ImageJを用いて、任意の振幅・頻度が設定可能な右向き水平性の模擬眼振動画を作成するマクロプログラムを作った。任意の振幅・頻度をもつ模擬眼振を作成して再生し、視覚的印象によって水平性眼振における暫定クライテリアの検証を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は、山口大学生命科学実験施設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) ミルナシプラン高濃度腹腔内投与では、前庭眼反射に異常をきたさなかった。3濃度のミルナシプラン連日腹腔内投与後のリン酸化 CREB の免疫染色の結果、海馬台では陽性所見を認めたが、前庭神経核、前庭神経節での陽性所見は得られなかった。

2) コントロール群と比べ、ネオマイシン 50, 100, 200, 400  $\mu$ Mのいずれの濃度でも有意に有毛細胞が障害されていた。これらを元に容量反応曲線を作成した。

3) 暫定クライテリアでは振幅7度の眼振は大打性であったが、模擬眼振では中打性という印象であった。また暫定クライテリアでは頻度3 (打/秒) 以上を頻打性としていたが、頻度が3 (打/秒) より小さい眼振も頻打性に含まれるという印象であった。

#### D. 考察

1) ミルナシプラン連日投与で前庭神経系での陽性所見が得られなかったのは、前庭神経系ではリン酸化 CREB の発現を促進しない可能性、免疫染色の感度の問題が考えられる。今後、ミルナシプラン以外の薬剤を選択、リン酸化 CREB mRNAの定量での検討などが必要であると考えられた。

2) 今回の実験によって、ネオマイシンによる有毛細胞障害モデルを作成した。この障害の程度は、過去の報告と比べて同程度であることから、今後はこのモデルを使って様々な治療候補薬物の組み合わせをスクリーニングする事で薬物カクテル療法の開発が可能になると考えられる。しかし、種差に関しては未だに不明な点もあるため、スクリーニングによって同定された薬物を、げっ歯類を用いた内耳直接投与モデル等を用いて確認する事で、臨床応用につなげられると考えられる。

3) 模擬眼振を作成して検証を行った結果、以前に設定した暫定クライテリアは、修正の必要があると考えられた。ただし視覚的な印象で判断した場合、基準の設定に主観性が混入する。客観性をもたせる方法としては、複数の医師 (施設) の評価をあわせて設定することなどが考えられた。定量的評価に基づく眼振表記では、主観性を排除した客観的な結果を記録できる。振幅・頻度のクライテリアが確立されると、いつ、誰が行っても客観的な記録を行うことができ、難治性めまいの診断や病状把握に大変有用となると考えられた。

#### E. 結論

1) 高濃度のミルナシプランは前庭眼反射に影響をきたさなかった。

ミルナシプラン連日腹腔内投与後でリン酸化 CREB の免疫染色の結果、海馬台では陽性

所見を認めたが、前庭神経核、前庭神経節での陽性所見は得られなかった。

2) ゼブラフィッシュのスクリーニングの有用性を示し、アミノグリコシドによる障害モデルを作成した。

3) 模擬眼振を作成して、眼振の振幅・頻度の程度の判定基準を検証することが可能となった。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 豊田英樹, 下郡博明, 菅原一真, 吉田周平, 山下裕司: AMPA による末梢前庭障害に対する FGLM+SSSR の効果. 頭頸部自律神経 25: 20-21, 2011.
- 吉田周平, 菅原一真, 豊田英樹, 金川英寿, 下郡博明, 山下裕司: SSSR, FGLM-NH2 による有毛細胞保護効果について. 頭頸部自律神経 25: 22-23, 2011.
- Nakamoto T, Mikuriya T, Sugahara K, Hirose Y, Hashimoto T, Shimogori H, Takii R, Nakai A, Yamashita H.: Geranylgeranylacetone suppresses noise-induced expression of proinflammatory cytokines in the cochlea. *Auris Nasus Larynx*. 2011 Jul 25. [in print]
- Toyota H, Shimogori H, Sugahara K, Yamashita H.: Topical application of substance P facilitates vestibular functional recovery induced by AMPA in the guinea pig. *The Bulletin of Yamaguchi Medical School*. 2011 Dec. [in print]

