

家に戻ったシングルマザー)で、心労がたまって発症する。発症初期の低音障害は自然治癒力で軽快するが、すぐに再発する。このエピソードを反復し、短期間で難聴が固定し、さらに高音障害、全音域障害と進行する。確率では、全音域障害が半数に達すると、両側障害の割合が増加し始める。同じ聴力レベルでも、罹病長期ほど治療に抵抗し、罹病と共に急速に自然治癒力が低下すると言える。

昨年度、メニエール病の病態仮説を報告した。ストレスが情動中枢を介し、標的臓器の内耳に一種の **poison** として作用し、内耳の恒常性が阻害される。この結果、内リンパ代謝が障害され、内リンパ水腫が生まれ、回転性めまいと耳症状が発現する。発症初期は自然治癒力で回復するが、ストレス環境の継続で **poison** 作用が続き、恒常性の低下で些細なストレスでもさらに恒常性を低下させ、回復しにくく進行しやすい状況が作られる。ストレス対策は **poison** 作用を弱め、有酸素運動は自然治癒力を強めるため有効、と推測される。

#### [結論]

1. メニエール病患者 896 名をマスとして観察すると、全音域障害 (40dB $\leq$ 全音域) の割合は罹病期間の対数にはほぼ比例して増加した。発症 3 ヶ月以内で 10%未満が、6 ヶ月-1 年で 25%、2-8 年で 50%、16 年を超えると 80%であった。罹病 8 年を超えると、両側障害の割合が増加した。
2. ストレス対策と有酸素運動で、めまいは早期に軽快、消失し、耳閉塞感や耳鳴は減弱・消失した。聴力の成績は不良で、発症初期の低音障害の段階を逸すると、難聴の改善、治癒の確率は著しく低下した。
3. 男性は大多数が職場関連の、女性は家庭内不和や家庭・家族関連の、それぞれ心労で発症していた。生活環境に根ざすため解消しにくく、患者の特異な行動特性 (我慢強く、熱中しやすい) と相まって、病気を進行させると思われる。
4. 難聴進行の規則性、ストレス対策と有酸素運動のめまいと難聴に対する効果の違いから、心労が内耳に **poison** 作用を及ぼし、内耳恒常性の低下を生み、症状を発現させると推測された。一旦発症すると、ストレスに脆弱となり、ささいなストレスが恒常性をより低下させ、進行しやすいと理解される。
5. めまいは大多数例で有酸素運動により短期で消失することから、メニエール病難治の症状とは言えない。

#### [参考文献]

1. Onuki J, Takahashi M, Odagiri K, Wada R, Sato R: Comparative study of the daily lifestyle of patients with Meniere's disease and controls. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 114: 927-933, 2005
2. 高橋正紘: 有酸素運動で著明に改善したメニエール病進行例の一例. *Otol Jpn* 18: 126-130, 2008
3. 高橋正紘: 生活指導と有酸素運動によるメニエール病の治療. *Otol Jpn* 20: 727-734, 2010
4. 高橋正紘: 有酸素運動導入で一新されたメニエール病の治療と概念. *Equilibrium Res* 70: 204-211, 2011
5. 高橋正紘: ストレス対策と有酸素運動によるメニエール病治療. *耳喉頭頸* 84: 997-1006, 2012
6. 高橋正紘: メニエール病有酸素運動治療の最新治療成績. 前庭機能異常に関する調査研究・平成 24 年度総括・分担研究報告書 pp116-122, 2013
7. 高橋正紘: メニエール病の難聴進行が示唆する内耳病態. 前庭機能異常に関する調査研究・平成 24 年度総括・分担研究報告書 pp123-129, 2013

表 1. メニエール 896 名の罹病期間と聴力分布の割合

罹病期間	例数	聴力正常	低音障害	高音障害	全音域障害
≤1.5 ヶ月	32	2(3.1%)	19名(59.4%)	9(28.1%)	2(6.2%)
1.5-3 ヶ月	51	9(17.6%)	23(45.1%)	13(25.5%)	6(11.8%)
3-6 ヶ月	47	4(8.5%)	22(46.8%)	12(25.5%)	9(19.1%)
6 ヶ月-1年	98	6(6.1%)	34(34.7%)	33(33.7%)	25(25.5%)
1-2年	115	7(6.1%)	27(23.5%)	34(29.6%)	47(40.9%)
2-4年	139	8(5.7%)	32(23.0%)	28(20.1%)	71(51.1%)
4-8年	159	1(0.6%)	25(15.7%)	51(32.1%)	82(51.6%)
8-16年	134	4(3.0%)	15(11.2%)	33(24.6%)	82(61.2%)
16-32年	101	1(1.0%)	6(5.9%)	15(14.8%)	79(78.2%)
32年<	20	0(0%)	0(0%)	2(10%)	18(90%)
合計	896	42(4.7%)	203(22.7%)	230(25.7%)	421(47.0%)

表 2. メニエール病 896 名の罹病期間と患側の割合

罹病期間	例数	患側左	患側右	両側
≤1.5 ヶ月	33	17(51.5%)	13(39.4%)	3(9.1%)
1.5-3 ヶ月	50	28(56.0%)	16(32.0%)	6(12.0%)
3-6 ヶ月	47	17(36.2%)	25(53.2%)	5(10.6%)
6 ヶ月-1年	98	52(53.1%)	34(34.7%)	12(12.2%)
1-2年	115	53(46.1%)	48(41.7%)	14(12.2%)
2-4年	139	74(53.2%)	45(32.4%)	20(14.4%)
4-8年	159	81(50.9%)	55(34.6%)	23(14.5%)
8-16年	133	59(44.4%)	45(33.8%)	29(21.8%)
16-32年	102	43(42.1%)	21(20.6%)	38(37.2%)
32年<	20	4(20%)	7(35%)	9(45%)
合計	896	428(47.8%)	309(34.5%)	159(17.7%)

表 3. めまいの治療成績

観察期間	対象	消失	ほとんどない	消失+ほとんどない	時にある	しばしばある
3 ヶ月 ≤ <6 ヶ月	男性 36 名	31(86.1%)	2(5.5%)	33(91.7%)	2(5.5%)	1(2.8%)
	女性 42 名	35(83.3%)	3(7.1%)	38(90.5%)	2(4.8%)	2(4.8%)
	合計 78 名	66(84.6%)	5(6.4%)	71(91.0%)	4(5.1%)	3(3.8%)
6 ヶ月 ≤	男性 94 名	73(77.7%)	15(16.0%)	88(93.6%)	4(4.2%)	2(2.1%)
	女性 101 名	81(80.2%)	11(10.9%)	92(91.1%)	6(5.9%)	3(3.0%)
	合計 195 名	154(79.0%)	26(13.3%)	180(92.3%)	10(5.1%)	5(2.6%)

表4. 6ヶ月以上観察309耳の初診時聴力型別の予後

対象	改善	不変	悪化
低音障害 87 耳	37(42.5%)	32(36.8%)	18(20.7%)
高音障害 91 耳	19(20.9%)	52(57.1%)	20(22.0%)
全音域障害 131 耳	34(26.0%)	97(74.0%)	0
合計 309 耳	90(29.2%)	181(58.5%)	38(12.3%)

表5. 6ヶ月以上観察例の初診と最終診察時の聴力型分布（両側障害は重症側）

	対象	聴力正常	低音障害	高音障害	全音域障害
初診時	249名	7(2.8%)	63(25.3%)	65(26.1%)	114(45.8%)
最終診察時	249名	38(15.3%)	35(14.0%)	70(28.1%)	106(42.6%)

表6. メニエール病896名の年齢

	対象	<10	10代	20代	30代	40代	50代	60代	70代	80代	90代
男性	367名	0	4	31	67	84	87	63	26	5	0
女性	529名	0	4	42	91	109	87	122	67	6	1
計	896名	0	8	73	158	193	174	185	93	11	1

