

- ・松田帆, 井上智恵, 井上準, 杉崎一樹, 中島正己, 和田伊佐雄, 新藤晋, 上條篤, 中嶋正人, 池園哲郎, 加瀬康弘  
抗酸菌性中耳炎の3症例: 第114回日耳鼻埼玉県地方部会学術講演会(埼玉県さいたま市) 2013.6.16
- ・池園哲郎, 堤内亮博, 松田帆, 杉崎一樹, 新藤晋, 中嶋正人, 加瀬康弘  
耳科手術におけるCO2レーザーの効用: 第75回耳鼻咽喉科臨床学会(兵庫県神戸市) 2013.7.11-12  
発表年月日 2013.7.12 発表場所 神戸国際会議場
- ・坂本圭, 小淵千絵, 城間将江, 松田帆, 池園哲郎  
人工内耳装用者の聴覚情報処理に関する研究—倍速音声と背景要因に関する検討—: 第58回日本聴覚医学会総会(長野県松本市) 2013.10.24-25  
発表年月日 2013.10.25 発表場所 ホテルブエナビスタ
- ・池園哲郎  
外リンパ瘻診断基準の改定と診断精度評価: 第58回日本聴覚医学会総会(長野県松本市) 2013.10.24-25  
発表年月日 2013.10.25 発表場所 ホテルブエナビスタ
- ・新藤晋, 池園哲郎, 杉崎一樹, 伊藤彰紀, 柴崎修, 水野正浩, 井上智恵, 加瀬康弘  
民生用デジタルカメラを用いた covert catch up saccade 検出の試み: 第72回日本めまい平衡医学会総会(大阪府大阪市) 2013.11.13-15  
発表年月日 2013.11.15 発表場所 大阪国際交流センター
- ・小林泰輔, 伊藤広明, 兵頭政光, 池園哲郎  
当科における外リンパ瘻手術例の検討: 第72回日本めまい平衡医学会総会(大阪府大阪市) 2013.11.13-15  
発表年月日 2013.11.14 発表場所 大阪国際交流センター
- ・杉崎一樹, 新藤晋, 池園哲郎, 伊藤彰紀, 柴崎修, 水野正浩, 井上智恵, 加瀬康弘  
CTから予想された所見と異なるMRI、前庭機能所見を呈した内耳奇形症例: 第72回日本めまい平衡医学会総会(大阪府大阪市) 2013.11.13-15  
発表年月日 2013.11.14 発表場所 大阪国際交流センター
- ・松田帆, 杉崎一樹, 新藤晋, 池園哲郎, 加瀬康弘  
CTP 検出法による迷路瘻孔の診断: 第23回日本耳科学会総会(宮崎県宮崎市) 2013.11.24-26  
発表年月日 2013.11.25 発表場所 シーガイアコンベンションセンター
- ・新藤晋, 池園哲郎, 杉崎一樹, 伊藤彰紀, 柴崎修, 水野正浩, 加瀬康弘  
当科における video Head Impulse Test の検討 第一報 温度刺激検査との比較: 第23回日本耳科学会総会(宮崎県宮崎市) 2013.11.24-26  
発表年月日 2013.11.26 発表場所 シーガイアコンベンションセンター
- ・杉崎一樹, 新藤晋, 池園哲郎, 松田帆, 堤内亮博, 柴崎修, 伊藤彰紀, 水野正浩, 加瀬康弘  
携帯型ビデオ式眼振記録装置による眼球運動解析(会議録): 第113回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会(新潟県新潟市) 2012.5.10-12  
発表年月日 2012.5.12 発表場所 新潟コンベンションセンター(朱鷺メッセ)
- ・新藤晋, 杉崎一樹, 池園哲郎, 松田帆, 堤内亮博, 柴崎修, 伊藤彰紀, 水野正浩, 加瀬康弘  
携帯型ビデオ式眼振記録装置を用いためまい発作時の眼球運動記録(会議録): 第113回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会(新潟県新潟市) 2012.5.10-12  
発表年月日 2012.5.12 発表場所 新潟コンベンションセンター(朱鷺メッセ)
- ・中嶋正人, 池園哲郎, 加瀬康弘  
フィブリン糊等人工物不要の大穿孔でも可能で簡便な短期滞在鼓膜再生手術について(会議録): 第113回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会(新潟県新潟市) 2012.5.10-12  
発表年月日 2012.5.12 発表場所 新潟コンベンションセンター(朱鷺メッセ)
- ・堤内亮博, 中嶋博史, 八木聡明, 松田帆, 杉崎一樹, 林崇弘, 和田伊佐雄, 柴崎修, 新藤晋, 中嶋正人, 加瀬康弘, 池園哲郎  
聴力変動およびめまいの症状を伴わなかった正円窓からの特発性髄液耳漏の一例(会議録): 第113回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会(新潟県新潟市) 2012.5.10-12  
発表年月日 2012.5.10 発表場所 新潟コ

- ンベンションセンター (朱鷺メッセ)
- ・松田帆, 池園哲郎, 新藤晋, 杉崎一樹, 堤内亮博, 中嶋正人, 和田伊佐雄, 林崇弘, 柴崎修, 伊藤彰紀, 加瀬康弘  
ELISA 法による CTP 蛋白検出検査(会議録) : 第 113 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 (新潟県新潟市) 2012. 5. 10-12  
発表年月日 2012. 5. 10 発表場所 新潟コンベンションセンター (朱鷺メッセ)
  - ・武市紀人, 今井聡, 福田篤, 福田諭, 池園哲郎  
CTP 検査が唯一の陽性所見であった持続性漿液性耳漏を呈する外リンパ瘻の一例(会議録) : 第 113 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 (新潟県新潟市) 2012. 5. 10-12  
発表年月日 2012. 5. 10 発表場所 新潟コンベンションセンター (朱鷺メッセ)
  - ・佐藤伸矢, 池園哲郎, 東野哲也  
内耳特異的タンパク質 CTP 蛋白検出により診断できた外リンパ瘻症例(会議録) : 第 113 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 (新潟県新潟市) 2012. 5. 10-12  
発表年月日 2012. 5. 10 発表場所 新潟コンベンションセンター (朱鷺メッセ)
  - ・池園哲郎, 松田帆, 堤内亮博, 杉崎一樹, 柴崎修, 中嶋正人, 新藤晋, 伊藤彰紀, 水野正浩, 加瀬康弘  
外リンパ瘻の新しい検査法と診断基準について : 第 111 回日耳鼻崎玉県地方部会学術講演会 (埼玉県さいたま市) 2012. 6. 10
  - ・松田帆, 池園哲郎, 堤内亮博, 杉崎一樹, 柴崎修, 中嶋正人, 新藤晋, 伊藤彰紀, 水野正浩, 加瀬康弘  
CTP 検査法で判明した外リンパ瘻の症状と病態 : 第 111 回日耳鼻崎玉県地方部会学術講演会 (埼玉県さいたま市) 2012. 6. 10
  - ・池園哲郎  
突発性難聴の鑑別診断としての外リンパ瘻 : 第 57 回日本聴覚医学会総会 (京都府京都市) 2012. 10. 10-12
  - ・坂本圭, 小渕千絵, 城間将江, 杉崎一樹, 松田帆, 堤内亮博, 池園哲郎  
人工内耳装用者の聴覚的時間情報処理に関する研究-倍速音声に対する統語修復の効果- : 第 57 回日本聴覚医学会総会 (京都府京都市) 2012. 10. 10-12
  - ・片岡祐子, 池園哲郎, 福島邦博, 結縁晃治, 濱田浩司, 菅谷明子, 前田幸英, 西崎和則 : CTP 検出により術前診断が可能であつた外リンパ瘻例, 第 112 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 (京都府京都市) 2011. 5. 19~21
  - ・片岡祐子, 池園哲郎, 福島邦博, 結縁晃治, 濱田浩司, 菅谷明子, 前田幸英, 西崎和則 : 中耳洗浄液 CTP 検出により術前診断が可能であった外リンパ瘻例, 第 112 回日本耳鼻咽喉科学会総会学術講演会, 2011. 5. 20
  - ・平岡美紀, 池園哲郎, 平岡満里, 黒田呈子, 高田昌彦, 宮地重弘, 大黒浩 : 分子のサル眼組織における局在とアイソフォームの検討, 第 115 回日本眼科学会総会 (東京都千代田区) 2011. 5. 12~15
  - ・坂本圭, 池園哲郎, 新藤晋, 岩崎千明, 城間将江, 小渕千絵, 大金さや香, 大久保公裕 : 人工内耳装用者の語音聴取能と背景要因に関する検討, 第 56 回日本音声言語医学会 (東京都新宿区) 2011. 10
  - ・松田帆, 池園哲郎, 杉崎一樹, 坂本圭, 伊藤彰紀 : 外リンパ瘻診断基準改訂案について, 第 56 回日本聴覚医学会総会・学術講演会 (福岡県福岡市) 2011. 10
  - ・池園哲郎, 杉崎一樹, 松田帆, 坂本圭, 伊藤彰紀 : 正円窓アプローチによる人工内耳電極挿入についての考察, 第 56 回日本聴覚医学会総会・学術講演会 (福岡県福岡市) 2011. 10
  - ・新藤晋, 池園哲郎, 森美穂子, 大久保公裕 : 人工真皮とシリコン板を用いた外耳道皮膚再生療法, 第 73 回耳鼻咽喉科臨床学会 (長野県松本市) 2011. 6
  - ・堤内亮博, 中嶋正人, 新藤晋, 平岩文, 和田伊佐雄, 柴崎修, 善浪弘善, 坂本圭, 加瀬康弘, 池園哲郎 : 受傷後 1 年 3 カ月経過後も迷路気腫が残存している右耳かき外傷の 1 症例, 第 21 回日本耳科学会総会 学術講演会, 2011. 11. 24-26 (沖縄県宜野湾市)
  - ・柴崎修, 堤内亮博, 中嶋正人, 善浪弘善, 池園哲郎, 伊藤彰紀, 加瀬康弘 : 外耳スプレーによる外耳道および中耳への薬液浸透, 第 21 回日本耳科学会総会 学術講演会, 2011. 11. 24-26 (沖縄県宜野湾市)
  - ・杉崎一樹, 池園哲郎, 新藤晋, 松田帆, 小川洋, 堤内亮博, 平岩文, 和田伊佐雄, 柴崎修, 中嶋正人, 善浪弘善, 坂本圭, 加瀬康弘 : C T P 検査を用いた中耳真珠腫による内耳瘻孔深達度診断の工夫, 第 21 回日本耳科学会総会 学術講演会, 2011. 11. 24-26 (沖縄県宜野湾市)

