

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19591977

研究課題名（和文） メニエール病における発作発生と治療効果発現の機序に関する研究

研究課題名（英文） Studies of a possible mechanism underlying the attack of Meniere's disease and its treatment

研究代表者

柿木 章伸（KAKIGI AKINOBU）

高知大学・教育研究部医療学系・講師

研究者番号：60243820

研究成果の概要：

メニエール病の発作と内リンパ水腫の関連を調べたところ、内リンパ水腫が形成されている時期にめまいが発生していることが分かった。つぎに、抗利尿ホルモンと内リンパ水腫の関連を検討し、抗利尿ホルモンが内耳の血管条に作用することによって内リンパ水腫が形成されることを示唆する結果を得た。さらに、抗利尿ホルモンの阻害剤を投与することによって抗利尿ホルモンの血管条への作用は起こらなかった。最後に、内リンパ液の吸収部位である内リンパ嚢において、水分代謝に関与している水チャネル（AQP）を検討し、抗利尿ホルモンによって制御されている AQP2 をはじめ多くの AQP が発現していることが分かった。

これらの結果は、メニエール病の発作と抗利尿ホルモンが深く関与しており、抗利尿ホルモンの阻害剤がメニエール病の治療薬となる可能性を示唆している。また、メニエール病の治療薬である浸透圧利尿剤は、AQP を介して内リンパ水腫を軽減させていることを示唆する結果であった。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	3,300,000	990,000	4,290,000
2008年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：メニエール病、内リンパ水腫、抗利尿ホルモン、水チャネル、めまい発作、自発眼振

1. 研究開始当初の背景

内耳のイオン環境は、内リンパ腔が高カリウム低ナトリウム、外リンパ腔が低カリウム高ナトリウムといった具合に他の器官に比べ特異的である。メニエール病の病理組織学的

特徴が内リンパ水腫であることは良く知られているが、内リンパ水腫形成時に内耳のイオン環境がいかに変化するかについては、未だ十分な基礎データは蓄積されていない。メニエール病の発作が、このイオン環境の破

綻によって誘発されるか否かについて解明するためには、内リンパ水腫形成時の内耳イオン濃度の変化を明らかにする必要がある。

2. 研究の目的

メニエール病の発作が内リンパ水腫によって発生するか否かを明らかにする。さらに、内リンパ水腫形成時の内耳の状態を詳しく検討し、発作の起きる機序を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) モルモットの内リンパ管および囊を閉鎖し内リンパ水腫動物を作成する。

この手術の前後で自発眼振を経時的に測定する。測定終了後側頭骨を光学顕微鏡にて観察し、内リンパ水腫の有無を検討する。

(2) ラットに抗利尿ホルモンを投与し、血管条の構造変化を電子顕微鏡にて観察する。

(3) ラットに事前に抗利尿ホルモンの阻害剤を投与したのち、抗利尿ホルモンを投与し、血管条の構造変化を電子顕微鏡にて観察する。

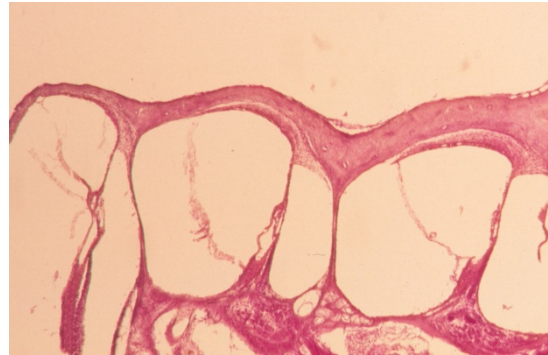
(4) ラットの内リンパ囊に水チャネル(AQP)が存在するか否かを蛍光抗体法を用いて蛍光顕微鏡にて観察する。

4. 研究成果

(1) 内リンパ管および囊閉塞術を行った動物において術後1週目から自発眼振を認める動物が出現した。2週目以降で自発眼振を認める動物の割合が増加した(表1)。組織学的検討において、眼振を認めた動物の内耳に、内リンパ水腫が認められた(図1)。これらの結果から、内リンパ水腫形成時期にめまい発作が誘発されていると考えられた。自発眼振を経時的に追った報告はなく、この研究の独創的な点である。メニエール病の病理組織学的特徴である内リンパ水腫とめまい発作との関連を支持する研究結果であった。