##### 2. 学会発表

- 山下裕司: めまい・難聴における最近の知見. 日本耳鼻咽喉科学会山梨県地方部会定期総会ならびに研修会, 2011.5, 甲府.
- 山下裕司: 病態に基づいた感音難聴の鑑別診断. 第 112 回 日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会, 2011.5, 京都.
- 橋本 誠, 池田卓生, 竹本洋介, 菅原一真, 藤井博則, 下郡博明, 山下裕司: video-oculography(VOG)に眼振の定量的解析と, 振幅・頻度のクライテリアの検証. 第 112 回 日本耳鼻咽喉科学会総会・

- 学術講演会, 2011.5, 京都.
- 金川英寿, 菅原一真, 豊田英樹, 御厨剛史, 竹野研二, 下郡博明, 山下裕司: 音響障害に対するサブスタンス P の効果. 第 112 回 日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会, 2011.5, 京都.
  - 吉田周平, 菅原一真, 金川英寿, 豊田英樹, 御厨剛史, 下郡博明, 山下裕司: IGF-1(SSSR)の有毛細胞保護効果. 第 112 回 日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会, 2011.5, 京都.
  - 豊田英樹, 下郡博明, 菅原一真, 吉田周平, 山下裕司: 急性末梢前庭障害に対する FGLM+SSSR の有効性. 第 112 回 日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会, 2011.5, 京都.
  - 山下裕司: 酸化ストレスによる内耳障害に対する治療戦略. 第 11 回 日本抗加齢医学会総会, 2011.5, 京都.
  - 菅原一真, 御厨剛史, 津田潤子, 山下裕司: 糖尿病モデルマウスにおける加齢と聴覚について. 第 11 回 日本抗加齢医学会総会, 2011.5, 京都.
  - 橋本 誠, 池田卓生, 藤井博則, 菅原一真, 竹本洋介, 山下裕司: FileMaker と連動した VOG システム. Video カメラによる眼運動記録解析に関するワークショップ, 2011.5, 東京.
  - 山下裕司: めまい診療のコツー脳血管障害によるめまいの鑑別ー. 2011.6, 山口市.
  - 菅原一真, 下郡博明, 橋本 誠, 御厨剛史, 山本陽平, 山下裕司: 突発性難聴難治例に対するエダラボン鼓室内投与併用療法. 第 73 回 耳鼻咽喉科臨床学会, 2011.6, 松本市.
  - 菅原一真, 津田潤子, 御厨剛史, 下郡博明, 山下裕司: 糖尿病モデルマウスの聴覚と加齢による変化. 第 5 回 聴覚アンチエイジング研究会, 2011.7, 東京.
  - 橋本 誠, 池田卓生, 竹本洋介, 菅原一真, 下郡博明, 山下裕司: FileMaker と連動した video-oculography(VOG)の試み. 第 27 回 耳鼻咽喉科情報処理研究会, 2011.7, 東京.
  - 山下裕司: めまい診断のコツ. 府中地区医師会学術講演会, 2011.8, 府中市.
  - 吉田周平, 豊田英樹, 下郡博明, 金川英寿, 菅原一真, 山下裕司: AMPA を用いた前庭障害モデル作成の試み. 第 29 回 頭頸部自律神経研究会, 2011.8, 大阪.
  - 金川英寿, 菅原一真, 豊田英樹, 御厨剛史, 下郡博明, 山下裕司: 音響障害に対するサブスタンス P の作用. 第 29 回 頭頸部自律神経研究会, 2011.8, 大阪.
  - 菅原一真, 橋本 誠, 御厨剛史, 下郡博明, 山下裕司: 突発性難聴に対するエダラボン鼓室内投与併用療法ー第 2 報ー. 第 56 回 日本聴覚医学会総会・学術講演会, 2011.10, 福岡.
  - 御厨剛史, 菅原一真, 金川英寿, 津田潤子, 下郡博明, 山下裕司: 熱ショック応答と蝸牛内凝集体形成についての関連についての検討. 第 56 回 日本聴覚医学会総会・学術講演会, 2011.10, 福岡.
  - 金川英寿, 菅原一真, 御厨剛史, 橋本 誠, 下郡博明, 山下裕司: 音響障害に対するサブスタンス P の機序. 第 56 回 日本聴覚医学会総会・学術講演会, 2011.10, 福岡.
  - 津田潤子, 菅原一真, 金川英寿, 御厨剛史, 山下裕司: 糖尿病モデルマウス TSOD における加齢と聴覚について. 第 56 回 日本聴覚医学会総会・学術講演会, 2011.10, 福岡.
  - 藤井博則, 橋本 誠, 広瀬敬信, 山下裕司: 上眼瞼向き眼振を認めた視神経脊髄炎の 1 例. 第 37 回 日本耳鼻咽喉科学会中国地方部会連合講演会, 2011.11, 米子.
  - 藤井博則, 橋本 誠, 菅原一真, 下郡博明, 山下裕司: 上眼瞼向き眼振を呈した視神経脊髄炎の 1 例. 第 70 回 日本めまい平衡医学会総会 学術講演会, 2011.11, 千葉市.
  - 広瀬敬信, 菅原一真, 山下裕司: ゼブラフィッシュ側線を用いた有毛細胞障害に関する抗癌剤のスクリーニング. 第 70 回 日本めまい平衡医学会総会 学術講演会, 2011.11, 千葉市.
  - 下郡博明, 豊田英樹, 吉田周平, 菅原一真, 橋本 誠, 山下裕司: 抗うつ薬全身投与が前庭神経系に与える影響. 第 70 回 日本めまい平衡医学会総会 学術講演会, 2011.11, 千葉市.
  - 豊田英樹, 下郡博明, 菅原一真, 吉田周平, 山下裕司: 前庭障害に対する