- ・新藤晋, 池園哲郎, 杉崎一樹, 松田帆, 柴崎修, 伊藤彰紀, 加瀬康弘: 携帯型眼球運動記録装置の開発 第一報, 第21回日本耳科学会総会 学術講演会, 2011.11.24-26 (沖縄県宜野湾市)
- ・池園哲郎, 新藤晋, 杉崎一樹, 松田帆, 関根久遠, 椎葉恭子, 加瀬康弘: 難聴・めまいのバイオマーカーCTPの新展開, 第21回日本耳科学会総会 学術講演会, 2011.11.24-26 (沖縄県宜野湾市)
- ・関根久遠, 池園哲郎, 木村百合香, 椎葉恭子, 喜多村健, 八木聰明, 松根彰志, 大久保公裕: 高齢者及び超高齢者における内耳microRNA発現の比較検討, 第21回日本耳科学会総会・学術講演会 (沖縄県宜野湾市) 2011.11
- ・小川洋, 小林徹郎, 松井隆道, 野本幸男, 今泉光雅, 大森孝一, 池園哲郎: 中耳真珠腫における迷路瘻孔 外リンパ瘻分類における診断基準作成へ向けての検討, 第21回日本耳科学会総会・学術講演会 (沖縄県宜野湾市) 2011.11
- ・野口佳裕, 高橋正時, 靱山直子, 池園哲郎, 岸本誠司, 喜多村健: 側頭骨 Giant Cell Reparative Granuloma の1例, 第21回日本耳科学会総会・学術講演会 (沖縄県宜野湾市) 2011.11
- ・木村百合香, 池園哲郎, 加藤智史, 喜多村健: 高齢者ヒト蝸牛ラセン靱帯における Cochlin の発現と年齢に関する検討, 第21回日本耳科学会総会・学術講演会 (沖縄県宜野湾市) 2011.11
- ・中嶋正人, 堤内亮博, 和田伊佐雄, 柴崎修, 善浪弘善, 池園哲郎, 加瀬康弘: フィブリン糊、術後耳内処置、人工物耳内留置、自己血清作成がすべて不要で、大穿孔でも可能な簡便で新しい日帰り鼓膜再生手術について, 第108回日耳鼻埼玉県地方部会学術講演会, 2011.6.19 (埼玉県さいたま市)
- ・池園哲郎: 耳科手術の進歩, 埼玉県北部耳鼻科医の集い 学術講演会, 2011.7.29 (埼玉県熊谷市)
- ・新藤晋, 池園哲郎, 加瀬康弘: 人工真皮とシリコン板を用いた外耳道皮膚再生療法, 第109回日耳鼻埼玉県地方部会学術講演会, 2011.10.16 (埼玉県さいたま市)

特許取得申請状況

1. 特許取得 (特許取得)
  1. 【日本】発明の名称: 外リンパ瘻の検出方法  
特許権者: 学校法人埼玉医科大学  
発明者: 池園哲郎、八木聰明、大森彬  
特許番号: 特許第4172777号 (2008年8月22日)  
公開番号: 特開2004-85552 (2004年3月18日)  
出願番号: 特願2003-182860 (2003年6月26日)
  2. 【外国 中国】発明の名称: 外リンパ瘻の検出方法  
特許権者: 学校法人埼玉医科大学  
発明者: 池園哲郎、八木聰明、大森彬  
特許番号: ZL03815172.3 (2007年9月5日)  
公告番号: CN100335502-C (2007年9月5日)  
出願番号: 03815172.3 (2003年6月26日)
  3. 【外国 オーストラリア】発明の名称: 外リンパ瘻の検出方法  
特許権者: 学校法人埼玉医科大学 Saitama Medical University  
発明者: 池園哲郎、八木聰明、大森彬  
出願番号: 2003243985 (2003年6月26日)  
特許番号: 2003243985 (2009年7月3日)
  4. 【外国 米国】発明の名称: 外リンパ瘻の検出方法  
特許権者: 学校法人埼玉医科大学 Saitama Medical University  
発明者: 池園哲郎、八木聰明、大森彬  
特許番号: US 7,863,005 B2 (2011年1月4日)  
公開番号: US 2006/246516 A1 (2006年11月2日)  
出願番号: 10/517,778 (2003年6月26日)
  5. 【外国 欧州 EP/IT (イタリア)、EP/GB (イギリス)】  
発明の名称: 外リンパ瘻の検出方法  
特許権者: 学校法人埼玉医科大学 Saitama Medical University  
発明者: 池園哲郎、八木聰明、大森彬  
特許番号: EP 1533319 B1 (2011年1月12日)  
公開番号: EP 1533319 A1 (2005年5月25日)

出願番号 : 03736265.4 (2003年6月26日)

6. 発明の名称 : 眼振誘発装置

出願番号 : 特願2005-179515 出願日 : 2005年6月20日

公開番号 : 特開2006-346346 公開日 : 2006年12月28日

特許番号 : 特許第4625973号 登録日 : 2010年11月19日

発明者 : 加藤政利、新藤晋、野原秀明、池園哲郎、八木聰明

特許権者 : 学校法人日本医科大学

特許満了予定日 : 2025年6月20日

(特許申請中)

【PCT】発明の名称 : 未変性Cochlin-tomoprotein (CTP) に反応する抗体及びそれを用いたCTPの測定方法

出願人 : 学校法人埼玉医科大学

発明者 : 池園哲郎、志風沙登美

特許番号 : 無し

公開番号 : W0/2012/133898 (2012年10月4日)

出願番号 : PCT/JP2012/058988 (2012年4月2日 : 優先日 : 2011年3月31日)

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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

1. 光コヒーレンストモグラフィ（OCT）を用いた内耳形態学的検査に関する研究
2. 眼振ベクトル解析による検討に関する研究に関する研究
3. Square Drawing Testのコンピュータ化に関する研究.
4. マウスiPS細胞による内耳再生に関する研究
5. ヒトiPS細胞を用いた前庭障害治療に関する研究

研究分担者 伊藤 壽一 京都大学教授

研究要旨

1) 内耳は、臓器が小さく内耳骨包に包まれている。開窓すると機能障害をおこす等の理由で、現在の検査技術では非侵襲的に形態診断を行い、病態解明をすることが困難である。このため新規治療法開発も不十分である。光コヒーレンストモグラフィ（OCT）は、近赤外光が組織内部まで入り込むことを利用して非侵襲的に断層像を得る方法で、網膜や皮膚付属器、血管壁の診断などの非破壊検査として利用されている。我々は、これを内耳の病態診断に利用できると考えて動物実験を行った。内耳障害モデルとしてマウスとして*Slc26a4*ノックアウトマウスを用いた。ホモの動物の内耳機能が高度に傷害されていることを確認の上、*in vivo*でOCT撮像し、直後に屠殺して組織切片を作成して比較した。内耳障害と関係する内リンパ水腫および内耳奇形が *in vivo* OCTで描出できることが分かった。摘出内耳の半規管から炭酸カルシウム顆粒を挿入したBPPVモデルでは、OCTで半規管骨包を越えて顆粒が描出できることが分かった。これまで不可能であったBPPVの画像診断に向けた一歩と考えられる。また、摘出内耳は脱灰することで画像が改善したが、脱灰しないことでこれまで描出する方法がなかった耳石系の画像検査になり得る可能性が示唆された。

2) 椎骨脳底動脈循環不全症（VBI）の中で複雑な眼球運動を呈する症例や脳梗塞等の非末梢性めまい疾患について、眼振緩徐相ベクトルと急速相ベクトルとの角度関係について比較検討した。末梢前庭障害においては眼振緩徐相と急速相のベクトル角度差は 180 度周辺に分布したのに対し、一方、非末梢性症例においては、病的眼振の信号源が眼振急速相を駆動する中枢にあることが予想され、眼振急速相と眼振緩徐相との角度は 180 度から大きく離れていた。緩徐相と急速相のベクトルの角度関係を検討する事で、末梢性と非末梢性疾患を鑑別する一助に成りうると思われた。

3) 遮眼書字検査の変法である Square Drawing Test (SDT) を、コンピュータを用いて記録および解析を行う方法について正常者を対象として SDT を施行し、各種パラメータの正常範囲を推定した。さらに、得られた正常範囲を各種めまい症例にも適応し検討を行った。検討を行ったパラメータは、全辺長、各辺長、距離、離開度、偏倚に加え、筆記速度、頂点における角度、および辺の蛇行度である。さらに得られた正常範囲を、各種めまい症例に適応し、疾患名及び正常範囲より逸脱したパラメータについて検討を行った。

4) 内耳再生への新規治療法を確立するために、iPS (induced pluripotent stem cell) 細胞を用いて内耳有毛細胞の再生を試みた。上皮系への分化をさせたマウス iPS 細胞とマウス前庭組織との共培養を行ったところ、感覚上皮存在下では iPS 細胞から有毛細胞への分化誘導は困難であったが、感覚上皮を除去し、間葉組織の存在下では iPS 細胞から有毛細胞様細胞への分化誘導が可能であった。すでに大島らの報告で iPS や ES を鳥類の内耳組織と共培養する事で有毛細胞へ分化させることが可能であることが報告されている (Oshima, 2010) が、今回の検討から哺乳類の内耳組織にも分化誘導因子が含まれていることが判明した。また、感覚上皮存在下では分化誘導が困難であったことから、感覚上皮組織には何らかの分化誘導阻害因子が存在している可能性が示唆された。

5) 前庭障害に対する治療として細胞移植は有力な治療候補の一つであるが、移植した細胞が生着し、機能するかについての詳細は未だ明らかではない。今回我々は *ex vivo* の系を用いてマウス前庭組織とヒト iPS 細胞から神経系へ分化誘導した神経前駆細胞 (human Neural Stem Cell: hNSC) を共培養し、シナプス形成および機能について検討した。マウス前庭組織へ hNSC を注入した場合に有毛細胞とのシナプス様構造が確