表7. メニエール病896名の発症年齢

	対象	<10	10代	20代	30代	40代	50代	60代	70代	80代	90代
男性	367名	3	18	48	104	74	78	32	10	0	0
女性	529名	1	26	70	112	124	93	75	27	1	0
計	896名	4	44	118	216	198	171	107	37	1	0

表8. メニエール病896名の男女別の患者職業

職業	患者数	男性	女性
主婦（パートを含む）	202(22.5%)	0	202
事務職	159(17.7%)	72	87
無職	131(14.6%)	50	81
現場作業	97(10.8%)	68	29
販売業・接客業	54(6.0%)	18	36
営業職	35(3.9%)	27	8
教師	34(3.8%)	16	18
システムエンジニア・プログラマー	24(2.7%)	20	4
管理職	23(2.6%)	23	0
自営業	23(2.6%)	12	11
技術専門職	18(2.0%)	15	3

コンサルタント	17(1.9%)	13	4
学生	16(1.8%)	7	9
研究職	12(1.3%)	9	3
看護師	11(1.2%)	0	11
福祉関連職	9(1.0%)	0	9
警察官・自衛隊員	5(0.5%)	1	4
税理士・会計士	3(0.3%)	3	0
弁護士	2(0.2%)	2	0

表 9. メニエール病 896 名の男女別の発症誘因（複数選択あり）

男性 367 名		女性 529 名	
多忙	182(49.6%)	家庭内不和・トラブル	167(31.6%)
職場ストレス	171(46.6%)	多忙	133(25.1%)
不明	38(10.3%)	職場ストレス	105(19.8%)
家庭内不和・トラブル	24(6.5%)	介護・看病	65(12.3%)
睡眠不足・不良	20(5.4%)	家族の病気・死	64(12.1%)
家族の病気・死	10(2.7%)	子供（親）と同居	58(11.0%)
子供（親）と同居	8(2.2%)	不明	39(7.4%)
介護	5(1.4%)	子供受験	20(3.8%)
充実感の喪失	5(1.4%)	睡眠不足・不良	19(3.6%)
隣人トラブル	3	育児	18(3.4%)
経済不安	2	経済不安	17(3.2%)
子供家庭のトラブル	2	引越し	12(2.3%)
患者自身の病気	1	孫の世話	11(2.1%)
引越し	1	友人トラブル	11(2.1%)
友人トラブル	1	隣人トラブル	10(1.9%)
子供の受験	1	充実感の喪失	6(1.1%)
育児	1	患者自身の病気	4
孫の世話	0	子供家庭のトラブル	2

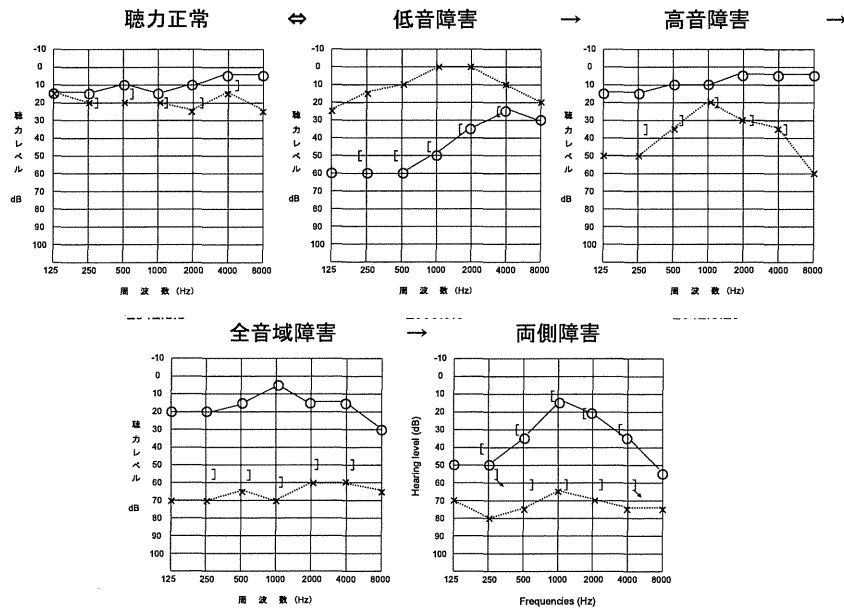


図1. メニエール病の難聴進行パターン

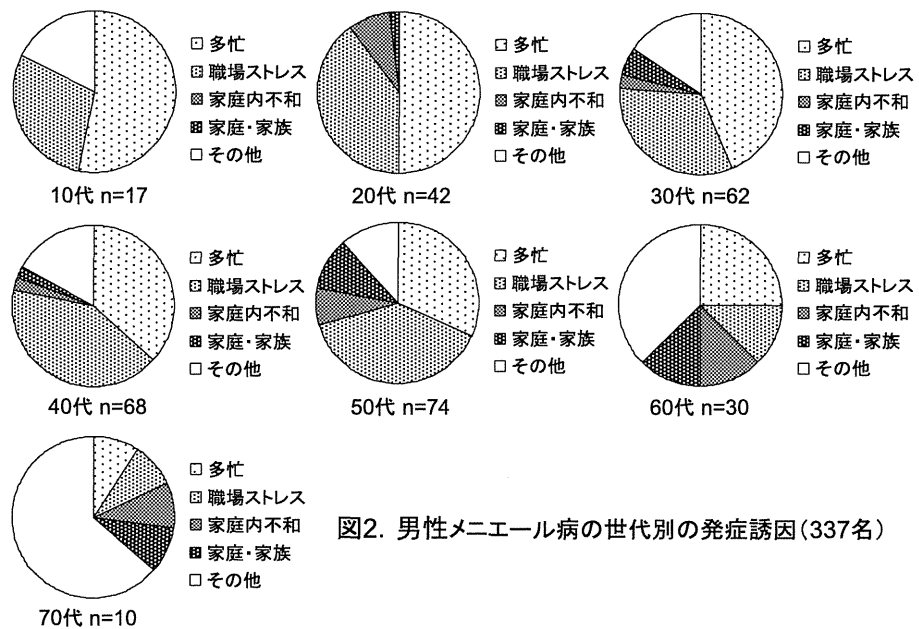


図2. 男性メニエール病の世代別の発症誘因(337名)

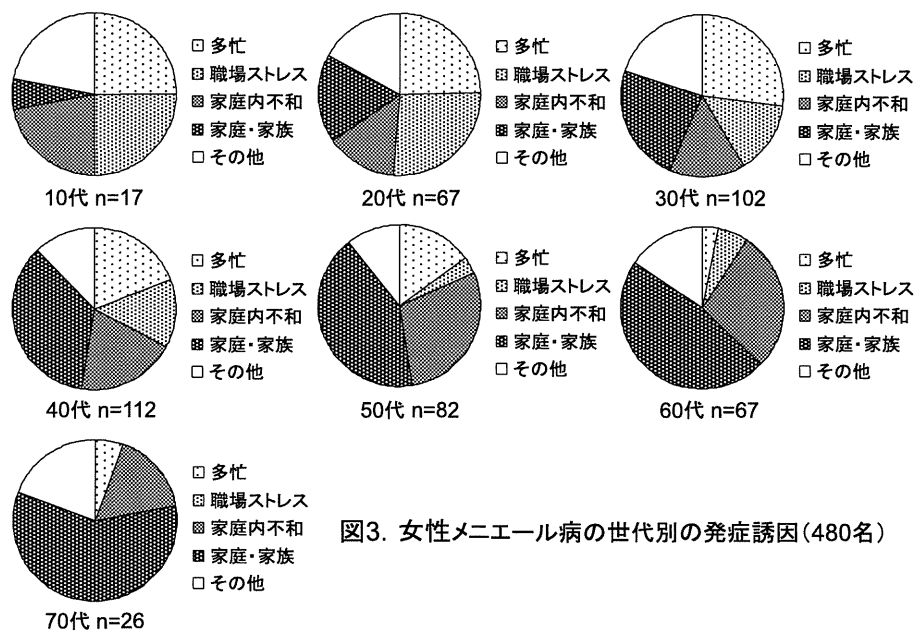


図3. 女性メニエール病の世代別の発症誘因(480名)