	術後経過期間(週目)			
	0	1	2	4
自発眼振出現率(%)	0	20.0	26.7	33.3

表1 術後経過期間と自発眼振出現率



(2) 抗利尿ホルモン投与により、血管条は投与後20分をピークとする細胞間隙の拡大や中間細胞の浮腫状変化を認めた(図2)。この変化は60分後には消失していた。抗利尿ホルモンが血管条に作用し、血管条内に水が流入してきたことを示す結果と考えられる。血管条に対する抗利尿ホルモンの影響に関する報告はこれまでになく、抗利尿ホルモンと内リンパ水腫の関連を支持する結果と考える。

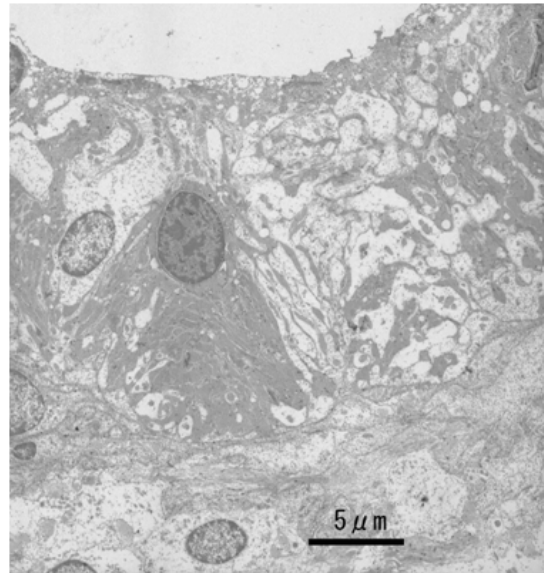


図2 抗利尿ホルモン投与後20分の血管条細胞間隙の拡大と中間細胞の浮腫状変化を認める。

(3) 抗利尿ホルモンの阻害剤の前投与により、血管条に対する抗利尿ホルモンの効果は打ち消された(図3)。(2)の結果は抗利尿ホルモンのレセプターを介した作用であることを示唆する結果である。すなわち、抗利尿ホルモンが2型レセプターに結合しAQP2が発現したために引き起こされた現象と考える。

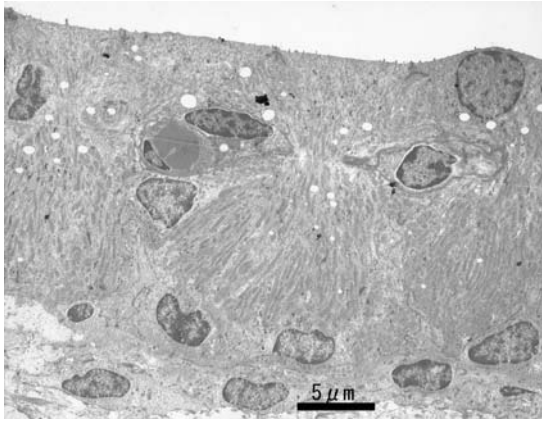


図3 抗利尿ホルモン阻害剤の前投与による抗利尿ホルモンの血管条におよぼす影響
抗利尿ホルモンの効果は打ち消されている。

(4) 内リンパ液の吸収部位と考えられる内リンパ囊に AQP2 をはじめとする AQP1-4、6-9 が発現していることが分かった (図 4-7、9-12)。AQP5 は内リンパ囊上皮には発現を認めなかった (図 8)。このことは、内リンパ囊が内リンパ液吸収に関与していることを示唆する結果である。