認出来、一部で神経細胞としての機能を確認することが出来た。hNSCが移植組織内で神経細胞に分化生着している可能性があると思われた。

## A. 研究目的

1) 内耳の内部構造を生きたままで診断する方法を、現在我々は持っていない。そのため、例えば、良性発作性頭位めまいの原因が半規管内に迷入したdeberiであると言われながらも、それを臨床的に確認することは困難である。またメニエール病が内リンパ水腫と関連があるされているが、めまいが起きているときの水腫の状態がどうなっているのか、知ることは出来ない。先天性高度難聴の大部分が膜迷路奇形であるとJacklerらは報告しているが、これについても診断できるのは死後の側頭骨標本作製した場合のみであり、臨床的には評価不能である。臨床で用いることの出来る非侵襲的な診断技術によって内耳の病態を診断し、病態に基づいた治療を目指す必要がある。

光コヒーレンストモグラフィ (OCT) は、赤外光が組織透過性を持つことを利用して非侵襲的に断層像を得る方法で、網膜、皮膚、血管内皮などの病変の評価に広く用いられている。我々はこれが内耳にも応用可能であると考へた。OCTによる内耳病態診断法を開発し、病態に応じた内耳治療の開発を促進したい。

2) 難治性めまい疾患の中には非末梢性疾患も多くあり、末梢性との鑑別が必要である。従来、眼球運動の解析は、眼振の緩徐相を中心に行われており、眼振緩徐相と急速相との角度関係についてはあまり検討されてこなかった。末梢前庭疾患においては、眼振急速相は、眼振緩徐相で起こった眼球偏位を null にするために起こるものと考えられるので、この場合眼振緩徐相と急速相の角度差は 180 度周辺に分布するものと予想される。一方、非末梢性疾患では、病的眼振の信号源が末梢前庭器でなく、眼振急速相を駆動する脳幹網様体などにある症例などが存在することが予想される。そこで、我々は、昨年度に引き続き非末梢性症例を対象に眼振の緩徐相、急速相の角度関係について検討した

3) SDTは被検者に四角を筆記するだけの非常に簡便で、低侵襲な検査である。この検査を、コンピュータを用いて記録・解析を行う

ことで、簡便に解析を行うことができるようになった。今回、正常者を対象にSDTを施行し、本検査法における正常値を算定した。また、得られた正常値を各種めまい症例に適用し、中枢性めまい症例と末梢性めまい症例の鑑別に有用か検討を行った。

4) 鳥類では内耳有毛細胞が障害されても再生するとされているが、哺乳類では、一旦障害されると困難とされている。それ故、内耳障害治療として有毛細胞の再生が急務となっている。そこで本研究では、内耳再生への新規治療法を確立するために、iPS (induced pluripotent stem cell) 細胞を用いて内耳有毛細胞の再生を試みた。iPS 細胞は体細胞に Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc の遺伝子を導入することで ES (胚性) 細胞のように様々な細胞に分化出来る細胞のことで、2006 年に山中らによって報告された。iPS 細胞から有毛細胞への分化はすでに大島らによって報告されているが、分化効率が低く、鳥類の内耳組織を用いている点で誘導因子の詳細は未だに不明である。今回は再生が知られている鳥類ではなく、まず哺乳類の内耳組織でも分化誘導が可能なのかを検討した。

5) 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。

## B. 研究方法

1)-1. 内耳障害モデルを用いた in vivo での内耳OCT

Pendred症候群のモデルマウスである *Slc26a4* ノックアウトマウスを用いた。生後 1 1 週と同腹仔において、聴性脳幹反応 (ABR) と行動評価による前庭機能評価 (Trunk curl test) を行った。引き続き、全身麻酔下に内耳骨包を保ったままで蝸牛軸に平行な断面でOCT撮影を行った。撮影装置はOCS1300SS

(Thorlabs) を用いた。直後に屠殺し、内耳

の切片を作成しH&E染色を行った。

1)-2. 模擬浮遊耳石の半規管内での描出  
CBAマウス（7ヶ月齢）の内耳を摘出し、10% EDTAで1週間の脱灰を行った。半規管切断部から炭酸カルシウム顆粒を挿入し半規管のOCT撮影を行った。

1)-3. OCTによる前庭・半規管系の観察（脱灰の効果）

開心灌流固定、内耳摘出、後固定を行い、OCTで観察を行った。摘出・脱灰に内耳については、開心灌流固定、内耳摘出、後固定ののち、10%EDTAによる脱灰を1週間行ってからOCTで観察を行った。比較対照とするため、前庭膜迷路を摘出してOCT観察も行った。

1)-4. ヒト用 ファイバー型OCTプローブの臨床開発

ヒト蝸牛に挿入できる形状のファイバー型OCTプローブを作成し、非臨床試験として安全性試験等を行った。また、臨床試験プロトコルを作成した。

（倫理面への配慮）

動物実験については、本学倫理委員会の承認のもとに行った。臨床例で使用するためのプロトコルについては、本院医の倫理委員会の承認を得た。

2) 赤外線フレンツェルを用いて眼振をDVDに記録し、市販VOGにて眼球運動の2次元解析を行った。それをベクトル化し、疾患別に検討した。対象として2006年から2011年までに京大耳鼻科めまい外来を受診した症例で、非末梢性疾患10例についてベクトル解析を行った。対象としてコントロールのカロリック5例、末梢性疾患10例についても比較検討を行った。

3) 正常者はめまいの既往のない20歳代～50歳代までの男女15例である。（20歳代：3例、30歳代：4例、40歳代：5例、50歳代3例）ペンタブレット上で記入を行い、我々の開発したソフトを用いて、検査結果の記録及び解析を行った。検討を行ったパラメータは、関谷らの報告した全辺長、各辺長、距離、離開度、偏倚に加え、筆記速度、頂点における角度、および辺の蛇行度である。今回はさらに、得られた正常値を、当院外来を受診している中枢性めまい症例及び末梢性めまい症例に適用した。（中枢性めまい症例14例、末梢性めまい症例22例）

（倫理面への配慮）

通常診察の一環であり、特に必要ないと思わ

れた。

4)-1. マウスiPS細胞：山中研究室から御供与頂いた256H18 (Oct3/4, Sox2, Klf4)を用いた。大島らの方法を参考にして、まずD/S/I方法によりiPSを未分化な状態から外胚葉系に分化誘導させた。さらに、bFGFを用いて内耳前駆細胞方向へと分化させた。

4)-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、iPS細胞と共培養した。またthermolysinにて上皮組織を除去し、間葉系組織のみのものとも共培養を行った。結果はMyo7Aおよびphalloidinにて免疫組織染色を行い、組織学的に評価した。またiPSについてはすでにDsRedで標識されているため、そのまま観察した。

5)-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。

5)-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。

## C. 研究結果

(1)-1. 内耳障害モデルを用いたin vivoでの内耳OCT

ABR閾値の評価では、野生型（WT）とヘテロでは良好なABR波形が得られ、聴力が良好であることが分かった。ホモではABR波形は得られず、高度難聴であることが確認された。またTrunk curl testでは、WTおよびヘテロでは、体幹を維持することが出来たが、ホモでは維持できず回転したことから、ホモで高度な前庭機能障害があることが確認された。

OCT画像と、撮像直後に屠殺して得た組織切片を比較すると、野生型（WT）マウスの内耳において、蝸牛回転、ライスネル膜、基板などが明瞭に描出され、中央階がはっきりと同定できることがわかった。ヘテロ型では、内耳形態は正常と区別がつかなかった。ホモでは、組織切片で高度な内リンパ水腫と蝸牛回

転の減少、コルチ器の変性（有毛細胞の変性）が見られ、OCTで高度な内リンパ水腫、蝸牛回転の減少は確認できた。しかし有毛細胞の変性を含むコルチ器の変性は確認できなかった。

(1)-2. 模擬浮遊耳石の半規管内での描出

半規管切断部から模擬耳石として挿入した炭酸カルシウム顆粒は、半規管骨包を越えて半規管内腔にOCT画像上確認することが出来た。

(1)-3. OCTによる前庭・半規管系の観察（脱灰の効果）

摘出前庭膜迷路の観察を行って、耳石やクプラがどのように描出されるかを確認の上、骨迷路の中の前庭・半規管の観察を行った。生体内、摘出、摘出・脱灰で蝸牛の観察は可能であったが、半規管・前庭は、生体内では描出が困難で、摘出および摘出・脱灰内耳では照射の方向を工夫することで観察可能であった。摘出と摘出・脱灰では後者の方が精細な画像が得られた。脱灰しないことで耳石からの信号は強くなった。

内リンパ管は、正常マウスではほとんど観察することが出来なかったが、これは構造的に非常に小さいことが原因と考えられた。*Slc26a4*ノックアウトマウスでは、内リンパ管が著明な拡大を呈しており、これはOCTで同定可能であった。

(1)-4. ヒト用 ファイバー型OCTプローブの臨床開発プローブの使用を確定し、PMDA事前相談を行った。非臨床試験として、滅菌、生体適合性、耐久性等の試験を行っている。

2) 外側半規管が主に刺激される正常人のカロリック検査ではベクトル方向は緩徐相と急速相で180°付近であった。また末梢性めまい疾患でも両者の角度は180°付近であった。それらと比較して、非末梢性めまい症例では角度にばらつきがあった。またこの傾向は眼振の速度に依存しなかった。

3) 各種パラメータのうち、正常者を対象として行った結果は、離開度、頂点の角度、蛇行度については年齢とともに大きくなる傾向が見られた。また、筆記速度については年齢とともに低下していた。この結果をめまい症例に適応した。前回の研究で有意差が得られたパラメータ（全辺長、頂点の角度、蛇行度）について、各めまい症例において検討を行ったところ、中枢性めまい症例では上記パラメータにおいて、1つ以上異常があった症例が11/14例、末梢性めまい症例では1つ以上異常

があった症例が5/22例であった。3つのパラメータのいずれかの異常異常の有無により中枢性めまいと末梢性めまいの鑑別を行った場合、感度は78.6%、特異度は77.3%となった。

4) 卵形嚢組織との共培養により、僅かではあるが、Myo7A陽性でしかもDsRed陽性のiPS細胞が観察された。しかしながら、それらの細胞からは感覚毛は観察されなかった。しかも、卵形嚢組織とiPSの細胞集塊とは融合せずに離れて存在する傾向が見られた。一方、上皮組織を除去し、間葉系組織のみと共培養した群では、僅かではあるが、Myo7A陽性でしかもDsRed陽性の二重陽性のiPS細胞集塊が見られ、そのclusterの中央に感覚毛様構造を認めることが出来た。また、間葉系組織のみの培養では二重陽性細胞は全く認められなかった。

