

令和 3 年 5 月 24 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09378

研究課題名(和文)OCTを用いた内リンパ水腫軽減効果のin vivoイメージングに関する研究

研究課題名(英文)In vivo imaging of decompression effect on endolymphatic hydrops by OCT

研究代表者

柿木 章伸(Kakigi, Akinobu)

神戸大学・医学研究科・特命教授

研究者番号：60243820

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究において正常および内リンパ水腫モルモットの蝸牛内部構造をin vivoで観察することができた。メニエール病の治療薬であるイソソルビドを鼓室内投与することにより、正常および内リンパ水腫モルモットの中央階の容積を軽減することができた。正常モルモットの蝸牛では、イソソルビド鼓室内投与の効果は、ライスネル膜が平坦化するにとどまるといった軽微なものであった。内リンパ水腫モルモットの蝸牛では、イソソルビド鼓室内投与の内リンパ水腫軽減効果はより強かった。これらの中央階容積の軽減効果は濃度依存性であった。これらの結果からイソソルビドの鼓室内投与はメニエール病治療のひとつの選択肢の可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

OCTを用いた蝸牛内構造のin vivoイメージングは他に報告がなく本研究の独創的な点である。また、メニエール病の治療を薬剤の鼓室内投与によって行うことは全身投与に比べ副作用のリスクが軽減できることが利点である。本研究ではメニエール病の治療薬の効果をリアルタイムに観察できたことが新たな点であり、種々の薬物の効果判定にも役立つことが期待できる。

研究成果の概要(英文)：We could visualize the internal structures of the normal and hydropic cochleae of guinea pigs in vivo by using OCT. Intratympanic administration of isosorbide, the therapeutic agent for Meniere's disease, decreased the size of the scala media both in the normal and hydropic cochleae. In the normal cochlea, intratympanic administration of isosorbide seems to have minimal effect on the cochlea, because Reissner's membrane became only flat. In the hydropic cochlea, intratympanic administration of isosorbide decreased the hydrops rapidly and strongly. These effects on the scala media were concentration-dependent. These results indicate that middle ear instillation of isosorbide may become another option for the treatment of Meniere's disease.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：メニエール病 内リンパ水腫 鼓室内投与 OCT イソソルビド

### 1. 研究開始当初の背景

メニエール病の病理組織学的な特徴は内リンパ水腫である。したがって、メニエール病の根本的な治療に内リンパ水腫の軽減が挙げられる。これまでに内リンパ水腫軽減作用を有する薬剤として、浸透圧利尿薬、抗利尿ホルモン拮抗薬に関する研究を行ってきたが、いずれの研究も組織標本による内リンパ水腫軽減効果の観察であり、一個体内での薬物効果の観察は行っていない。近年、我々は、OCTを用いた蝸牛内部構造の観察を行っており、生体モルモット蝸牛の内部構造の観察にも成功した。そこで、本研究では内リンパ水腫軽減効果を一個体内でリアルタイムに観察することでより詳細な薬物効果を検討することとした。もう一つの本方法の利点としては、一個体から薬物投与前後のデータが取れるので、実験動物の数を減少させることが挙げられる。動物愛護の点からも優れた手法と考えられる。

これらに関する研究を行うに当たって、まず、これまで我々が行ってきた薬物投与による内リンパ水腫軽減効果とOCTを用いた蝸牛内部構造の観察に関する研究の結果を以下に示す。

・浸透圧利尿薬の経口投与により内リンパ水腫軽減効果を認めた。イソソルビドはグリセロールなどに認められるリバウンド現象を認めないので治療薬として適していることを報告。(ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec. 2004;66(6):291-6. Auris Nasus Larynx. 2009 Apr;36(2):146-51.)

・抗利尿ホルモン 2 型受容体拮抗薬の内リンパ水腫軽減効果に関する研究。抗利尿ホルモン 2 型拮抗薬投与により、内リンパ水腫軽減はされるが、経口投与よりも鼓室内投与が効果が強く、副作用が出現しないことを報告。(Hear Res. 2003 Aug;182(1-2):9-18. Hear Res. 2006 Aug;218(1-2):89-97. Acta Otolaryngol. 2009 Jul;129(7):709-15. Hear Res. 2016 Feb;332:151-9.)

・OCTを用いて正常および傷害蝸牛の内部構造が脱灰標本を用いることで観察でき、脱水やパラフィンなどへの包埋を行わないのでより生体条件に近い構造が観察できることを報告。(Audiol Neurootol. 2013;18(5):335-43.)