## 26. メニエール病重症度判定についての提案

渡辺行雄(大沢野老人保健施設かがやき、富山大学付属病院臨床指導医)、将積日出夫、阿部秀晴(富山大)、十二町真樹子(富山市)

[はじめに]

メニエール病の難病性は、1)めまい発作の反復、2)難聴の進行、3)耳鳴、耳閉塞感など聴覚症状の持続、4)メニエール病の両側化、などの諸点が挙げられるが、このうち、もっとも社会生活上の影響が大きいのが、めまい発作の反復である。

本邦における組織的に設定されたメニエール病の重症度分類は、1)日本平衡神経科学会診断基準化委員会(1987):めまいの診断基準化のために資料:メニエール病(表1)<sup>1)</sup>、2)厚生省特定疾患前庭機能異常調査研究分科会:メニエール病の重症度分類(1999)(表2)<sup>2)</sup>、また米国では3)AAO-HNS(1995)記載の分類(表3)<sup>3)</sup>が公表されている。

これらを要約すると、本邦基準の1)、2)においては、病変の進行度と可逆性・不可逆性の評価、2)では生活不自由度、治療に対する反応を中心に重症度が分類されている。これらの判定は、重症度の評価基準が点数化されてはいるが、めまい、難聴とも客観的に計数化されたものではない。

この点 3)AAO-HNS(1995)改による米国の基準では、難聴、めまいに関して一定の計数化がされている。しかし、めまいに関する評価は治療前後のめまい発作回数により治療効果を判定するめまい係数によるもので、診療時点でのめまい発作そのものの重症度を評価するものではない。また、生活の不自由度についての評価は、本邦2)と基本的に大きく変わるものではない。

これらの点を勘案して、メニエール病の社会生活への影響にもっとも関係するめまい発作頻度による重症度分類方法を考案した。また、めまいの治療効果評価に多用されているめまい係数の問題点についても概説する。

[方法]

1974年に発足した厚生省(当時)特定疾患メニエール病調査研究班による初回の疫学症状調査(1975-77)によるメニエール病確実例520例の調査結果<sup>4)</sup>から、メニエール病の発作頻度によりメニエール病の重症度を検討した。この調査はかなり以前のものであるが、本邦での最も多数例の調査結果であり、また、後続の他の調査でも同様の結果が得られていることから、この結果を基礎に検討した。

[結果と考察]

### 1)めまい発作頻度から見たメニエール病重症度評価

表4に対象例のめまい発作頻度を示した。月4回以上、つまり週1回以上の症例とそれ未満・月1回以上の症例がほぼ同数で両者の合計は全体の約半数に近い45%であった。これらの症例は、高度のめまい発作予防対策が必要な症例群と考えられた。一方、2ヶ月に1回以下のめまい発作頻度の症例は約30%で、これらは、現在、発作予防の治療下であれば現治療の継続と発作時治療が主体と考えられた。

これらを総合的に評価すると表のA(発作週1回以上)を極めて重症、B(月1-3回)を重症、C(1/2月~1/4月)を中等症、それより低頻度(D)を軽症と分類することを提案したい。

ところで、私達は生活指導、薬物治療に抵抗してめまい発作が予防できない症例を重症メニエール病として、2002年以降MeniettR、鼓膜マッサージ機による中耳加圧治療を行い、高い治療効果があることを報告してきた。この治療選択には特別なめまい発作頻度の基準を設けたわけではないが、この治療がどの程度のめまい頻度で選択されたかを表5に示した。表4の分類とは区分が異なるか、中耳加圧治療が適応された全例が表4の極めて重症、重症と分類される症例であった点は、前述の重症区分が妥当なものであることを示す

ものと考えられた。

## 2) メニエール病めまい発作に対するめまい係数の問題点

現在、メニエール病のめまい発作に対する治療効果はめまい係数(100×治療後発作回数/治療前発作回数)での評価が一般的である。表6に中耳加圧治療後のめまい発作頻度変化の例を示した。症例A、Bではこのめまい係数による評価で問題ないが、症例C-Dでは治療開始後1-3ヶ月の発作数が多数で、その後、発作が終息している。このような例では、めまい係数はかなり長期に亘り高値を示し、評価は有効またはやや有効の範囲に留まることになる。実際には、ある時点で発作は終息しており、「著効」と評価するのが適当と考えられる。この点から、めまい係数とともに発作の終息を評価し、終息が一定期間以上持続している状態からの評価を併用するのが適当と考えられる。この場合、発作再発が起きた場合は、再発例として無発作期間と再発後の経過を勘案した別評価を追加することで発作終息の長期評価を行うことが適当と考えられた。

### [結論]

従来、不明確であったメニエール病(遅発性内リンパ水腫)のめまい重症度について、発作頻度から計数的に評価する一方法を提案した。また、メニエール病の治療効果判定に従来からのめまい係数に加えて、発作終息を取り入れた評価法の導入を検討した。両方法とも、今後、実際の症例につき妥当性を検討する必要がある。

### [参考文献]

1. 日本平衡神経科学会：1987年めまいの診断基準化委員会答申書. *Equilibrium Res.* 47, 245-273, 1988
2. 八木聰明, 伊藤壽一, 久保 武, 他. メニエール病の重症度分類について. *Equilibrium Res* 58 : 61—64, 1999.
3. Monsell EM, Balkany TA, Gates GA, et al. Committee on Hearing and Equilibrium guidelines for the diagnosis and evaluation of therapy in Meniere's disease. American Academy of Otolaryngology—Head Neck Foundation, Inc. *Otolaryngol Head Neck Surg*
4. 水越鉄理, 猪 初男, 石川和光, 他. 厚生省特定疾患メニエール病調査研究班によるメニエール病の疫学調査と症状調査. *耳鼻臨床* 70 : 1669—1686, 1977.