5) 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。

## D. 考察

1) 非侵襲的な断層画像取得法としてOCTは応用が広がっており、眼科領域等では広く用いられている。内耳領域では摘出内耳においていくつかの報告があったが、今回はin vivoでもOCTによる内耳断層画像が得られることが示された。これによって、薬物投与の効果などのダイナミックな変化をOCTで捕らえる研究が加速すると思われる。

また、蝸牛だけではなく、工夫すれば前庭系でもOCTを用いて描出可能であることが分かった。これまでBPPVは画像診断が困難な疾患であった。OCTを用いることで評価できる可能性がある。

内耳領域では摘出内耳においていくつかの報告があったが、前庭・半規管系では報告がなかった。今回は、摘出あるいは摘出・脱灰によって前庭の観察は可能であることが分かった。また脱灰しないことによって耳石からのシグナルが得られたことから、これまでほ

とんど評価法のなかった耳石について、新たな検査方を提供する可能性がある。

ヒトの内耳の病態の画像診断が可能であることを実証して行く。

2) 眼振の急速相の機序として脳幹部網様体が関与しているとされている。そのため、非末梢性めまいでは局所の循環障害による虚血により眼振の急速相と思われるような早い眼球運動が生じている可能性があると思われる。

3) パラメータによって、正常値の範囲が、年齢により変化がみられ、今後正常値を決定するうえで、年齢を考慮する必要があると考えられた。本検査はペンタブレットの上で四角形を描くのみであり、非常に低侵襲な検査である。また、解析をコンピュータにさせることで、数分程度で解析が可能であり簡便に検査を行うことが可能である。また、本検査を中枢性めまいと末梢性めまいの鑑別を行う目的で用いたところ、感度78.6%、特異度77.3%となり有用な検査と考えられた。

4) 実験結果より、哺乳類の組織を用いてもiPS細胞から有毛細胞様細胞を分化誘導することが可能であった。また上皮組織が存在した場合には、有毛細胞様細胞を分化誘導することは難しかったため、上皮組織自体が何らかの誘導阻害因子を放出している可能性があると思われる。間葉組織に有毛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。

5) 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。

## E. 結論

1) OCTは生体における内耳病態診断のツールとなりえる。

2) 眼振の緩徐相、急速相の角度関係を調べることは難治性の非末梢性めまい疾患の診断の一助となるものと考えられた。

3) 本SDTは中枢性めまい症例と末梢性めまい症例を鑑別するための一助となりうると思われた。

4) 哺乳類組織を用いてもマウスiPS細胞から有毛細胞様細胞を分化誘導することは可能であった。

5) 哺乳類前庭組織内で、ヒトiPS細胞からのhNSCが神経細胞に分化生着している可能性があると思われた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

#### 2011年

- Takatoshi Inaoka, Hirofumi Shintaku, Takayuki Nakagawa, Satoyuki Kawano, Hideaki Ogita, Tatsunori Sakamoto, Shinji Hamanishi, Hiroshi Wada, Juichi Ito. Piezoelectric materials mimic the function of the cochlear sensory epithelium. Proc Natl Acad Sci USA. 108 : 45.18390-18395, 2011
- Yoshida A, Kitajiri S, Nakagawa T, Hashido K, Inaoka T, Ito J. Adipose tissue-derived stromal cells protect hair cells from aminoglycoside. Laryngoscope. 128:1281-1286, 2011
- 伊藤壽一. 人工内耳の適応に関する考察. 耳鼻臨床. ;104((1)):1-6, 2011
- 田浦晶子、三浦誠、扇田秀章、船曳和雄、伊藤壽一: Short-arm型後半規管BPPVが疑われた4症例の検討. Equilibrium Research. Vol. 70 (3). 151-158. 2011
- 田浦晶子、伊藤壽一: 有毛細胞の再生治療. Clinical Neuroscience. Vol. 29. 1382-1384. 2011
- Akiko Taura, Eriko Ogino, Hideaki Ohgita, Takayuki Nakagawa, Kazuo Funabiki, Juichi Ito. Benign paroxysmal positional vertigo related to allergic otitis. The American Journal of Case Reports. Vol. 12. 169-172. 2011

#### 2012年

- 伊藤壽一, 中川隆之, 熊川孝三, 内藤泰, 坂本達則, 平海晴一, 山本典生, 稲岡孝敏: 新しい埋め込み型聴覚補助機器の開発. 耳鼻臨床. 補 132;54-57, 2012
- 田浦晶子、清水享子、細見佳子、鳥居紘子、荻野枝里子、扇田秀章、船曳和雄、伊藤壽一: 頸性めまい症例における重心動揺検査の特徴的検査所見の検討. Equilibrium Research. Vol. 71 (2). 87-95. 2012

- 田浦晶子、鳥居紘子、荻野枝里子、扇田秀章、船曳和雄、伊藤壽一：起立性低血圧の眼球運動所見についての検討。頭頸部自律神経。Vol. 26. 20-23. 2012
- 楯谷 一郎, 伊藤 壽一：耳鼻咽喉科領域における診療・手術支援機器の現在と今後の展望。耳鼻臨床. 105. 1-5. 2012
- Lou XX, Nakagawa T, Ohnishi H, Nishimura K, Ito J. Otospheres derived from neonatal mouse cochleae retain the progenitor cell phenotype after ex vivo expansions. *Neurosci Lett.* 534. 18-23. 2012
- Taniguchi M, Yamamoto N, Nakagawa T, Ogino E, Ito J. Identification of tympanic border cells as slow-cycling cells in the cochlea. *PLoS One.* 7. e48544. 2012
- Nakagawa T, Ogino-Nishimura E, Hiraumi H, Sakamoto T, Yamamoto N, Ito J. Audiometric outcomes of topical IGF1 treatment for sudden deafness refractory to systemic steroids. *Otol Neurotol.* 33. 941-6. 2012
- Yoshida A, Yamamoto N, Kinoshita M, Hiroi N, Hiramoto T, Kang G, Trimble WS, Tanigaki K, Nakagawa T, Ito J. Localization of septin proteins in the mouse cochlea. *Hear Res.* 289. 40-51. 2012
- Yamazaki H, Yamamoto R, Moroto S, Yamazaki T, Fujiwara K, Nakai M, Ito J, Naito Y. Cochlear implantation in children with congenital cytomegalovirus infection accompanied by psycho-neurological disorders. *Acta Otolaryngol.* 132. 420-7. 2012
- Nishimura K, Nakagawa T, Sakamoto T, Ito J. Fates of murine pluripotent stem cell-derived neural progenitors following transplantation into mouse cochleae. *Cell Transplant.* 21. 763-71. 2012
- Hamaguchi K, Yamamoto N, Nakagawa T, Furuyashiki T, Narumiya S, Ito J. Role of PGE-type receptor 4 in auditory function and noise-induced hearing loss in mice. *Neuropharmacology.* 62. 1841-7. 2012
- Eiamprapai P, Yamamoto N, Hiraumi H, Ogino-Nishimura E, Kitamura M, Hirano S, Ito J. Effect of cisplatin on distortion product otoacoustic emissions in Japanese patients. *Laryngoscope.* 122. 1392-6. 2012
- 伊藤壽一：内耳の再生医療。日本医師会雑誌。142;763-766, 2013
- 古田一郎、山本典生、平海晴一、坂本達則、伊藤壽一：耳硬化症に対するアブミ骨手術再手術症例の検討。Otol. Jpn. 23. 131-135. 2013
- Hiraumi H, Yamamoto A, Yamamoto N, Sakamoto T, Ito J. : Detection of the petrosquamosal sinus in chronic otitis media using high-resolution CT. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 149. 488-491. 2013
- Tateya T, Imayoshi I, Tateya I, Hamaguchi K, Torii H, Ito J, Kageyama R. Hedgehog signaling regulates prosensory cell properties during the basal-to-apical wave of hair cell differentiation in the mammalian cochlea. *Development* 40. 3848-3857. 2013
- Hori R, Nakagawa T, Yamamoto N, Hamaguchi K, Ito J. Prostaglandin E receptor subtype EP4 agonist serves better to protect cochlea than prostaglandin E1. *Auris Nasus Larynx.* 534. 539-542. 2013
- Lou XX, Nakagawa T, Ohnishi H, Nishimura K, Ito J. Otospheres derived from neonatal mouse cochleae retain the progenitor cell phenotype after ex vivo expansions. *Neurosci Lett.* 15. 18-23. 2013
- Hayashi Y, Onomoto K, Narita R, Yoneyama M, Kato H, Nakagawa T, Ito J, Taura A, Fujita T. A Virus-induced expression of retinoic acid inducible gene -I and melanoma differentiation-associated gene 5 in the cochlear sensory epithelium. *Microbes Infect.* 132. 592-598. 2013
- Eiamprapai P, Matsumura Y, Hiraumi H, Yamamoto N, Takakura S, Ito J. Rapid detection of bacterial DNA in mastoid granulation tissue with nested-PCR technique. *J Med Assoc Thai.*

96. 460-466. 2013

- Hayashi Y, Yamamoto N, Nakagawa T, Ito J. Insulin-like growth factor 1 inhibits hair cell apoptosis and promotes the cell cycle of supporting cells by activating different downstream cascades after pharmacological hair cell injury in neonatal mice. *Mol Cell Neurosci*. 56. 29-38. 2013
- Kanemaru S, Umeda H, Yamashita M, Hiraumi H, Hirano S, Nakamura T, Ito J. C Improvement of eustachian tube function by tissue-engineered regeneration of mastoid air cells. 123. 472-476. 2013
- Tona Y, Sakamoto T, Nakagawa T, Adachi T, Taniguchi M, Torii H, et al. In vivo imaging of mouse cochlea by optical coherence tomography. *Otol Neurotol*. 2014;35:e84-9.