これまで行ってきた研究から、抗利尿ホルモン 2 型受容体拮抗薬や臨床で多く用いられている浸透圧利尿薬には内リンパ水腫軽減効果があることが証明された。また、OCTは、よりアーチファクトの少ない構造観察ができることが分かった。

今回の研究では、浸透圧利尿薬と抗利尿ホルモン 2 型受容体拮抗薬の内リンパ水腫軽減作用をより詳細に検証するために、OCTを用いて内耳膜迷路の変化を観察および計測する。OCTに関しては図 1 に示すごとく先行研究にて蝸牛内構造物の描出に成功している。さらに、図 2 に示すように生体モルモットの蝸牛内構造物の描出にも成功している。骨壁の厚い基底、第 2 回転は描出できない。第 3 回転は動物によって異なる。

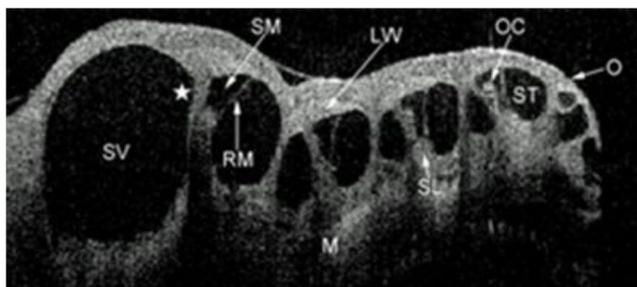


図 1 正常モルモット蝸牛の OCT 画像



図 2 生体モルモット蝸牛の OCT 画像 頂回転、第 3 回転の内部構造が観察されている。

本研究の問いは、メニエール病の治療薬を投与することにより、本当に内リンパ水腫が軽減されているか、また、どの様な時間経過で薬理効果が発現しているかである。これを解明す

るために、生体蝸牛でリアルタイムに OCT にて薬理効果の観察を行う。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、メニエール病の治療薬の内リンパ水腫軽減効果を in vivo で OCT を用いて観察し、薬理効果とその発現様式を解明することにより、治療薬の効果判定に役立てることである。さらに、メニエール病の新しい治療薬となる可能性がある薬剤の評価を行うことである。学術的独自性と創造性については、方法論としては、OCT は主に眼科、皮膚科、循環器領域で研究が行われているが、内耳における研究は我々の報告を含め僅かに認めるのみである。さらに、OCT を用いて in vivo で内リンパ水腫の変化を観察し、その程度を評価した報告は無い。これらの点が本研究の特色であり、独創的な点でもある。

## 3. 研究の方法

浸透圧利尿薬の内リンパ水腫軽減効果に関する研究

実験 1：モルモットを深麻酔下に後頭開頭、内リンパ嚢を露出後、内リンパ嚢を電気凝固し、内リンパ嚢閉塞術を行う。その後、4 週間飼育し、内リンパ水腫モルモットを作成する。この内リンパ水腫モルモットを深麻酔下に頭部固定器に固定し、腹側アプローチにて中耳骨胞を開放し蝸牛を露出させる。OCT にて蝸牛内部構造の観察を行い、内リンパ腔の増加率を計測する。

実験 2：内リンパ水腫モルモットに浸透圧利尿薬であるイソソルビドを種々の濃度に調整して中耳骨法内に投与し、OCT にて蝸牛内部構造の観察を行い、各濃度の内リンパ水腫軽減作用を計測する。

## 4. 研究成果

実験 1.

正常と内リンパ水腫モルモットの蝸牛内部構造を OCT を用いて in vivo で観察し、内リンパ腔の増加率を計測すると、正常動物では  $21.1 \pm 6.0\%$  (n=3)、内リンパ水腫動物では  $75.6 \pm 17.8\%$  (n=5)であった。

正常と内リンパ水腫モルモットの蝸牛内部構造を OCT を用いて in vivo で観察することができた。

実験 2.

正常と内リンパ水腫モルモットに浸透圧利尿薬であるイソソルビドを種々の濃度に調整して中耳骨法内に投与し、OCT にて蝸牛内部構造の in vivo 観察を計測すると図 3.4 の結果を得た。いずれのモルモットもイソソルビドの内リンパ腔軽減効果はあったが、内リンパ水腫モルモットにおける効果が大きかった。