FGLM+SSSR 混合液投与の有効性. 第 70 回 日本めまい平衡医学会総会 学術講演会, 2011.11, 千葉市.

- ・ 橋本 誠, 池田卓生, 藤井博則, 菅原一真, 下郡博明, 山下裕司: video-oculography(VOG)での定量的解析による,眼振の振幅・頻度クライテリアの検証の試み. 第 70 回 日本めまい平衡医学会総会 学術講演会, 2011.11, 千葉市.
- ・ 吉田周平, 菅原一真, 豊田英樹, 御厨剛史, 金川英寿, 下郡博明, 山下裕司: SSSR (IGF-1) の内耳有毛細胞に対する保護効果と機序. 第 21 回 日本耳科学会総会・学術講演会, 2011.11, 沖縄.
- ・ 金川英寿, 菅原一真, 豊田英樹, 御厨剛史, 竹野研二, 下郡博明, 山下裕司: 音響障害に対するサブスタンス P の作用. 第 21 回 日本耳科学会総会・学術講演会, 2011.11, 沖縄.
- ・ 広瀬敬信, 菅原一真, 山下裕司: ゼブラフッシュ側線を用いた有毛細胞障害に関する抗癌剤のスクリーニング. 第 21 回 日本耳科学会総会・学術講演会, 2011.11, 沖縄.
- ・ 豊田英樹, 下郡博明, 菅原一真, 吉田周平, 金川英寿, 山下裕司: 末梢前庭障害に対する FGLM+SSSR 混合液一側内耳投与に有効性. 第 21 回 日本耳科学会総

会・学術講演会, 2011.11, 沖縄.

- ・ 山下裕司: めまい・難聴における最近の知見. 日本耳鼻咽喉科学会 福井県地方部会学術講演会, 2011.12, 福井市.
- ・ Kazuma Sugahara, Junko Tsuda, Hiroshi Yamashita: Age related hearing loss in animal model of diabetes with obesity. 11th Japan-Taiwan Conference on Otolaryngology-Head and Neck Surgery, 2011.12, 神戸.

#### 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

#### H. 健康危険情報について

なし