## 2. 学会発表

2011年

- Ito J. Regeneration Ear Medicine for Inner Ear Disease. 12th Asia-Oceania ORL-HNS Congress, Auckland, New Zealand, The Aotea Centre. Mar 4 2011.
- Ito J. Drug delivery system to the cochlea. The Ear Foundation, Tissue engineering in the auditory system:Paving the way from basic science to clinical practice, London, United Kingdom, The Royal Society. June 2 2011
- Ito J. Development of a novel therapeutic method for sensorineural hearing loss: Implantation of an artificial sensory epithelium. New Trends in Hearing Implant Science - EAS and VSB Workshop in Hakuba. 長野県. June 25-26 2011
- Ito J. Novel Local Drug Delivery System for Treatment of Sensorineural Hearing Loss. CORLAS Collegium Oto-Rhino-Laryngologicum Amicitiae Sacrum 2011. Bruges, Belgium. Sep 7 2011.
- Ito J. Round Table: Looking into the future of otology ; "Micromechanics in otology" 28th Politzer Society Meeting, Athens, Greece. 2011. Sep 29
- Ito J. Plenary Session: Cochlear Implants: Past, present, future ; "Development of a novel therapeutic method for sensorineural hearing loss by a newly-invented artificial auditory epithelium" 28th Politzer Society Meeting, Athens, Greece. 2011. Sep 30
- Ito J. Plenary Address V : Development of a novel therapeutic method for sensorineural hearing loss using an artificial auditory epithelium. 8th Asia Pacific Symposium on Cochlear Implants and Related Sciences (APSCI2011), Daegu, Korea, 2011 Oct 28
- Ito J. Evening Plenary Session : Application of tissue engineering system in the treatment of hearing loss. The 11th US-Japan Symposium on Drug Delivery Systems, Hawaii, U.S.A. 2011 Dec 17
- 伊藤壽一. シンポジウム: 神経再生医療の最前線 「再生医療を応用した内耳障害の治療」 第10回 日本再生医療学会総会. 2011年3月1日. 東京.
- 伊藤壽一. 聞こえの仕組みと難聴の治療方法. 耳の日記念公開講演会. 2011年3月6日. 京都.
- 伊藤壽一. 難聴と再生医療. 日本耳鼻咽喉科学会広島県地方部会・広島県耳鼻咽喉科医会平成23年度総会ならびに学術講演会. 2011年4月16日. 広島.
- 伊藤壽一. 再生医療による難聴の治療. 第41回南大阪耳鼻咽喉科研究会. 2011年7月23日. 大阪.
- 伊藤壽一. 感音難聴治療への新しい取り組みと手術トレーニングについて. 兵庫県耳鼻咽喉科医会総会ならびに第185回臨床懇話会. 2011年7月24日. 神戸.
- 伊藤壽一. 公開シンポジウム: II 感覚器窓外の治療の研究 「聴覚障害の治療の進歩」 日本学術会議臨床医学委員会感覚器分科会 公開シンポジウム 感覚器医学ロードマップ 感覚器障害の克服と支援を目指す10年間中間報告会. 2011年8月9日. 東京.
- 伊藤壽一. 講話: 「難聴の新しい治療法」 京都大学医学部解剖体祭 白菊会総会. 2011年10月20日. 京都.
- 伊藤壽一. 特別講演: 「感音難聴に対する再

- 生医療の応用」日本耳鼻咽喉科学会茨城県地方部会学術講演会。2011年10月30日。茨城県
- ・坂本達則 足立恒道 中川隆之 伊藤壽一。光コヒーレンストモグラフィ(OCT)を用いた非侵襲的な蝸牛描出。第56回日本聴覚医学会。2011/10/27-28, 福岡(口演)
  - ・坂本達則 足立恒道 中川隆之 伊藤壽一。光コヒーレンストモグラフィ(OCT)を用いた蝸牛内部構造の可視化:光源の検討。第21回日本耳科学会。2011/11/24-26, 沖縄(口演)
  - ・田浦晶子、中川隆之、伊藤壽一:内耳障害へのEspin遺伝子導入。第10回日本再生医療学会。2011年3月2日。東京。
  - ・田浦晶子、中川隆之、伊藤壽一:内耳障害におけるPKC経路についての検討。第112回日本耳鼻咽喉科学会。2011年5月19-21日。京都。
  - ・田浦晶子、鳥居紘子、荻野枝里子、扇田秀章、船曳和雄、伊藤壽一。起立性低血圧症の眼球運動所見についての検討。第29回頭頸部自律神経研究会。2011年8月27日。大阪
  - ・田浦晶子、鳥居紘子、清水章子、荻野枝里子、扇田秀章、船曳和雄、伊藤壽一:頸性めまい症例の特徴的検査所見の検討:第12回京滋めまいカンファレンス。2011年10月22日。京都
  - ・田浦晶子、鳥居紘子、荻野枝里子、扇田秀章、船曳和雄、伊藤壽一:眼振ベクトル解析と眼球運動に関する検討:第70回日本めまい平衡医学会。2011年11月16-18日。千葉
  - ・田浦晶子、中川隆之、伊藤壽一、PKC経路活性化による内耳障害治療:第21回日本耳科学会。2011年11月24-26日。沖縄
  - ・扇田秀章、船曳和雄、田浦晶子、鳥居紘子、荻野枝里子、伊藤壽一:Square Drawing Testのコンピュータ化。第112回日本耳鼻咽喉科学会学術集会。2011.5, 京都。
  - ・扇田秀章、船曳和雄、田浦晶子、鳥居紘子、荻野枝里子、伊藤壽一:頸部捻転刺激によるVORへの影響の検討。第13回京滋めまいカンファレンス。2011.10, 京都。
- 2012年
- ・Ito J.:Regeneration medicine for the inner ear diseases. 2nd National Otology and Neurotology Congress, 2012. May 12, Turkey.
  - ・Ito J.:Regeneration medicine for the inner ear disorders. 8th International Academic Conference / Workshop in Otology Rhinology and Laryngology, 2012. August 24, Spain.
  - ・Ito J.: Minisymposium I :New local drug delivery system for treatment of inner ear disorders. CORLAS Collegium Oto-Rhinolaryngologicum Amicitiae Sacrum 2012, 2012. August 28, Italy.
  - ・Ito J.:Poster Session:Inner ear structure analysis using Optical Coherence Tomography (OCT). CORLAS Collegium Oto-Rhinolaryngologicum Amicitiae Sacrum 2012, 2012. August 29, Italy.
  - ・Ito J.: Instruction Course :Regeneration Medicine for Inner Ear Diseases. AAO-HNSF Annual Meeting & OTO EXPO2012, 2012. September 12, Orlando, U.S.A.
  - ・Ito J.:Regeneration Medicine for Inner Ear Disorders. 9th Catholic International Stem Cell Symposium (CISCS), September 15 2012, Korea.
  - ・Ito J.:Session5 Auditory System(inner ear) "Regeneration medicine for inner ear diseases"The 28th International Kumamoto Medical Bioscience Symposium, 2012. November 16, Kumamoto, Japan.
  - ・Ito J.:Regeneration of Inner Ear. The hearFUTURE Workshop, 2012. December 4, Austria.
  - ・伊藤壽一:光コヒーレンストモグラフィ(OCT)を用いた内耳の描出厚生労働省難治性疾患克服研究事業 前庭機能異常に関する調査研究班 H23年度報告会。平成24年1月21日。東京
  - ・伊藤壽一:再生医療による難聴の治療 日本耳鼻咽喉科学会山口県地方部会学術講演会特別講演。平成24年3月15日。
  - ・伊藤壽一:再生医療と難聴の治療 第38回日本耳鼻咽喉科学会滋賀県地方部会総会・学術講演会特別講演。平成24年4月8日。
  - ・伊藤壽一:人工内耳の現状と新しい人工聴覚器の開発 第15回北和耳鼻咽喉科病診連携懇話会。平成24年7月28日。
  - ・伊藤壽一:ランチョンセミナー7「内耳障害の再生医学的アプローチ」第22回日本耳科

- 学会. 平成 24 年 10 月 6 日.
- ・伊藤壽一: Development of a new therapeutic method for hearing loss using anartificial auditory epithelium 熊本内耳再生センター. 平成 24 年 11 月 16 日.
  - ・伊藤壽一: シンポジウム 2 「世界をリードするわが国の再生医療最前線 臨床に学ぶ」再生医学を応用した難聴の治療. 第 4 回先進医療フォーラム. 平成 25 年 1 月 19 日.
  - ・十名洋介, 坂本達則, 谷口美玲, 中川隆之, 伊藤壽一. 光コヒーレンストモグラフィ(OCT)を用いた pendrin ノックアウトマウスにおける内リンパ水腫の観察. *Otology Japan* 2012;22:611.
  - ・十名洋介, 坂本達則, 谷口美玲, 中川隆之, 伊藤壽一. 光コヒーレンストモグラフィ(OCT)を用いた pendrin ノックアウトマウスにおける内リンパ水腫の観察. *Otology Japan* 2012;22:611.
  - ・坂本達則, 足立恒道, 中川隆之, 伊藤壽一. 光コヒーレンストモグラフィ(OCT)を用いた内耳診断の開発 ヒト内耳の描出. *日本耳鼻咽喉科学会会報* 2012; 115:472.
  - ・Sakamoto T, Tona Y, Nakagawa T, Ito J. In vivo visualization of endolymphatic hydrops using optical coherence tomography (OCT) SPIE/BiOS. San Francisco, U.S., 2013.
  - ・田浦晶子, 船曳和雄, 鳥居紘子, 荻野枝里子, 扇田秀章, 伊藤壽一: 頸性めまい症例の特徴的検査所見の検討. 第 10 回姿勢と歩行研究会: 2012
  - ・Taura A, Nakarin A, Nakagawa T, Hayashi Y, Omi E, Ishikawa K, Ito J. Insulin-like growth factor 1 protects vestibular hair cells from aminoglycosides. The 14th Japan-Korean Joint meeting of otorhinolaryngology HNS,: 2012
  - ・田浦晶子, 中川隆之, 伊藤壽一: Espin 遺伝子導入による感覚毛再生. 第 113 回 日本耳鼻咽喉科学会. 2012
  - ・田浦晶子, 中川隆之, 伊藤壽一: Ionophoresis による遺伝子導入についての検討. 第 22 回日本耳科学会. 2012
  - ・田浦晶子, 船曳和雄, 村田浩也, 桐村晋, 鳥居紘子, 荻野枝里子, 松永真美, 清水享子, 伊藤壽一: 眼振ベクトル解析と眼球運動に関する検討 (第二報) 第 13 回京滋めまいカンファレンス: 2012
  - ・田浦晶子, 船曳和雄, 村田浩也, 桐村晋, 荻野枝里子, 鳥居紘子, 伊藤壽一: 眼振ベクトル解析と眼球運動に関する検討 (第 3 報) : 第 72 回日本めまい平衡医学会. 2012
- 2013 年
- ・ Ito J.: Inner Ear Regeneration, Otoprotection and Drug Delivery to the Inner Ear. 11th European Symposium on Paediatric Cochlear Implantation (ESPCI 2013). 2013. May 25, Turkey.
  - ・ Ito J.: Microendoscope to Clarify Applicability of Transtympanic Drug Delivery 20th IFOS World Congress, COEX Convention and Exhibition Center. June 1-5 2013, June 1, Korea.
  - ・ Ito J.: Future Developments in the Diagnosis for Inner Ear Disorders. 20th IFOS World Congress, COEX Convention and Exhibition Center. June 1-5 2013, June 4, Korea.
  - ・ Ito J.: Education Program : Regeneration Medicine for Inner Ear Diseases. AAO-HNSF 2013 Annual Meeting & OTO Expo, Vancouver, BC, Vancouver Convention Centre. September 29- October 2 2013. September 29. Canada.
  - ・ Ito J.: The progression of regeneration therapy for sensorineural hearing loss. New Trends in Hearing Implant Science 2013, Kitaazumino, Hakuba Tokyu Hotel. October 26-27 2013. October 26, Nagano.
  - ・ Ito J.: シンポジウム 2 「世界をリードするわが国の再生医療最前線 臨床に学ぶ」再生医学を応用した難聴の治療. 第 4 回先進医療フォーラム. 平成 25 年 1 月 19 日. 東京都. 京王プラザホテル.
  - ・伊藤壽一: MEMS/NEMS 人工聴覚器による感音難聴治療法開発. 日本障害者リハビリテーション協会 厚生労働科学研究費平成 24 年度障害者対策総合研究事業研究成果発表会 (研究者向け). 平成 25 年 1 月 29 日. 東京都.
  - ・伊藤壽一: 内耳の再生医療. 第 19 回東大・慶大ジョイントカンファレンス. 平成 25 年 2 月 7 日. 東京都.
  - ・伊藤壽一: 聞こえの仕組みと難聴、めまい. 耳の日記念公開講演会. 平成 25 年 3 月 3 日. 京都.
  - ・伊藤壽一: 人工内耳について. 人工内耳相談会 in 宮津市. 平成 25 年 3 月 17 日. 宮津市.
  - ・伊藤壽一: 内耳の再生治療第 11 回山梨めま