表1 診断基準化のための資料メニエール病(1987)<sup>1)</sup>

病期の判定

I期：聴覚障害，前庭・半規管反応低下とも可逆性である。

II期：聴覚障害，前庭・半規管反応低下の何れかあるいは両者が不可逆性であるが，変動を認める。

III期：聴覚障害，前庭・半規管反応低下が固定している。

IV期：聴覚障害，前庭・半規管反応低下の何れかあるいは両者が喪失している。

表2 メニエール病重症度判定：厚生省特定疾患前庭機能異常調査研究分科会（1999）<sup>2)</sup>

1. 重症度分類の基準となる項目と評価

A. 病態の進行度（聴力検査を加味した評価）

0点：正常 1点：可逆的（低音部に限局した難聴） 2点：不可逆的（高音部の不可逆性難聴） 3点：高度進行（中等度以上の不可逆性難聴）

B. 自覚的苦痛度（主観的評価：めまい、耳閉感、耳鳴、難聴）

0点：正常 1点：自覚症状が時に苦痛 2点：自覚症状がしばしば苦痛

3点：自覚症状が常に苦痛

C. 日常活動の制限（社会的適応，平衡障害）

0点：正常 1点：日常活動が時に制限される（可逆性平衡障害）

2点：日常活動がしばしば制限される（不可逆性軽度平衡障害）

3点：日常活動が常に制限される（不可逆性高度平衡障害）

2. 総合的重症度

Stage 1：準正常（無症状で正常と区別できない）

病態：0点，自覚的苦痛度：0点，日常活動の制限：0点

Stage 2：可逆期（病態は可逆的である）

病態：1点，自覚的苦痛度：0-1点，日常活動の制限を問わない

Stage 3：不可逆期（病態は不可逆的であるが進行していない）

病態：2点，自覚的苦痛度：（1-2点，日常活動の制限0.1点）

Stage 4：進行期（不可逆病変は進行し，自覚症状の苦痛や日常活動の制限がある）

病態：3点，自覚的苦痛度：（2-3点，日常活動の制限2-3点）

Stage 5：後遺症期（不可逆病変は高度に進行し，後遺症がある）

病態：3点，自覚的苦痛度：3点，日常活動の制限を問わない

3. 重症度分類の治療への応用

Stage 1：生活指導のみで与薬を必要としない時期

Stage 2：生活指導と与薬を必要とする，完治可能な最も重要な時期

Stage 3：初期治療が不成功に終わり，不可逆病変を伴う対症療法の時期

Stage 4：進行し，保存的治療に抵抗し外科的治療が考慮される時期

Stage 5：高度に進行し，病態は活動的ではないが後遺症が明らかな時期

表3 AAO-HNS(1995)(改)による重症度分類<sup>3)</sup>

表3-1 AAO-HNS(1995) 聴力による重症度分類

Stage 1 :  $\leq 25$  Stage 2 : 26~40 Stage 3 : 41~70 Stage 4 :  $> 70$

[0. 5, 1, 2, 3 kHz の平均聴力 (dBHL) , 治療前6カ月の最悪時と治療後18.24カ月の評価]

表3-2

AAO-HNS (1995) によるめまい評価(治療効果判定)

Numerical value =  $100 \times$  治療後18.24カ月平均めまい発作回数 / 治療前6カ月の平均めまい発作回数)

<Class>

A : (complete control) 0(著効) B : 1 to 40(有効)

C : 41 to 80(やや有効) D : 81 to 120(無効)

E :  $> 120$ (悪化)

F : Secondary treatment initiated due to disability from vertigo

表3-3 Functional level scale(非発作期自覚的苦痛度:生活への影響)

Regarding my current state of overall function, not just during attacks (check the ONE that best applies):

1. My dizziness has no effect on my activities at all.
2. When I am dizzy I have to stop what I am doing for a while, but it soon passes and I can resume activities. I continue to work, drive, and engage in any activity I choose without restriction. I have not changed any plans or activities to accommodate my dizziness.
3. When I am dizzy I have to stop what I am doing for a while, but it does pass and I can resume activities. I continue to work, drive, and engage in most activities I choose, but I have had to change some plans and make some allowance for my dizziness.
4. I am able to work, drive, travel, take care of a family, or engage in most essential activities, but I must exert a great deal of effort to do so. I must constantly make adjustments in my activities and budget my energies. I am barely making it.
5. I am unable to work, drive, or take care of a family. I am unable to do most of the active things that I used to. Even essential activities must be limited. I am disabled.
6. I have been disabled for 1 year or longer and/or I receive compensation (money) because of my dizziness or balance problem

表4 めまい発作頻度(502例:520例中無記載を除く)

A. $\geq 4$ /月(>週1)	114	22.7%
B. 1-3 /月	112	22.3%
		226 45.0%
C $\leq 1/2$ 月	27	5.4%
$\leq 1/4$ 月	35	7.0%
D $\leq 1/6$ 月	33	6.6%
$\leq 1/年$	63	12.6%
		158 31.6%

(不明、一定せずを除く)

表5 中耳加圧治療症例のめまい頻度

月平均発作回数

8 $\leq$	19例
4-7	4例
1-3	13例

表6 中耳加圧治療の治療後発作頻度

治療前発作/M	治療後めまい発作数							
	1	2	3	4	5	6	7	8M
A: 1.3	1	0	0	0	0	0	0	0
B: 2	0	0	0	0	0	1	0	0
C: 12	4	1	4	1	3	3	1	0 0 持続→
D: 12.5	5	5	8	2	1	0	0 0 0 0 持続→	
E: 13	4	2	0	0	0	0	0 持続→	
F: 25	25	25	0	1	0	0	0 0 持続→	

## 27. ヒト iPS 細胞を用いた前庭障害治療

田浦晶子、坂本達則、大西弘恵、中川隆之、伊藤壽一（京都大学）

### [はじめに]

哺乳類の前庭神経節細胞は加齢とともに減少し、前庭神経炎などで障害されると変性することが知られている。前庭代償により、ある程度の平衡障害は改善するとされているが、完全な再生は困難とされている。それ故、前庭障害治療として本研究では、新規治療法を確立するために、ヒト iPS (induced pluripotent stem cell) 細胞を用いて前庭神経節細胞の再生を試みた。ヒト iPS細胞を神経幹細胞に分化させたhNSC (Neural stem cell) を前庭組織と共培養もしくは組織内へ注入し、神経細胞への分化について形態学および生理学的に検討した。

### [対象と方法]

1. ヒトiPS細胞:京都大学iPS研究所(堀田秋津先生)から御供与頂いたGFP陽性の201B7を用いた。Liらの方法を参考にして、まずヒトiPS細胞を未分化な状態から神経系の幹細胞 (hNSC)に分化誘導させた。
2. 内耳組織としては、生後2日齢のマウスの卵形嚢を採取し、hNSCと共培養した。また前庭組織にhNSCを注入して1週間培養した。1週間後、組織内のGFP陽性細胞についてはextracellular recordingにて、組織外GFP陽性細胞についてはwhole cell recording電気生理学的機能を計測した。また、Myo7AおよびTuj1やNaV抗体にて免疫組織染色を行い、組織学的に評価した。

### [結果]

卵形嚢組織との共培養では組織とhNSCは離れて存在し、組織内でのhNSCは殆ど観察出来なかった。一方、前庭組織内にhNSCを注入し培養した組織では、アクソン様突起を持つGFP陽性細胞を認め、有毛細胞とのシナプス様接触も認めた。また組織内のGFP陽性細胞について細胞外記録を行ったところ、自発発火を認めた。組織外のGFP陽性細胞について、ホールセル記録を行ったところ、電位依存性の外向きカリウム電流を認めたが、内向きナトリウム電流は認めなかった。

### [考察]

実験結果より、前庭組織に注入したhNSCが1週間の培養により、電気生理学的に機能を有する神経細胞へと分化誘導出来た可能性が考えられる。また前庭組織外に存在するGFP陽性細胞では、電気生理学的に未成熟な神経細胞もしくはグリア細胞に分化している可能性が示唆された。前庭組織に神経細胞分化誘導因子が含まれている可能性が高く、今後更なる詳細な検討が必要であると思われる。

### [結論]

哺乳類前庭組織内で、ヒトiPS細胞からのhNSCが神経細胞に分化誘導することは可能であり、有毛細胞とシナプス形成することも可能であると考えられた。

### [参考文献]

Li W, Sun W, Zhang Y et al. Rapid induction and long-term self-renewal of primitive neural precursors from human embryonic stem cells by small molecule inhibitors. Proc Natl Acad Sci USA. 2011;108:8299-304.

