

平成 21 年 6 月 19 日現在

研究種目：	基盤研究(C)
研究期間：	2007 ~ 2008
課題番号：	19591995
研究課題名(和文)	半規管内リンパ液カルシウムとpHの制御(半規管内に結石は生じるか?)
研究課題名(英文)	The regulation of endolymph calcium ion and pH in semicircular canals
研究代表者	
	荒木 倫利 (Araki Michitoshi)
	大阪医科大学・医学部・講師
	研究者番号： 20340557

研究成果の概要：

末梢性めまいとして頻度の高い良性発作性頭位めまい症は半規管内の浮遊物が原因であり浮遊物は内リンパ液よりも比重の高い炭酸カルシウムが主体と想定されている。半規管内リンパ液に炭酸カルシウムが析出し溶解しない状態はカルシウムイオン濃度、pH、炭酸ガス濃度と密接に結びついている。半規管内リンパのこれらの状態は電気生理学的手法では明らかにされていなかった。本研究ではこれらの条件を明らかにするための電気生理学的手法を検討した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
19年度	400,000	120,000	520,000
20年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	900,000	270,000	1,170,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：内リンパカルシウムイオン濃度，内リンパpH，半規管

1. 研究開始当初の背景

半規管内で結石などの浮遊物が生じることにより典型的な良性発作性頭位性めまいが発症することが臨床的に明らかとなって

いる。しかし、半規管内には解剖学的に耳石を産生する細胞はないことから半規管内の病的浮遊物は耳石器からの耳石の迷入によるとされている。良性発作性頭位性めまいの

自然治癒傾向を考えると耳石の迷入であれ、半規管内で浮遊物が析出するのであれ、結石の主体と考えられる炭酸カルシウムの半規管内での代謝を明らかにする必要がある。

内耳外リンパ液は脳脊髄液と似た組成であるが、内リンパ液は細胞内液に似た高カリウム、低ナトリウムの特殊な組成である。内リンパ液はたんぱく質が少ないため、主な緩衝系として炭酸ガス、重炭酸イオン系が働いていることは疑う余地がない。

一方、耳石の組成は炭酸カルシウムであることが知られ、その溶解度は pH ならびに炭酸ガス濃度と密接に結びついているものと考えられる。内リンパ液内で生じていると考えられる炭酸カルシウムの溶解、析出について明らかにするためには内リンパ液カルシウムイオンと pH の変動を解明する必要がある。すなわちこれらの条件は浮遊耳石の生成と吸収のメカニズムを解明する上で必要と考えられる。

2. 研究の目的

浮遊耳石の主体となっている可能性が高い炭酸カルシウムの析出と溶解の条件を明らかにするため、*in vivo* 実験により半規

管、蝸牛の内リンパ液のカルシウム濃度およびその析出溶解に密接に関連すると考えられる pH の変動を検討する。また、血液ガス分析を行い、炭酸ガス濃度を同時に測定する。

3. 研究の方法

イオン選択性微小電極を用いて内リンパ液カルシウム、pH を測定する。電極は液体イオン交換樹脂を用いてシラン化シングルバレル電極を作成し、あらかじめ特性を測定した。

Preyer 反射陽性の Hartley 系モルモット (体重 320~500 g) を使用し、pentobarbital 腹腔内麻酔 (30mg/kg) 後、気管切開下に人工換気を行った。直腸温を 38°C 前後に保ち、心電計にて全身状態を監視した。

人工呼吸器は半閉鎖回路とし、人工呼吸によって過度の低炭酸ガス血症とならないようにした。

実験は左側内耳を用いる。右側の頸動脈、頸静脈にカテーテルを留置して、薬物投与と動脈採血のルートを確保しておく。

以上の準備の後、蝸牛もしくは外側半規管骨を丁寧に削除して膨大部近くの膜迷路を露出させ、この部位に内耳内リンパ腔電位測

定電極とイオン測定用微小電極を刺入する。

電位を差動型エレクトロメータを用いて測定しイオン濃度も計測する。必要時にはあらかじめ留置したカテーテルより動脈血を採取し、血液ガス分析を行う。薬物の全身投与は静脈カテーテルより行う。このような状態で各種の呼吸条件の変化、薬物による負荷実験を行う。