- い・難聴・耳鳴研究会 学術集会. 平成 25 年 4 月 25 日. 甲府市.
- ・伊藤壽一: 再生医療による難聴の治療. 日本学術会議市民公開講座「加齢による耳と目の病気と最新治療」. 平成 25 年 5 月 18 日. 札幌市
  - ・伊藤壽一: 内耳障害に対する再生医療の現状. 第 46 回宮崎県耳鼻咽喉科懇話会. 平成 25 年 6 月 13 日. 宮崎市
  - ・伊藤壽一. 内耳の再生医療. 第 21 回 Auris Nasus Larynx 石川. 平成 25 年 10 月 26 日. 金沢市
  - ・Sakamoto T, Tona Y, Nakagawa T, Ito J. In vivo visualization of endolymphatic hydrops using optical coherence tomography (OCT) SPIE/BiOS. San Francisco, U.S., 2013.
  - ・Sakamoto T, Tona Y, Nakagawa T, Ito J. In vivo visualization of endolymphatic hydrops using optical coherence tomography (OCT). ARO MWM 2013. 2013/2/16-20, Baltimore, MD /USA
  - ・Sakamoto T, Tona Y, Taura A, Nakagawa T, Ito J. Visualization of Internal Structures in the Vestibule and the Semicircular Canals using Optical Coherence Tomography (OCT). 50th Inner Ear Biology Workshop (IEB2013). 2013/9/10-13, Alcalá de Henares, Spain
  - ・Taura A, Funabiki K, Torii H, Matsunaga M, Ito J. Characteristic findings of stabilometry in patients with cervical vertigo. 2nd Joint World

Congress of ISPGR and Gait and Mental Function.2013.6.22-26. Akita. Japan.

- ・田浦晶子、中川隆之、伊藤壽一: Espin 遺伝子導入による内耳再生治療. 第 12 回日本再生医療学会. 2013 年 3 月 21 日. 横浜.
- ・田浦晶子、船曳和雄、松永麻美、鳥居絃子、伊藤壽一: メニエール病症例での良性発作性頭位めまい症 (BPPV) 様めまい発作について 2013. 07. 11-12 第 75 回耳鼻咽喉科臨床学会. 神戸
- ・田浦晶子: 未来の前庭障害治療. 第 4 回大阪めまいフォーラム. 2013 年 9 月 7 日. 大阪
- ・田浦晶子、船曳和雄、村田浩也、桐村晋、荻野枝里子、鳥居絃子、伊藤壽一: 眼振ベクトル解析と眼球運動に関する検討: 第 73 回日本めまい平衡医学会. 2013 年 11 月 14 日

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

- 1) 断層画像による生体内構造の位置関係を取得する方法について、特許取得予定
- 2) 眼振解析ソフト (ベクトルグラム) について、特許取得予定

2. 実用新案登録

なし

3. その他

H. 健康危険情報について

特記すべき問題点なし

**研究要旨** メニエール病の病理組織学特徴は内リンパ水腫であり、内耳水代謝機構の破綻ととらえることができる。水代謝に関しては腎臓で詳細な研究がなされ、水チャネルであるアクアポリン(AQP)が多数局在していることが知られている。近年、内耳にもAQPが局在していることが報告され、内耳水代謝機構に深く関与しているとされている。腎臓と同様、内耳液の恒常性維持に抗利尿ホルモン（バゾプレッシン；VP）を介したVP-AQP2システムが介在していることを支持する報告がなされている。このシステムの亢進が内リンパ水腫形成に関与していると考えられている。

これまでに我々は内リンパ嚢閉鎖術を行った動物に抗利尿ホルモン作動薬を投与することで、ヒトのメニエール病の病態にきわめて類似しているモデル動物を作製した。本研究では、これまでほとんど研究されていない前庭・半規管における内リンパ水腫の程度について検討を行い、慢性的な内リンパ嚢閉塞動物を作成し、そこに抗利尿ホルモン作動薬を投与するとより大きな内リンパ水腫が形成されることが判明した。次に、慢性的な内リンパ嚢閉塞動物を用い、VPのレセプターであるV2Rの拮抗的阻害薬を投与したところ、蝸牛・球形嚢において内リンパ水腫軽減効果を認めた。これらの研究から、内リンパ水腫形成にVP-AQP2 systemを介した水代謝機構の破綻が関与していることが考えられ、メニエール病の新しい治療薬としてV2R拮抗的阻害薬が応用できる可能性が示唆された。

さらに、新しい画像検査として、Optical coherence tomography (OCT) を用い、実験的メニエール病モデルモルモットの摘出蝸牛を脱灰して観察したところ、メニエール病の組織学的特徴である内リンパ水腫の詳細な観察ができた。この方法を用いることにより、組織標本作成中に発生するアーチファクトが軽減できることも判明した。メニエール病研究に新たな画像評価法が加わったことになる。

臨床研究では、難治性メニエール病に対しデキサメサゾン（DEX）及びGM鼓室内注入療法を施行した症例についてそれぞれの治療法の効果を検討したところ、DEXでは66.7%、GMでは85.7%にめまい発作の抑制効果が認められた。DEX鼓室内注入療法は、必ずしも全例に効果が認められるわけではないが、難治性メニエール病症例に対して、安全で且つ有効な治療法の1つであると考えられた。GM鼓室内注入療法は、聴力の悪化を認める症例もみられるが、難治性メニエール病症例に対して、めまい症状の改善に関しては有効な治療であると考えられた。治療アルゴリズムとしては、保存的治療に抵抗性のメニエール病症例に対し、まずより低侵襲のDEX鼓室内注入療法を行い、DEX鼓室内注入療法無効例に対しより侵襲的ではあるがより効果の高いGM鼓室内注入療法を行うことが望ましい結果であった。

## A. 研究目的

メニエール病の病理組織学特徴は内リンパ水腫であり、内耳水代謝機構の破綻ととらえることができる。水代謝に関しては腎臓で詳細な研究がなされ、水チャネルであるアクアポリン(AQP)が多数局在していることが知られている。近年、内耳にもAQPが局在していることが報告され、内耳水代謝機構に深く関与しているとされている。腎臓と同様、内耳液の恒常性維持に抗利尿ホルモン（バゾプレッシン；VP）を介したVP-AQP2システムが介在していることを支持する報告がなされている。このシステムの亢進が内リンパ水腫形成に

関与していると考えられている。

本研究では、

1. 内リンパ水腫形成に関与する因子を前庭・半規管に関して検討する。

2. VPのレセプターであるV2Rの拮抗的阻害薬の効果について調べ、メニエール病の病態を解明するとともに、新しい治療薬としてのV2R拮抗的阻害薬の可能性を検討する。

3. Optical coherence tomography (OCT) は非侵襲的に生体の内部構造を観察することができる。この技術の応用によりメニエール病の内耳内部構造の変化を観察可能にし、メニエール病の病態の解析に用いられるように

する。

4. 難治性メニエール病の治療アルゴリズムを確立する。保存的治療に抵抗性のメニエール病症例に対しDEX鼓室内注入療法およびGM鼓室内注入療法をおこない、その効果と治療アルゴリズムを検討する。

## B. 研究方法

1. 内リンパ水腫形成に関与する因子が前庭・半規管におよぼす影響に関する検討

モルモット28匹を使用し、全身麻酔下に左側内リンパ嚢閉塞術を施行。手術後、14匹を1週間、残りを4週間飼育した。両群とも7匹に対し、抗利尿ホルモンV2作動薬であるデスマプレシン $100\mu\text{g}/\text{kg}$ を、残りの7匹には同量の生理食塩水を皮下注射し1時間後に深麻酔下に側頭骨を摘出した。全ての動物の側頭骨標本を作製し、球形嚢、卵形嚢、半規管における膜迷路の占める割合を求め各群間で比較した。統計学的検討はTukey testを用い、危険率5%未満を有意差ありと設定した。