## 28. 長寿遺伝子 (SIRT1-7) の内耳での局在

工田昌也、片桐佳明 (広島大)

[はじめに]

哺乳類の sirtuin には SIRT1 から SIRT7 までの 7 種類があり、いずれも脱アセチル化酵素の機能ドメインを有する。それぞれのファミリーは組織発現パターンや細胞内局在が異なり、SIRT1, 2 が細胞質と核に局在、SIRT3, 4, 5 がミトコンドリア、SIRT6, 7 が核内に局在している。その中でも SIRT1 が最も研究が進んでいる sirtuin 遺伝子である。SIRT1 は全身で発現が認められ、モデルマウスの実験から、肝臓では糖質代謝、脂肪細胞では脂質代謝、血管では血管新生や血管拡張、脳では神経分化と神経変性に対する保護作用、膵臓ではインスリンの分泌、腸ではガン発症抑制機序、などが報告されている<sup>1-3)</sup>。内耳ではカロリー制限による老人性難聴の予防に SIRT3 が大きく関与することが明らかになっているが、sirtuin の内耳での分布に関してはこれまで殆どわかっていない<sup>4,5)</sup>。今回、我々は、内耳での sirtuin の発現について検討したので報告する。

[研究方法]

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 25g) を使用した。RT-PCR では動物はネンブタールによる深麻酔下に断頭後、脳、蝸牛、前庭器、聴神経をすみやかに摘出し、RNAlater にて処理後、-20°C にて保存し後、total RNA を抽出し、sirtuin 遺伝子のプライマーを用いた定量 PCR 方にて、内耳での sirtuin 遺伝子発現量を測定した。免疫組織学的検討では、動物を 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 μm の厚さで凍結切片を作製、SIRT1-7 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。

[結果]

今回の検討では RT-PCR では SIRT1-7 は蝸牛、前庭器で脳よりも多く発現しており、聴神経では SIRT1, 2, 4, 5, 6, 7 が脳よりも多く発現していた。また、SIRT1-7 の発現は前庭器>蝸牛>聴神経の順であった (図 1)。

免疫組織学的検討では SIRT1 はマウス蝸牛ではラセン靭帯で I 型、V 型の線維細胞に著明に発現し、血管条には僅かな発現が認められた。コルチ器では有毛細胞や支持細胞に発現し、ラセン神経節細胞では細胞質に発現していた。前庭器では、半規管、卵形囊、球形囊で感覚細胞に発現していたが、支持細胞では発現が認められなかった。一方、暗細胞には中等度の発現が認められた。上皮下結合織では、神経線維は中等度の発現を示し、前庭神経節細胞では主に細胞質中に発現を認めた。内リンパ囊では上皮細胞の細胞質に発現していたが周囲の結合組織では観察されなかった (図 2)。

SIRT2 はラセン靭帯の II 型線維細胞と血管条に発現し、コルチ器では支持細胞、ラセン神経節細胞では細胞質と核に発現していた。前庭器では、支持細胞で発現が認められたが感覚細胞には発現していなかった。暗細胞は弱い発現を示し、前庭神経節細胞では主に細胞周囲に発現していた。内リンパ囊では上皮細胞に発現していた。

SIRT3 はラセン靭帯の II 型線維細胞と血管条に発現し、コルチ器では感覚細胞、支持細胞、ラセン神経節細胞では細胞質に発現していた。前庭器では、感覚細胞、特に cuticular plate に発現しており、上皮下では神経線維に発現していた。暗細胞は中等度の発現を示し、前庭神経節では神経節細胞、神経線維に発現していた。内リンパ囊では上皮細胞に発現していた (図 3)。

SIRT4 はラセン靭帯の II 型線維細胞と血管条に発現し、コルチ器では支持細胞に発現し、神経線維に強い発現が認められた。ラセン神経節細胞では細胞質、神経線維に発現していた。前庭器では感覚細胞頂部、上

皮下の神経線維に発現していた。暗細胞は中等度の発現を示し、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発現していた。

SIRT5 は血管条に発現し、コルチ器では有毛細胞、支持細胞に発現していた。ラセン神経節細胞では細胞質、神経線維に発現していた。前庭器では、感覚細胞、上皮下の神経線維に発現していた。暗細胞は中等度の発現を示し、前庭神経節細胞、神経線維にも発現していた。内リンパ嚢では上皮細胞に発現していた。

SIRT6 はラセン靭帯のⅡ型繊維細胞、root cell に発現が認められたが血管条には認められず、コルチ器では有毛細胞、支持細胞に発現していた。ラセン神経節細胞では、細胞質、神経線維に発現していた。前庭器では、感覚細胞、上皮下の神経線維に発現していた。暗細胞は中等度の発現を示し、前庭神経節細胞、神経線維にも発現していた。内リンパ嚢では上皮細胞に発現していた。

SIRT7 はⅡ型繊維細胞、ラセン隆起、血管条に発現し、コルチ器では有毛細胞、支持細胞に発現していた。ラセン神経節細胞では、細胞質、神経線維に発現していた。前庭器では、感覚細胞に発現しており、上皮下では神経線維に発現していた。暗細胞は弱い発現を認め、前庭神経節では神経節細胞、神経線維に発現していた。内リンパ嚢では上皮細胞に発現していた。

#### [考察]

今回の検討により、目での報告<sup>6)</sup>と同様に、すべてのsirtuinのmRNAが前庭器、蝸牛、聴神経において高いレベルで発現していることが明らかとなった。免疫学的検討でも、すべてのsirtuinが内耳に発現しており、その機能については未だ不明な点が多いものの、SIRT3は内耳での広い領域に分布し、SODの分布と似ていることから、SODを介したフリーラジカルの制御にSIRT3が重要な役割を果たし、その結果として老人性難聴の予防に働くことが示唆された<sup>4,5)</sup>。また、SIRT1については、脳や目で明らかになっているように神経変性に対して保護的に作用することが考えられた<sup>1-3)</sup>。その他のsirtuinの内耳での役割については未だ不明な点が多いものの、SIRT2は神経細胞障害に働き、内耳感覚細胞には発現していないことから、感覚細胞障害を間接的に減弱させ、また ミエリン形成に働くこと、SIRT4はSIRT3と反対に働くこと、SIRT5はSIRT1と同様に感覚細胞、神経の保護に働き、SIRT6は代謝調節などが考えられたが、SIRT7については内耳での役割は未だ不明である<sup>1-3)</sup>。今回SIRT1-7の内耳での分布が明らかとなったことより、その機能について今後の研究を行うことにより、メニエール病の治療にも応用出来ることが考えられた。

#### [参考文献]

1. Sebastian C, Satterstrom FK, Haigis M, Mostoslavsky R. From sirtuin biology to human diseases: An update. *Journal of Biological Chemistry* 2012; 287: 42444-52.
2. Donmez G. The neurobiology of sirtuins and their role in neurodegeneration. *Trends in Pharmacological Sciences* 2012; 33: 494-501.
3. Nakagawa T, Guarente L. Sirtuins at a glance. *Journal of Cell Science* 2011, 124: 833-838
4. Someya S, Yamasoba T, Weindruch R, Prolla TA, Tanokura M. Caloric restriction suppresses apoptotic cell death in the mammalian cochlea and leads to prevention of presbycusis. *Neurobiol Aging* 2007; 28: 1613-1622.
5. Someya S, Yu W, Hallows WC, Xu J, Vann JM, Leeuwenburgh C, Tanokura M, Denu JM, Prolla TA. Sirt3 mediates reduction of oxidative damage and prevention of age-related hearing loss under caloric restriction. *Cell* 2010; 143: 802-12.
6. Ban N, Ozawa Y, Inaba T, Miyake S, Watanabe M, Shinmura K, Tsubota K. Light-dark condition regulates sirtuin