4. 研究成果

細胞外液であるにもかかわらず内リンパ液は K^+ が高く、 Na^+ 、 Ca^{2+} が低い特殊な組成が維持されており、主な陰イオンとして Cl^- 、 HCO_3^- が存在していることが明らかとなっている。内リンパには蛋白質、磷酸がほとんど含まれないことから、内リンパ液の pH 安定化には HCO_3^-/CO_2 系が緩衝系として働いているものと考えられる。一方、耳石の組成は炭酸カルシウムであることが知られ、その溶解度は pH と密接に結びついているものと考えられる。内リンパ内の炭酸カルシウムの析出、溶解の条件を検討するため pH、 Ca^{2+} ならびに CO_2 分圧を検討すべき対象と考えている。

実験対象をアプローチの比較的容易な蝸牛ならびに水平半規管とした。蝸牛について

は第2回転中央階を、水平半規管については外側から骨迷路を削開し半規管内リンパへ電極を刺入する方法を用いている。

蝸牛については手技として確立しているが、半規管は内リンパ腔が小さく、再現性の良い手技が確立していない。イオン電極法を用いた半規管内リンパの pH と Ca の測定法の確立のため測定手技の改良を行い、in vivo での安定した結果を得るための実験手技の様々な検討した。

半規管の内リンパも蝸牛と同様に正の電位を持つことが知られておりこれを指標に内リンパ内腔に電極を刺入した。半規管内リンパ腔は細いため、骨迷路の削開、電極の刺入角度により結果が一定とならないことがわかり、できるだけ膨大部に近い部位を開窓する方法を用いている。

検討開始当初は半規管内電位は数 mV 程度であったが、水平半規管の膨大部付近に刺入した場合、実験を続けるうちに 20 mV 程度を記録する場合も見られた。

カルシウムイオンの濃度を半規管内電位による電気化学勾配に従うと考えるならば、数 mV と 20 mV の場合では外液のカルシウム濃度を基準に推定すると $1.0 \times 10^{-3} M$ か

ら $3.0 \times 10^{-3} \text{M}$ の濃度差が生じる。半規管での炭酸ガス分圧、pH、半規管内電位のそれぞれで変動が生じた場合、条件によっては炭酸カルシウムが析出する可能性は否定できないと考えた。

一方、蝸牛の内リンパ pH は 7.59 ± 0.108 (平均±標準偏差) (n=10)、血液 pH は 7.57 ± 0.067 、血液 CO_2 分圧は $22.6 \pm 2.44 \text{mmHg}$ 、血液 HCO_3^- は $19.8 \pm 2.45 \text{mEq/l}$ であった。内リンパ pH と血液 pH の相関係数は 0.85 と高い相関を認め、統計学的に有意であった。

内リンパ pH は血液 CO_2 分圧と負の相関をもち、血液 HCO_3^- とは正の相関を持つと考えられるが、血液 HCO_3^- との相関が有意であった。以上のことから内リンパ pH は $\text{HCO}_3^- / \text{CO}_2$ 系が主たる緩衝系であるが、血液 CO_2 分圧のみで決定されるのではなく、内耳内での HCO_3^- の産生、輸送機構が関与している可能性が示唆された。

内リンパ pH は、 $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$ の解離度を変化させることで内リンパ液 Ca^{2+} 濃度安定化にもかかわっている可能性があり、内耳の受容器としての感度の調節、前庭系での耳石代謝の面でも重要な調節因子となっていると推測される。内耳機能、病態生理を理解する上で

内リンパ pH の制御機構をさらに解明することが必要である。

蝸牛と半規管の制御の違いの有無、半規管別の違いなども検討すべき課題であり、水平半規管以外の半規管の測定手技の確立を視野に入れて今後も検討したい

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 0 件)

[学会発表] (計 1 件)

モルモット半規管内リンパ液の電気生理学的検討

荒木倫利、乾崇樹、河田了、竹中洋
第 68 回めまい平衡医学会 (徳島市)
平成 21 年 11 月 26 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

荒木 倫利 (Araki Michitoshi)
大阪医科大学・医学部・講師
研究者番号：20340557