2. VPのレセプターであるV2Rの拮抗的阻害薬の効果に関する検討

モルモット26匹を使用し、これを2群に分け、組織学的検討に14匹、血液学的検討に12匹を用いた。組織学的検討では、すべてのモルモットに左側内リンパ嚢閉塞術を施行後、4週間飼育した。これらの動物を3群に分け、V2R拮抗的阻害薬(OPC-41061  $10\text{mg}/\text{kg}$ )を経口投与した群、V2R拮抗的阻害薬(OPC-41061  $1\text{mg}/\text{body}$ )を鼓室内局所投与した群、コントロールとして生理食塩水を経口投与した群とした。経口投与の2群は、非手術側も組織学的検討に加えた。内リンパ水腫の程度について蝸牛中央階での面積の増加率、アブミ骨底板を含む平面における球形嚢の前庭に占める面積比について組織学的に検討した。

血液学的検査は、OPC-41061  $10\text{mg}/\text{kg}$ を経口投与した群、OPC-41061  $1\text{mg}/\text{body}$ を鼓室内局所投与した群、コントロールとして生理食塩水を経口投与した群について、血漿VP値と血漿浸透圧を各群間で比較検討した。

有意差検定はTukey testを採用し、有意水準5%未満を有意差ありとした。

3. Optical coherence tomography(OCT)を用いた内耳内部構造の観察

OCTは非侵襲的に生体の内部構造を観察することができ、解像度は $10\mu\text{m}$ であり、CT、MRI

と比べ非常に高い。ヒトの応用の前に、動物実験でどこまで解析可能か検討した。実験的メニエール病モデルモルモットを作成し、深麻酔下に側頭骨を摘出し、ホルマリン固定後EDTAで脱灰してOCTにて蝸牛を観察した。その後、パラフィン包埋し、HE標本を作成して両者を比較した。

4. 難治性メニエール病に対するDEX鼓室内注入療法およびGM鼓室内注入療法の比較検討

2006年から2012年の間に保存的治療の効果がみられなかったメニエール病症例21例(男性11例、女性10例;年齢20-81歳)にDEXの鼓室内注入療法を施行した。そして、DEXの鼓室内注入療法無効例4例を含めた7例(男性2例、女性5例;年齢40-75歳)にGM鼓室内注入療法を施行した。

DEXおよびGM鼓室内注入療法を以下に述べる。鼓膜麻酔の後、22Gカテラン針にて鼓膜の後下象限よりデキサメサゾン注射液( $8\text{mg}$ 、 $2\text{ml}$ )もしくはメイロンでPH調整をしたゲンタマイシン( $40\text{mg}$ 、 $1\text{ml}$ )を注入した。注入後、仰臥位にて30分間、注入側を上にした頭位で臥床させた。唾液の嚥下はその間禁止した。

めまいの頻度は、治療前6か月及び治療後12ヶ月の平均発作回数で比較した。聴力は0.5, 1, 2, 4kHzの純音聴力平均で比較した。前庭機能検査は、温度刺激検査( $4^{\circ}\text{C}$ 、 $2\text{mL}$ の冷水、最大緩徐相速度)と前庭誘発頸筋電位検査( $500\text{Hz}$ 、 $4\text{ms}$ のトーンバースト)を行い治療前後で比較した。

(倫理面への配慮)

動物実験は、東京大学大学院医学系研究科動物実験委員会の許可を得ており、NIHの実験動物に関するガイドライン、東京大学の実験動物の取り扱いに関する規定に従い、使用する動物数が最小限となるよう実験計画を工夫している。また対象となる動物が不快、苦痛を感じないように最大限の留意を払う。なお研究参加者は全員東京大学医学系研究科動物実験講習会を受講済みである。

本臨床研究では通常臨床の一環として行うため、治療に関して特別な不利益は生じない。研究計画は倫理委員会の承認を得ている。

## C. 研究結果

1. 内リンパ水腫形成に関与する因子が前

庭・半規管におよぼす影響に関する検討  
メニエール病モデル動物の球形嚢の前庭に対する面積比は、手術後4週間飼育後にデスマブレンシンを投与した群が最も大きな水腫を認め、次いで手術後4週間飼育した動物に有意な内リンパ水腫を認めた。卵形嚢、半規管の骨迷路に対する膜迷路の面積比は、いずれの群間にも統計学的有意差を認めなかった。

2. VPのレセプターであるV2Rの拮抗的阻害薬の効果に関する検討

内リンパ嚢閉塞術後4週間飼育した群では、有意に蝸牛中央階の面積は増加している。しかしながら、手術後にOPC-41061を経口もしくは鼓室内に投与した群では、蝸牛中央階の面積増加率はコントロール群と有意の差を認めなかった。また、OPC-41061を経口投与した群の非手術側も中央階の面積増加率はコントロール群と有意の差を認めなかった。球形嚢においても蝸牛中央階と同様の傾向を認めた。

OPC-41061を10mg/kg経口投与した群、OPC-41061を1mg/body鼓室内局所投与した群、コントロールとして生理食塩水を経口投与した群における血漿抗利尿ホルモン値と血漿浸透圧の平均値は、各群間に有意の差を認めなかった。

3. Optical coherence tomography(OCT)を用いた内耳内部構造の観察

実験的メニエール病モデルモルモットでは、OCTによりライスネル膜の膨隆を認め、内リンパ水腫が確認され、HE染色標本で見られるのと同様の形態が確認された。しかし、HE染色では組織標本作成にかかわるアーチファクトがみとめられた。一方、OCT画像にはHE染色で認められるアーチファクトは認められなかった。

4. 難治性メニエール病に対するDEX鼓室内注入療法およびGM鼓室内注入療法の比較検討

DEX鼓室内注入療法を施行した21例中14例において、めまい症状の消失あるいは改善が認められ、改善率は66.7%であった。一方、GM鼓室内注入療法を施行した7例中6例において、めまい症状の消失あるいは改善が認められ、改善率は85.7%であった。無効例では罹病期間が有効例よりも長く、患側の難聴が進行している傾向がみられた。GM鼓室内注入療法を施行した7例中4例はDEX鼓室内注入療法無効例、

残りの3例は患側高度難聴であった症例と中等度～高度の半規管麻痺及びVEMP無反応であった症例で、GM鼓室内注入療法を第一選択とした。

#### D. 考察

1. 内リンパ水腫形成に関与する因子が前庭・半規管におよぼす影響に関する検討

抗利尿ホルモンは2型受容体(V2R)に結合するとAQP2が細胞膜上に移動し、浸透圧勾配にしたがって水が移動する。これまでの研究から、蝸牛・前庭・半規管・内リンパ嚢にはV2R、AQP2の発現が確認されている。

内リンパ嚢を傷害することにより内リンパの吸収が障害され、加えて抗利尿ホルモンを投与することにより、より高度の内リンパ水腫が形成されたと考える。このことは、メニエール病患者の内リンパ嚢が線維化を起こしていたり発育不全を認めたりしていること、さらに、めまい発作時に抗利尿ホルモン値が上昇していることに類似している。今回の検討では、球形嚢にのみ有意な内リンパ水腫を認め、卵形嚢・半規管には認めなかった。原因としては、浸透圧勾配、AQP2の発現量、蝸牛における内リンパ水腫の影響などの違いが予想される。

2. VPのレセプターであるV2Rの拮抗的阻害薬の効果に関する検討

メニエール病の発症に抗利尿ホルモンのV2R効果が関与するならば、V2R拮抗薬はメニエール病の治療薬となりうると考え、メニエール病モデル動物におけるV2R拮抗薬(OPC-41061)の効果について検討した。内リンパ嚢閉塞術後4週間飼育したメニエール病モデル動物は、蝸牛、球形嚢ともに明らかな内リンパ水腫を認めた。OPC-41061を10mg/kg経口投与した群、OPC-41061を1mg/body鼓室内局所投与した群ともに手術単独群と比較してV2R拮抗的阻害薬投与による水腫軽減効果を認め、内リンパ腔の大きさはコントロール群と有意差を認めなかった。このことは、内耳に認められているV2Rを介した水代謝機構が働いている可能性が示唆された。内リンパ嚢閉塞術を行わないでOPC-41061を10mg/kg経口投与した群の内リンパ腔の大きさは、蝸牛、球形嚢ともコントロール群と有意の差を認めなかった。このことは、OPC-41061は正常内耳

には内リンパ腔容積を変化させるほどの影響を与えないと考えられる。血液学的検索では、OPC-41061を10 mg/kg経口投与した群、OPC-41061を1mg/body鼓室内局所投与した群、コントロールとして生理食塩水を経口投与した群間で、血漿抗利尿ホルモン値と血漿浸透圧は有意の差を認めなかった。このことは、今回の実験で採用したOPC-41061の投与方法および投与量は、全身状態に影響を与えることなく内リンパ水腫軽減効果を有すると考えられる。

今後さらなる研究を行うことにより、メニエール病の新しい治療薬としてV2R拮抗的阻害薬が応用できる可能性が示唆された。

### 3. Optical coherence tomography (OCT)を用いた内耳内部構造の観察

これまでにも実験動物の蝸牛をOCTにて観察した報告は存在するが、いずれも骨壁により探查光が減弱し十分に内部構造を映し出すことに成功していない。本研究では蝸牛を脱灰することにより内リンパ水腫を鮮明に描出することができた。また、一般的に行われている組織標本作成に要する過程を大幅に短縮しており、これらによるアーチファクトを最小限に抑えることができた。このことは、内リンパ水腫の程度を計測するうえで極めて重要な点であり、より正確な内リンパ水腫の評価を行うことができる。また、パラフィンなどに包埋することなく観察できるので、観察後すぐに分子生物学的手法を用いた研究に使用することも大きな利点である。

### 4. 難治性メニエール病に対しするDEX鼓室内注入療法およびGM鼓室内注入療法の比較検討

保存的治療にてめまい発作をコントロールできない難治性メニエール病に対する加療の一つとしてDEX鼓室内注入療法を施行した報告は多く、本検討でのめまいの改善率は諸家の報告と同等程度であった。一方、GM鼓室内注入療法におけるめまいの改善率も諸家の報告同様90%弱であった。今回の結果より、難治性メニエール病に対する鼓室内注入療法の適応として、DEX鼓室内注入療法は比較的聴力が保たれており、難聴の進行を防ぎたい場合や両側例もしくはGM鼓室内注入療法の前段階の治療として検討する場合等が挙げられる。GM