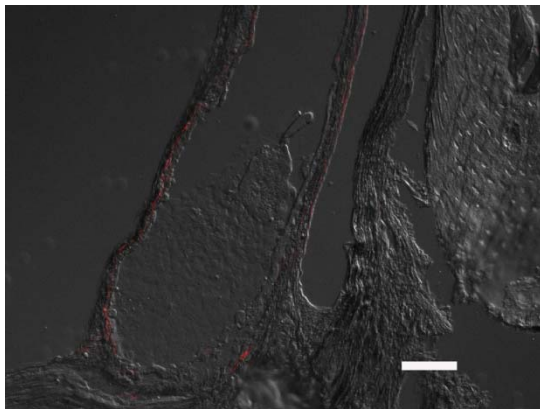


図4 AQP1 の内リンパ囊上皮における発現
AQP1 蛋白の発現を内リンパ囊上皮に認める。

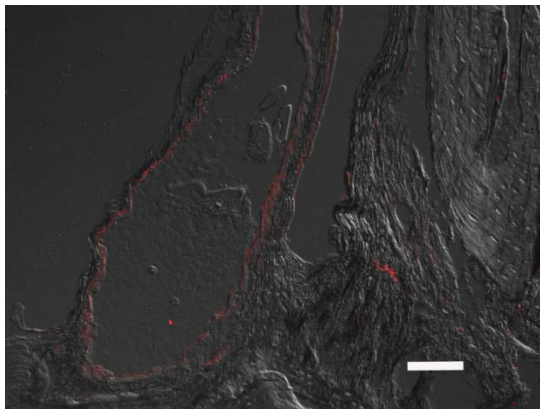


図5 AQP2 の内リンパ囊上皮における発現
AQP2 蛋白の発現を内リンパ囊上皮に認める。

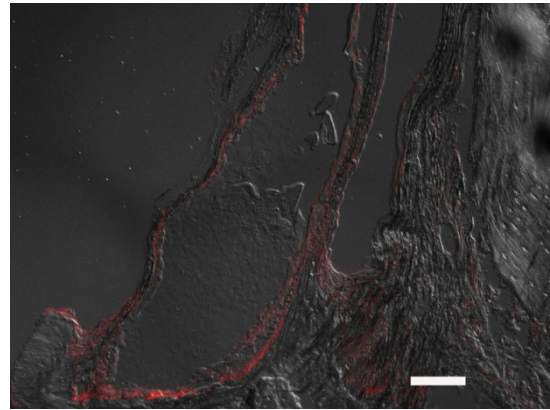


図6 AQP3 の内リンパ囊上皮における発現
AQP3 蛋白の発現を内リンパ囊上皮に認める。

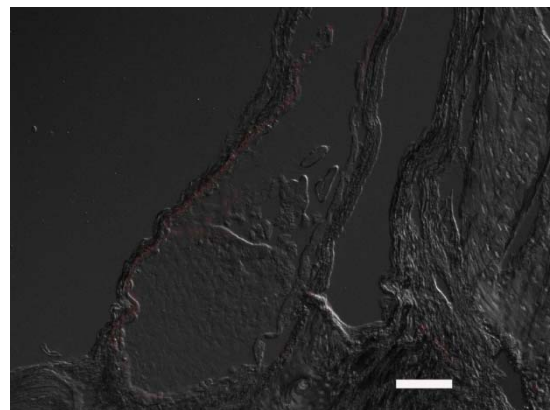


図7 AQP4 の内リンパ囊上皮における発現
AQP4 蛋白の発現を内リンパ囊上皮に認める。

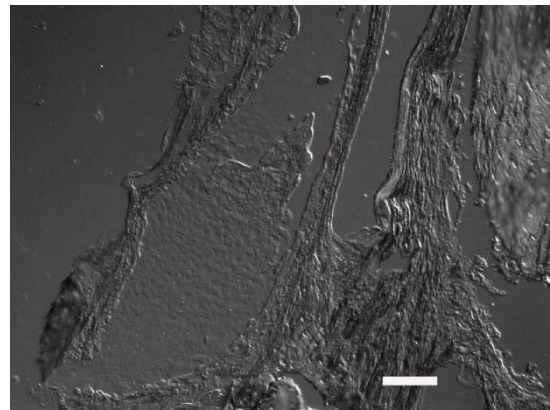


図8 AQP5 の内リンパ囊上皮における発現
AQP5 蛋白の発現は内リンパ囊上皮に認めない。

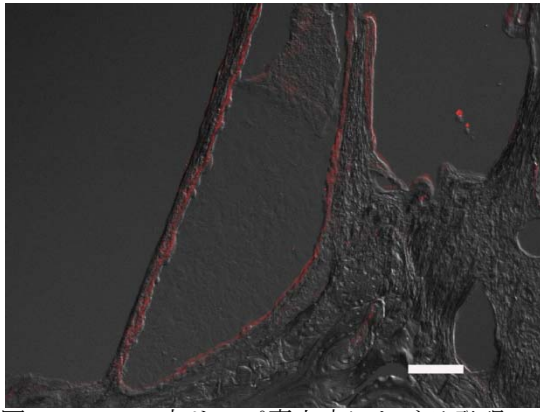


図9 AQP6の内リンパ嚢上皮における発現
AQP6 蛋白の発現を内リンパ嚢上皮に認める。

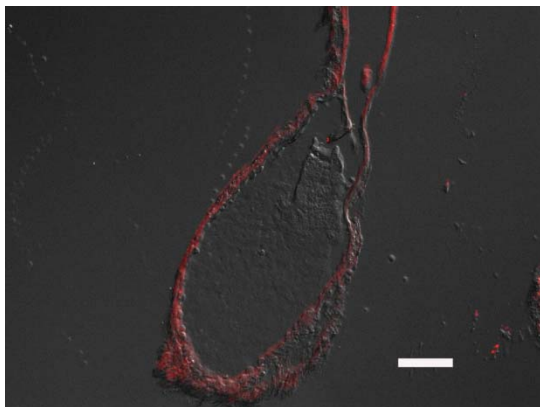


図10 AQP7の内リンパ嚢上皮における発現
AQP7 蛋白の発現を内リンパ嚢上皮に認める。

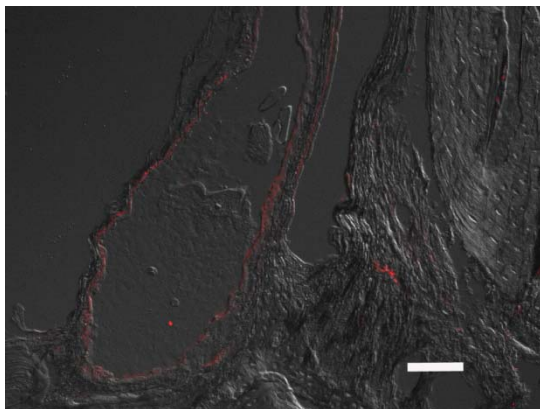


図11 AQP8の内リンパ嚢上皮における発現
AQP8 蛋白の発現を内リンパ嚢上皮に認める。

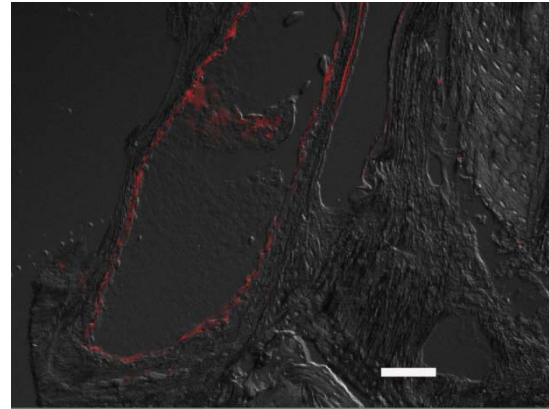


図12 AQP9の内リンパ嚢上皮における発現
AQP9 蛋白の発現を内リンパ嚢上皮に認める。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 2件)

- ① Nishimura M, Kakigi A, Takeda T, Takeda S, Doi K. Expression of aquaporins, vasopressin type 2 receptor, and Na(+)-K(+)-Cl(-) cotransporters in the rat endolymphatic sac. *Acta Otolaryngol.* 印刷中、査読あり
- ② Nishimura M, Kakigi A, Takeda T, Okada T, Doi K. Time course changes of vasopressin-induced enlargement of the rat intrastrial space and the effects of a vasopressin type 2 antagonist. *Acta Otolaryngol.* 印刷中、査読あり