今回の結果より、イソソルビドの鼓室内投与はメニエール病の治療の新しい選択肢の可能性がある。

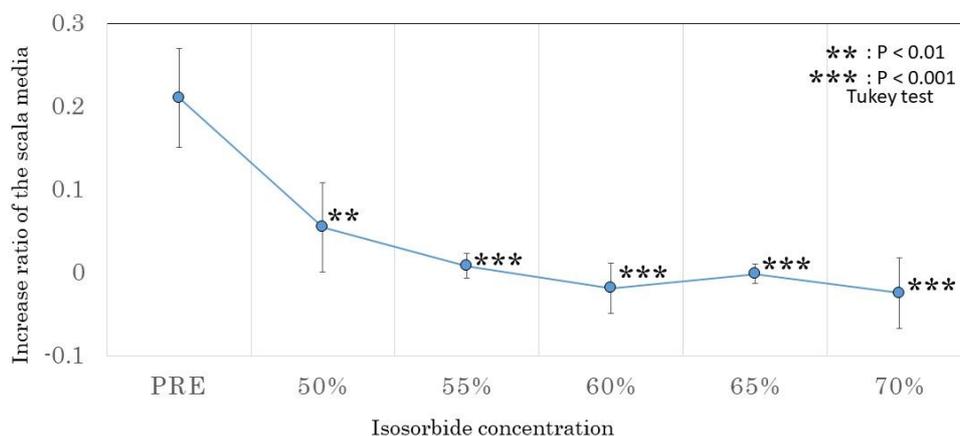


図 3 正常モルモットにおける中央階の増加率

PRE: イソソルビド投与前、50-70%: イソソルビドの濃度

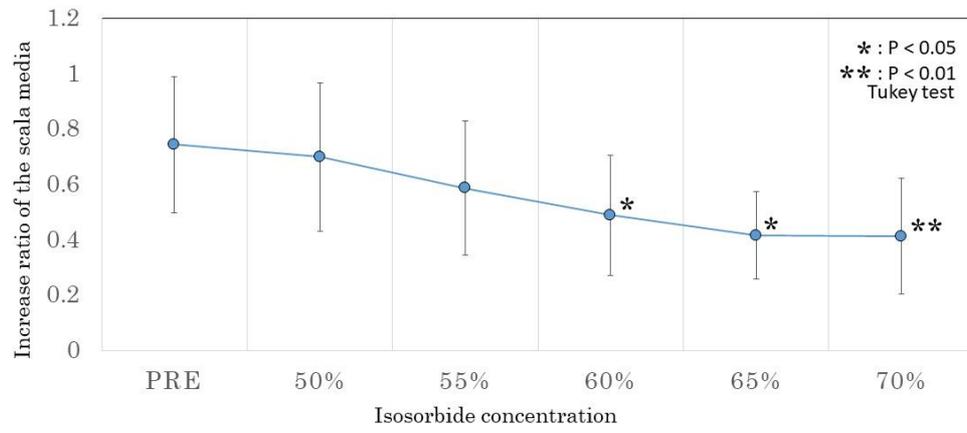


図4 内リンパ水腫モルモットにおける中央階の増加率

PRE: イソソルビド投与前、50-70%: イソソルビドの濃度

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kakigi Akinobu, Okada Teruhiko, Takeda Taizo, Uehara Natsumi, Nibu Ken-ichi	4. 巻 46
2. 論文標題 Endocytosis of CF in marginal cells of stria vascularis regulated by ROCK and MLCK signaling cascade, but not G-proteins	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx	6. 最初と最後の頁 790 ~ 796
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.anl.2019.01.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takeda Taizo, Takeda Setsuko, Kakigi Akinobu	4. 巻 47
2. 論文標題 A possible mechanism of the formation of endolymphatic hydrops and its associated inner ear disorders	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx	6. 最初と最後の頁 25 ~ 41
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.anl.2019.09.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Taizo Takeda, Setsuko Takeda, Akinobu Kakigi, Naoya Egami, Rie Nishioka, Natsumi Uehara, Ken-ichi Nibu	4. 巻 1(2)
2. 論文標題 Histamine-Induced Endolymphatic Hydrops	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Otolaryngology: Research	6. 最初と最後の頁 120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kakigi Akinobu, Egami Naoya, Uehara Natsumi, Fujita Takeshi, Nibu Ken-ichi, Yamashita Shinji, Yamasoba Tatsuya	4. 巻 10
2. 論文標題 Live imaging and functional changes of the inner ear in an animal model of Meniere's disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 12271
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-68352-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Akinobu Kakigi, Naoya Egami, Takuma Shirahata, Shinji Yamashita, Ken-ichi Nibu, Tatsuya Yamasoba
2. 発表標題 Cochlear Function in New Animal Model of Meniere ' s Disease
3. 学会等名 AAO-HNSF Annual Meeting & OTO Experience (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Akinobu Kakigi
2. 発表標題 Pathophysiology of Meniere ' s disease
3. 学会等名 the 6th East Asian Symposium on Otology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Akinobu Kakigi
2. 発表標題 Cochlear function in new animal model of Meniere's disease
3. 学会等名 17th KJMM ORL-HNS Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 柿本章伸
2. 発表標題 発眼振検査-メニエール病の病態
3. 学会等名 第30回日本耳科学会総会学術講演会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	江上 直也 (Egami Naoya)		
研究協力者	白畑 卓磨 (Shirohata Takuma)		
研究協力者	山下 真司 (Yamashita Shinnji)		
研究協力者	山岨 達也 (Yamasoba Tatsuya)		
研究協力者	藤田 岳 (Fujita Takeshi)		
研究協力者	上原 奈津美 (Uehara Natsumi)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------