図 1

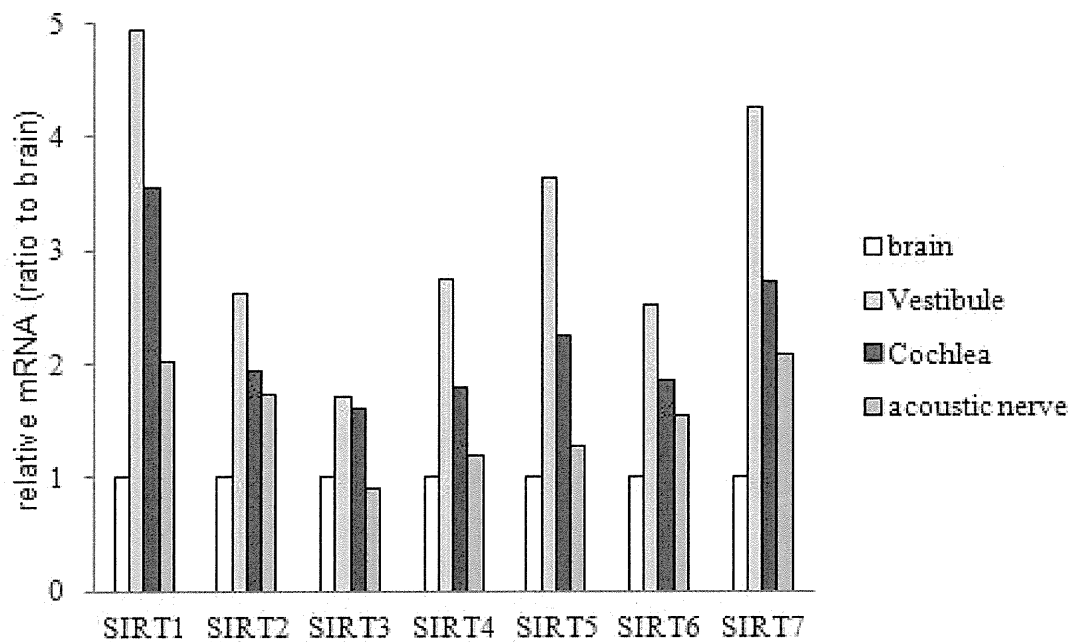


図 2 : SIRT1 の内耳での発現

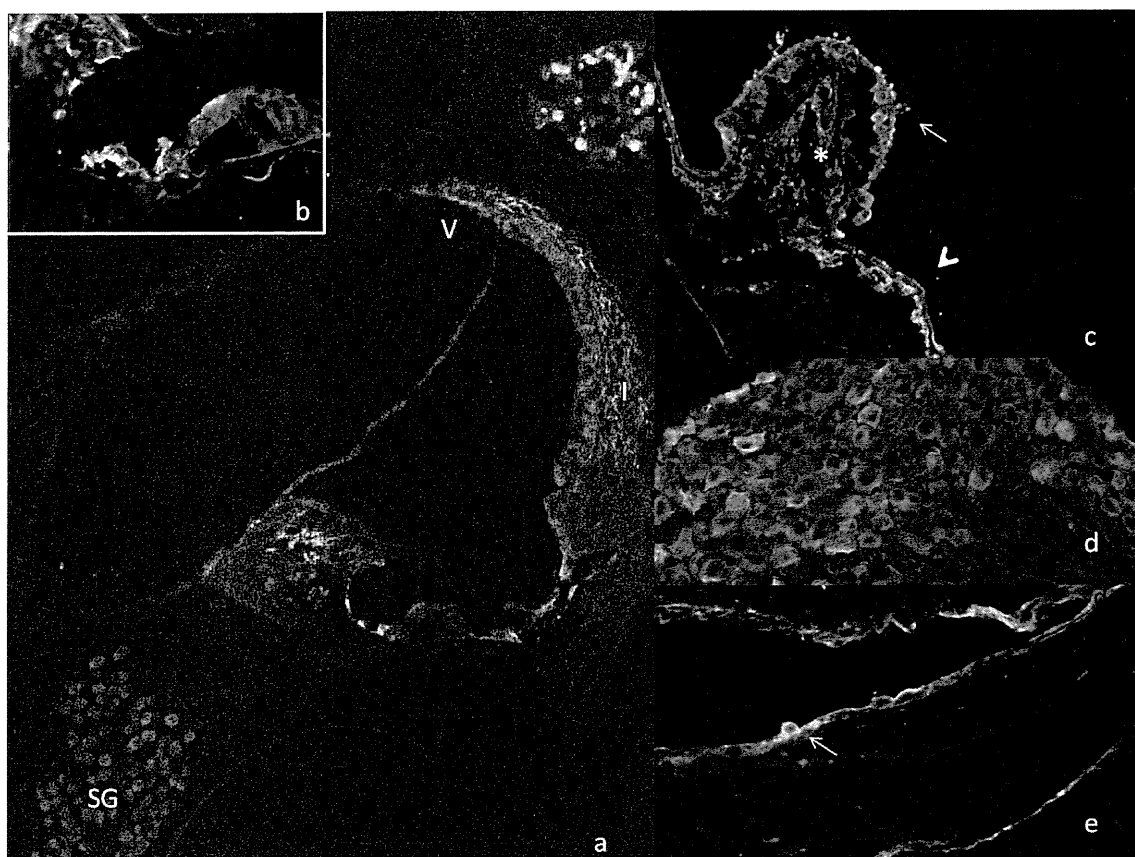
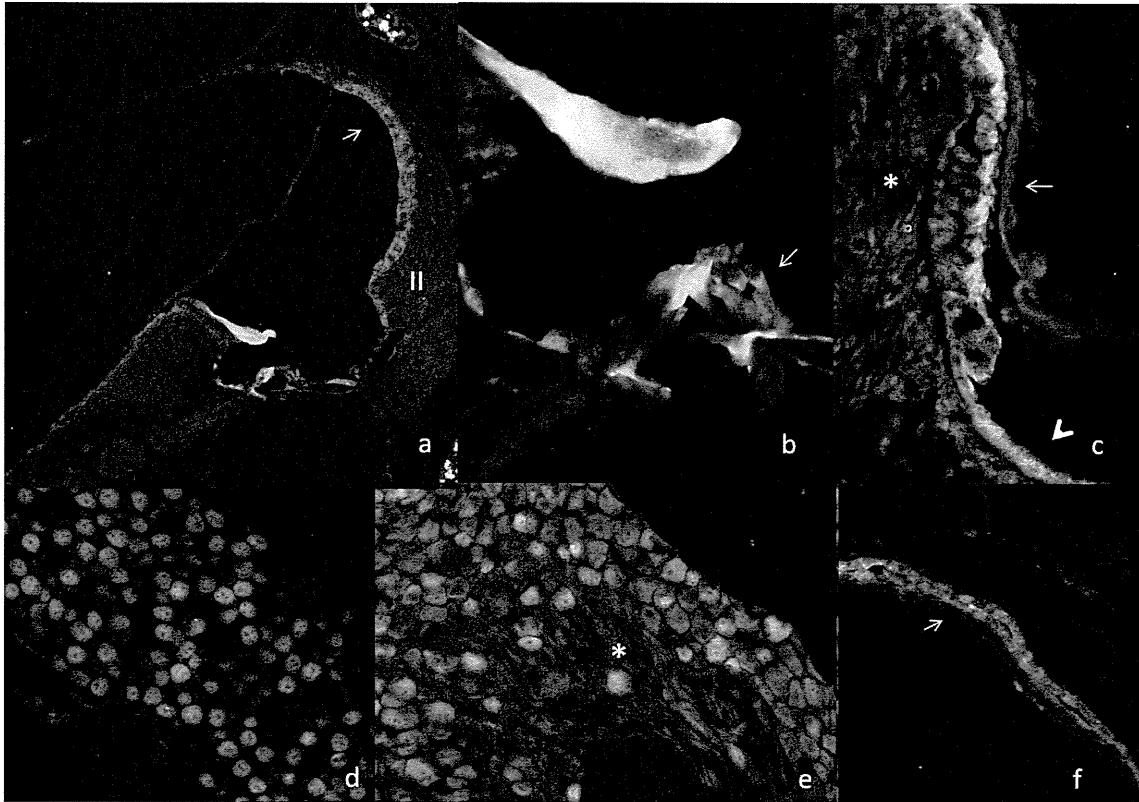


図3 : SIRT3の内耳での発現





## 29. 骨導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 (第2報)

坪田雅仁、將積日出夫 (富山大)