〔学会発表〕(計 6件)

- ① 西村将彦、柿木章伸、西岡利恵、竹田泰三. ラットおよびヒト内リンパ嚢におけるAQPサブタイプおよびV2Rの発現について. 第17回日本耳科学会総会・学術講演会. 2007. 10. 18. 福岡
- ② 西村将彦、土井勝美、久保 武、柿木章伸、竹田泰三. バソプレッシン投与によるモルモット血管条の形態変化について (第1報) 第66回めまい平衡医学会総会・学術講演会. 2007. 11. 15. 大阪
- ③ Kakigi A, Nishimura M, Takeda T, Okada T. Vasopressin-induced enlargement of the intrastrial space in the stria vascularis. The Association for Research in Otolaryngology, 31st MidWinter Meeting. 2008. 2. 19. Phoenix, Arizona, USA.
- ④ Nishimura M, Kakigi A, Takeda T Takeda S, Nishioka R, Doi K. Expression of aquaporins, vasopressin type2

receptor, and $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-Cl}^-$ cotransporters in the rat endolymphatic sac. 45th Inner Ear Biology Workshop 2008. 9. 22. Ferrara, Italy

- ⑤ 西村将彦、柿本章伸、西岡利恵、土井勝美、竹田泰三. ラット内リンパ嚢におけるAQPサブタイプ・V2-R・NKCCサブタイプの発現について. 第18回日本耳科学会総会学術講演会 2008. 10. 17. 神戸
- ⑥ 西村将彦、柿本章伸、土井勝美、竹田泰三. Vasopressin 投与によるラット血管条の形態変化について(第2報) 第67回日めまい平衡医学会総会学術講演会 2008. 10. 30. 秋田

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柿本章伸 (KAKIGI AKINOBU)

高知大学・教育研究部医療学系・講師

研究者番号：60243820

(2) 研究分担者

竹田泰三 (TAKEDA TAIZO)

高知大学・名誉教授

研究者番号：50115763