鼓室内注入療法は一側性（良聴耳ではない）、中等度以上の一側前庭障害を有する例、DEX鼓室内注入療法無効例などが挙げられる。

## E. 結論

1. 実験的内リンパ水腫動物において、球形嚢では有意な内リンパ腔増大を認めたが、卵形嚢、半規管膨大部では有意差を認めなかった。内リンパ嚢閉塞後にデスマブレッシンを投与することにより、より大きな水腫が形成され、内リンパ嚢の機能障害に抗利尿ホルモンV2効果が加わることで内リンパ水腫が増悪すると考えられる。

2. 実験的内リンパ水腫動物にV2R拮抗的阻害薬を投与すると内リンパ水腫が軽減された。内リンパ水腫形成にVP-AQP2 systemを介した水代謝機構の破綻が関与していることが考えられ、メニエール病の新しい治療薬としてV2R拮抗的阻害薬が応用できる可能性が示唆された。

3. OCTは組織標本作成にかかわるアーチファクトを軽減でき、より簡便に蝸牛形態を観察できることが利点である。また、パラフィンなどに包埋することなく観察できるので、観察後すぐに分子生物学的手法を用いた研究に使用することも大きな利点である。

4. 保存的治療で効果のみられない難治性メニエール病症例に対して鼓室内注入療法を施行した。DEXでは66.7%の症例において、GMでは85.7%の症例において、めまい発作の抑制効果が認められた。DEX鼓室内注入療法は、必ずしも全例に効果が認められるわけではないが、難治性メニエール病症例に対して、安全かつ有効な治療法の1つであると考えられた。GM鼓室内注入療法は、聴力の悪化を認める症例もみられるが、難治性メニエール病症例のめまい症状の改善に関しては有効な治療であると考えられた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

・Kakigi A, Okada T, Takeda T, Takeda S, Nishioka R, Taguchi D, Nishimura M, Yamasoba T. Endocytosis of cationized ferritin in marginal cells of the stria vascularis is regulated by protein kinase, protein phosphatase, and MEK/ERK and PI3-K signaling pathways. *Otol*

- Neurotol. Jul;32(5):856-62, 2011.
- 柿木章伸. 温度性眼振検査、電気眼振図の諸検査. JHONS 27:761-767, 2011.
  - 柿木章伸. 自己免疫疾患. MB ENT136:45-51, 2012.
  - Yasui T, Iwasaki S, Sugasawa K, Sakamoto T, Kashio A, Suzuki M, Kakigi A, Yamasoba T. Admittance tympanometry with 2-kHz probe tones in patients with low-frequency hearing loss. Laryngoscope. 2012 Oct;122(10):2252-5.
  - Takumida M, Kakigi A, Egami N, Nishioka R, Anniko M. Localization of aquaporins 1, 2, and 3 and vasopressin type 2 receptor in the mouse inner ear. Acta Otolaryngol. 2012 Aug;132(8):807-13.
  - Takeda T, Takeda S, Egami N, Kakigi A, Nishioka R, Yamasoba T. Type 1 allergy-induced endolymphatic hydrops and the suppressive effect of leukotriene receptor antagonist. Otol Neurotol. 2012 Jul;33(5):886-90.
  - 西岡 利恵, 柿木 章伸, 小森 正博, 小林 泰輔, 兵頭 政光. ラット蝸牛における AQP の発現. 頭頸部自律神経 26 巻 37-39 2012
  - 田口 大藏, Loewenheim Hubert, 柿木 章伸, 竹田 泰三, 北野 博也. ラット内リンパ嚢内腔上皮細胞に対する ADH および V2 受容体拮抗薬の効果. 頭頸部自律神経 26 巻 34-36 2012
  - Kakigi A, Takubo Y, Egami N, Kashio A, Ushio M, Sakamoto T, Yamashita S, Yamasoba T. Evaluation of the internal structure of normal and pathological Guinea pig cochleae using optical coherence tomography. Audiol Neurootol. 18(5):335-43, 2013
  - Egami N, Kakigi A, Sakamoto T, Takeda T, Hyodo M, Yamasoba T. Morphological and functional changes in a new animal model of Ménière's disease. Lab Invest. 93(9):1001-11, 2013
  - Takumida M, Takumida H, Kakigi A, Egami N, Nishioka R, Anniko M. Localization of aquaporins in the mouse vestibular end organs. Acta Otolaryngol. 133(8):804-13, 2013
2. 学会発表
- 田口大藏, Hubert Loewenheim, 柿木章伸, 竹田泰三, 北野博也. ラット内リンパ嚢内腔上皮細胞に対する ADH および V2 受容体拮抗薬の効果. 第 112 回日本耳鼻咽喉科学会総会ならびに学術講演会 2011. 05. 19-21 京都
  - Kakigi A, Egami N, Sakamoto T, Nishioka R, Hyodo M, Takeda T, Yamasoba T. A new animal model for Meniere's disease. 48th Inner Ear Biology Workshop. Lisbon, Portugal, 2011. 9. 18-21
  - 田口大藏, Hubert Loewenheim, 柿木章伸, 竹田泰三, 北野博也. ラット内リンパ嚢内腔上皮細胞に対する AQP2 および AQP3 の免疫組織学的局在. 第 70 回日本めまい平衡医学会総会・学術講演会 2011. 11. 16-18 佐倉
  - 西村将彦, 柿木章伸, 竹田泰三, 土井勝美, 兵頭政光. 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 回日本耳科学会総会・学術講演会, 2011. 11. 24-26 沖縄
  - 江上直也, 柿木章伸, 竹田泰三, 西岡利恵, 山岨達也. 内リンパ嚢におけるロイコトリエン受容体の発現について. 第 21 回日本耳科学会総会・学術講演会, 2011. 11. 24-26 沖縄
  - 浦田真次, 檜尾明憲, 江上直也, 狩野章太郎, 坂本幸士, 柿木章伸, 岩崎真一, 山岨達也. 髄膜炎をきたした内耳奇形症例に対する部分的内耳充填術: キヌタ骨長脚による plugging. 第 21 回日本耳科学会総会・学術講演会, 2011. 11. 24-26 沖縄
  - 柿木章伸, 江上直也, 坂本幸士, 西岡利恵, 兵頭政光, 山岨達也. 実験的内リンパ水腫動物にめまいは起きるか? 第 21 回日本耳科学会総会・学術講演会, 2011. 11. 24-26 沖縄
  - 柿木章伸, 山下真司, 田久保勇, 檜尾明憲, 江上直也, 牛尾宗貴, 坂本幸士, 兵頭政光, 山岨達也. 光コヒーレンストモグラフィ (OCT) を用いた蝸牛形態の検討. 第 113 回日本耳鼻咽喉科学会総会ならびに学術講演会 2012. 5. 新潟
  - 柿木章伸. 耳科学基礎研究の新展開 Optical Coherence Tomography を用いた蝸

牛形態の検討. 第 22 回日本耳科学会総会・学術講演会. 2012. 10. 名古屋

- ・柿木章伸、山嵜達也. 抗利尿ホルモン V2 作動薬デスモプレシンが DPOAE におよぼす影響. 第 57 回日本聴覚医学会総会・学術講演会. 2012. 10. 京都
- ・柿木章伸. 「内リンパ水腫と水代謝」 ―基礎から臨床まで―. 第 7 1 回日本めまい平衡医学会総会・学術講演会. 2012. 11. 東京
- ・江上直也、柿木章伸、竹田泰三、兵頭政光、山嵜達也. メニエール病モデル動物における V2R 拮抗的阻害薬の効果に関する検討. 第 7 1 回日本めまい平衡医学会総会・学術講演会. 2012. 11. 東京
- ・田口大蔵、柿木章伸、竹田泰三、北野博也. ラット内リンパ嚢における AQP11 の発現. 第 7 1 回日本めまい平衡医学会総会・学術講演会. 2012. 11. 東京
- ・Kakigi A. Role of Vasopressin-Aquaporin2 System in the Formation of Endolymphatic Hydrops and its Clinical Pictures. the 20th World Congress of The International Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies, 2013. 6. 1-5, Seoul, Korea.
- ・柿木章伸、山嵜達也. 内リンパ嚢閉塞術と抗利尿ホルモン V2 作動薬によるメニエール病モデル動物の DPOAE (第 1 報). 第 58 回日本聴覚医学会総会・学術講演会. 2013. 10. 24-25. 長野
- ・柿木章伸、田久保勇也、江上直也、坂本幸士、山下真司、山嵜達也. Optical Coherence Tomography による蝸牛内部構造のリアルタイム観察. 第 23 回日本耳科学会総会・学術講演会. 2013. 11. 24-26. 宮崎

## 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

## これまでの研究の流れについて

临床上メニエール病の発症にはストレスが関与していることが知られている。そこで、メニエール病患者に対しストレスに関するホルモンを測定したところ抗利尿ホルモンが異常高値を示した。この結果から、抗利尿ホルモンが内耳に作用することによりメニエール病発作が発症するという仮説を立てた。この仮説に基づき、内耳に抗利尿ホルモン V2 受容体 (V2R) が存在することを免疫組織化学的に証明した。抗利尿ホルモンは水チャネルであるアクアポリン 2 (AQP2) を発現させ水輸送に関与しているため、内耳での AQP ファミリーの発現を証明した。特に、内リンパの産生部位である蝸牛血管条と吸収部位である内リンパ嚢には多数の AQP が存在しており、内耳液の恒常性に関与していることが示唆される所見であった。

実際に抗利尿ホルモンが内耳に作用しているか否かを検討する目的で、抗利尿ホルモンを実験動物に投与しメニエール病の病理組織学的特徴である内リンパ水腫が形成されることを証明、V2R 阻害薬にて内リンパ水腫が軽減されることを示した。

しかし、抗利尿ホルモン単独投与で形成される内リンパ水腫は中等度までであり、高度の水腫は認められない点が問題であった。

これまでの報告では、臨床ではメニエール病患者の内リンパ嚢には発育不全や線維化が認められており、動物実験では内リンパ嚢閉塞術にて内リンパ水腫が形成される。これらのことより、内リンパ嚢の機能不全が内リンパ水腫形成の一因と考えられる。そこで、よりメニエール病の臨床像に近いモデル動物を作成する目的で、内リンパ嚢閉塞術による内リンパ嚢機能不全を作成した後に抗利尿ホルモン V2 作動薬を投与した。この新たなモデル動物には、より高度の水腫と自発眼振と体平衡異常が誘発され、ヒトのメニエール病に極めて近い病態を呈した。

上述の研究成果は、メニエール病の発作に内リンパ嚢の機能不全と抗利尿ホルモンの異常高値が深く関与することを示唆するものである。