### 【はじめに】

前庭誘発筋電位 (Vestibular evoked myogenic potential: VEMP) は1992年のColebatchらの報告<sup>1)</sup>以降広く臨床応用されている耳石器機能検査法であり、一般的には胸鎖乳突筋における反応 (cervical VEMP: CVEMP) が用いられている。これまで我々はCVEMPの起源や神経経路を明らかにするためサルを用いたCVEMP動物モデルを作成し報告してきた<sup>2) 3)</sup>。一方、2005年にRosengrenらは外眼筋におけるVEMP (ocular VEMP: oVEMP) を報告した<sup>4)</sup>。oVEMPは今後臨床応用が期待されているものの起源や神経経路などについては未だ不明な点が多い。2012年の本研究会にて我々はoVEMPの動物モデルを作成することを目的に、気導および骨導刺激により無麻酔サル眼窩周囲で記録される誘発電位を記録し検討し報告を行った。気導刺激については、1. 特徴周波数が低い 2. 上方視が下方視にくらべ良好な反応が得られる 3. 刺激側と対側の記録において良好な反応が得られる ことを報告した<sup>5)</sup>。骨導刺激については2012年の本研究会の報告では1例のみの記録であったため、今回は骨導刺激における誘発反応について個体数を増やしさらに検討を行ったので考察を加え第2報として報告する。

### 【方法】

対象はニホンザル3頭 (雄2頭・雌1頭) とした。実験に関する手続きはThe Policy of the NIH Standards for Treatment of Laboratory Animals および富山大学動物実験取扱規則に準じ、富山大学動物実験委員会による審査を事前に受けた上で行った。まずはサルの頭部を無痛的に保持する目的で全身麻酔下に無菌的に頭部に固定用フレームを作成し、1週間以上の回復期間をおいた後に頭部を固定した状態で注視課題の訓練に移行した。初期訓練では頭部の固定の訓練を行い、頭部固定時間が十分に確保できる状態になった後視覚刺激に対する注視課題の訓練へ移行した。視覚刺激呈示用モニターに呈示された指標を注視するように訓練し、5秒以上注視ができるようになった後、誘発電位の記録へと移行した。ヒトのoVEMPと同様に探查電極を眼窩下方、基準電極を探查電極の約5mm下、接地電極を前額部に貼付した。刺激および誘発電位の記録にはニューロパックΣ (日本光電、東京) を用いた。骨導刺激にはセンサー社の骨導補聴器を用いた。刺激音にはトーンバースト音を用い、帯域フィルタを5-1500Hzに設定、200回の反応を加算平均した。誘発電位の記録中には眼球撮影記録装置によりサルが視標を固定していることを確認した。なお、誘発反応が記録された後に反応に関する種々の特性を検討した。得られた結果についてはt検定を用い、 $p < 0.05$ の場合に統計学的有意差があると判定した。

### 【結果】

図1に示すとおり、骨導刺激に対し再現性のある誘発反応が得られた。誘発反応は2相性であり、最初に陰性成分 (n1) が見られその後続いて陽性成分 (p1) が認められた。骨導刺激においては125dB フォースレベルの500Hz トーンバースト刺激、上方視での記録においてn1の潜時が $10.8 \pm 2.84$  msec、p1の潜時が $15.0 \pm 3.13$  msecであった。反応の性質については1) n1潜時が比較的短い 2) 刺激周波数が500から1000Hz付近で反応の閾値が低くなる 3) 500Hzから1000Hz付近での反応の振幅が大きくなる 4) 上方視の場合の振幅が $2.88 \pm 1.46$   $\mu$ Vに対し、正面視の場合の振幅が $0.7 \pm 0.57$   $\mu$ Vであり上方視の場合の振幅が有意に大きい ( $p < 0.05$ ) という結果であった。また、刺激装置にMinishakerを用いて施行したところ、骨導補聴器に比して良好な反応が得られた。

### 【考察】

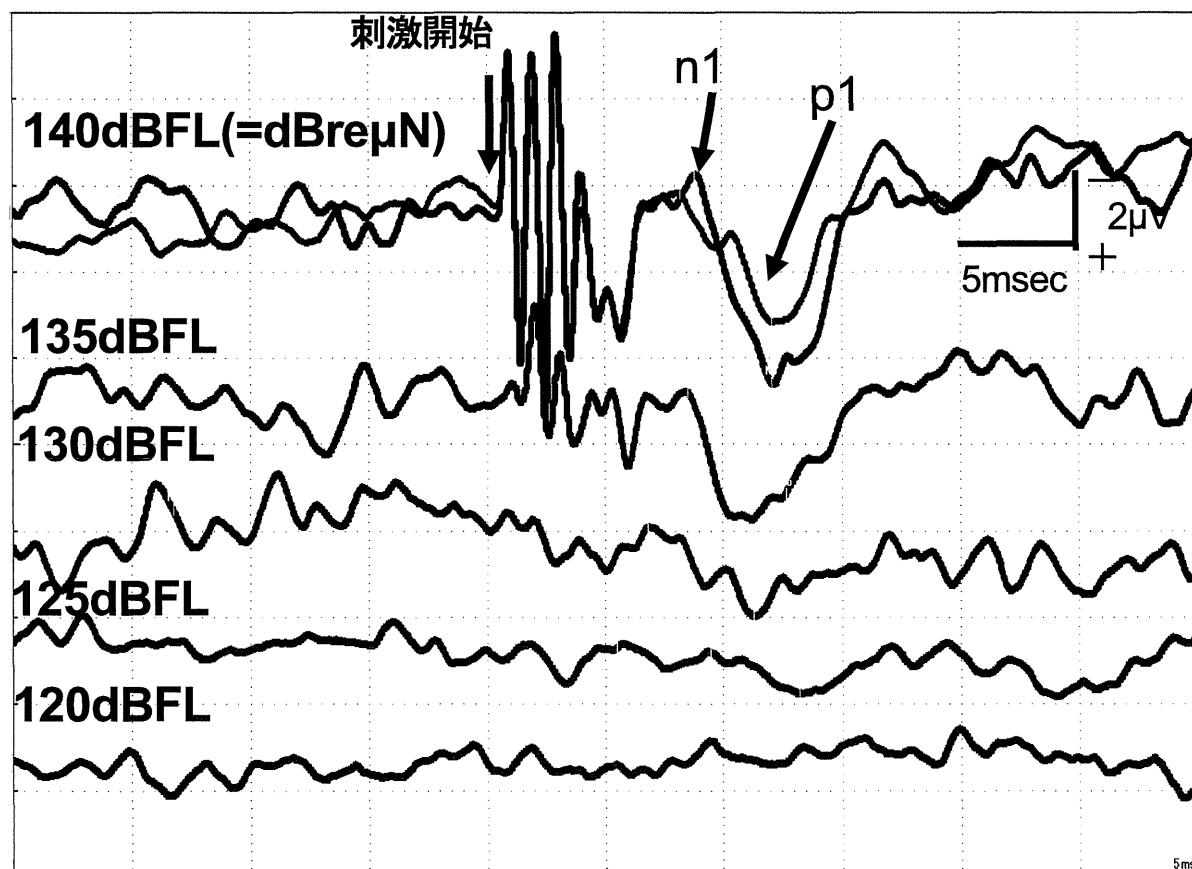
今回は骨導刺激を用い、眼窩周囲に生じる陰性-陽性の2相性の反応に関してその性質をさらに検討する

ために、個体数を増やして記録を行った。骨導刺激を用いて得られる反応に再現性があることが確認され、その性質として1) 潜時が比較的短い 2) 特徴周波数が比較的低い 3) 低い周波数で振幅が大きくなる 4) 上方視で振幅が大きいという性質を持っており、過去のヒトの oVEMP の特徴とよく似た性質を持っていることが明らかとなった。ヒト oVEMP では気導と骨導刺激による誘発反応の性質が異なることがこれまで報告されており、今回我々が作成したモデルを活用し複数の個体で気導と骨導刺激の反応を比較することで、2種類の刺激による OVEMP の相違性を明らかにすることに役立つと考えられる。また、Minishaker4810 を用いることでより明瞭な反応が記録される可能性が示唆された。今後、刺激圧校正などを施行し、さらなる検討が必要と考えられた。

【参考文献】

- 1) Colebatch JG, Halmagyi GM. Vestibular evoked myogenic potentials in human neck muscles before and after unilateral vestibular deafferentation. *Neurology* ;42:1635-1636, 1992.
- 2) Tsubota M, Shojaku H, Hori E, et al. Sound-evoked myogenic potentials on the sternocleidomastoid muscle in monkeys. *Acta Otolaryngol* 126:1171-1175, 2006.
- 3) Tsubota M, Shojaku H, Hori E, et al. Effects of vestibular nerve section on sound-evoked myogenic potentials in the sternocleidomastoid muscle of monkeys. *Clin Neurophysiol* 118:1488-1493, 2007.
- 4) Rosengren SM, McAngus Todd NP, Colebatch JG. Vestibular-evoked extraocular potentials produced by stimulation with bone-conducted sound. *Clin Neurophysiol* 116: 1938-1948, 2005.
- 5) 坪田雅仁、將積日出夫、堀悦郎 他. 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

図1 骨導刺激により眼窩周囲に記録される誘発反応  
500Hz のトーンバースト音で得られた反応を示す。



## 30. 内側前庭神経核のニューロンタイプにおける虚血応答の差異とその意義

紫野正人, 高安幸弘, 高橋克昌, 近松一朗 (群馬大)

[はじめに]

椎骨脳底動脈循環不全症 (Vertebrobasilar Insufficiency; VBI) は高齢者に生じるメマイ・平衡障害として日常診療で頻繁に遭遇するメマイ疾患であり、前庭神経炎や前庭型メニエール病などの内耳性メマイとの鑑別も重要である。末梢前庭器、蝸牛、第Ⅷ脳神経、小脳・脳幹に血液を供給する椎骨脳底動脈が循環不全に陥り、上記灌流域が一過性虚血になった場合、どのようなメカニズムで眼振解発されるのかについて調べるために、我々は舌下神経前位核とともに、水平性眼振解発に中心的役割を果たす内側前庭神経核 (Medial Vestibular nucleus; MVN) の一過性虚血に対する反応に着目してきた。神経核の素子である個々のMVNニューロンを電気生理学的に調べた先行研究から、MVNニューロンは一過性虚血に対して、膜電位を一時的に過分極させて自発発火を休止し、生理的条件下に戻すことで自発発火が回復するという現象を見出した (Fig. 1) 一方、内側前庭神経核ニューロンはその電気生理学的特性より Type A, Type B と 2 種類に分類されており、それぞれのニューロンの機能も異なるとされている。そこで、今回の研究では、MVNニューロンの種類により虚血に対する反応性に差異があるかを電気生理学的側面から検討した。

[対象と方法]

可逆性の変化を経時的にとらえるために、電気生理学的手法 (Whole-cell patch clamp法) を用いた。生後3~4週齢Wistar ratをイソフルレンで深麻酔し、無痛の状態で断頭を行い、全脳を摘出する。適宜トリミングを行い、厚さ250  $\mu\text{m}$ の脳幹スライス標本作製した。顕微鏡下にMVNニューロンに3-5M $\Omega$ のガラス管電極を押し当てて、その自発発火 (活動電位) を経時的に記録した。一過性虚血負荷として、脳幹スライスを灌流するリンゲル液中の酸素とグルコースを5分間除去し (Oxygen-Glucose Deprivation; OGD)、その後、生理的条件下に回復させた。

[結果]

1. Type A では68%のニューロンが、一方 Type B では92%が一過性に自発発火を停止した (Fig. 2)
2. 両方のニューロンタイプで虚血耐性のニューロンも観察された。
3. Type Bの方が虚血開始から自発発火停止までの時間が有意に短かった (Fig. 3)。

[考察]

眼球位置を維持するようなTonicな特性を持つType Aニューロンでは比較的虚血に耐性があり、一方、眼球運動初期に対応するPhasic-tonicな特性をもつType Bニューロンのほうが虚血に対して敏感に反応すると考えられた。眼球運動初期に深く関与する、すなわち眼振解発の規定因子となりえるType Bニューロンのほうが虚血により感受性が高いことは合理的といえる。

[結論]

Type BニューロンのほうがType Aニューロンよりも一過性虚血に反応して自発発火を休止するニューロンの数が多く、かつ自発発火休止までの時間が短いことから、Type BニューロンはType Aより一過性虚血に敏感に反応すると考えられた。

[参考文献]

- Serafin et al Exp. Brain Res. 1991a  
Eugene et al Exp. Brain Res. 2011  
M. SHINO et al SfN abstract 2012

Fig. 1 内側前庭神経核ニューロンの自発発火の様子とスパイク頻度の経時的変化 (n=11)

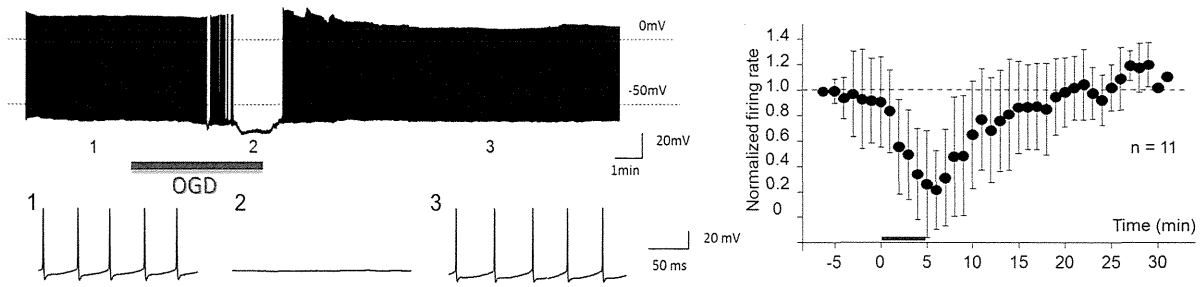


Fig. 2 ニューロンタイプによる虚血反応の差異 (Type Bの方が虚血で発火停止するニューロンが多い)

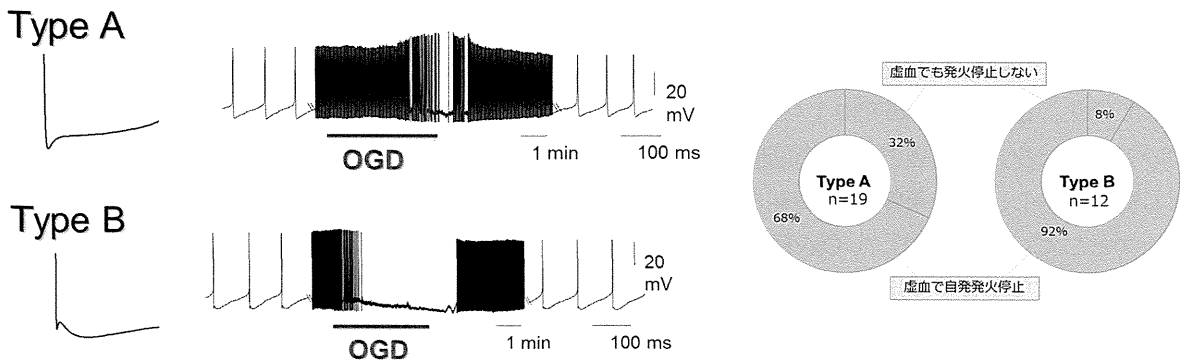


Fig. 3 ニューロンタイプによる虚血反応の差異 (Type Bの方が発火停止するまでの時間が短い)

