

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 4 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791748

研究課題名(和文)メニエール病における内耳水代謝機構に関する基礎的研究—新たな治療薬への応用—

研究課題名(英文)Studies of basic research about inner ear homeostasis of Meniere's disease

研究代表者

江上 直也(EGAMI, NAOYA)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：10505895

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円、(間接経費) 750,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では従来から広く使用されている内リンパ嚢(管)を閉塞したモデル動物にバゾプレッシンV2作動薬であるデスモプレッシンを併用することで慢性的な内リンパ嚢機能不全に化学的な急性負荷を加えた新しい内リンパ水腫モデル動物を作成した。このモデル動物では蝸牛・球形嚢において有意に水腫形成を認め、自発眼振及び体平衡障害を認め、実際のメニエール病に近いモデルであることを証明することができた。内リンパ嚢を実験的に閉塞した内リンパ水腫モデル動物にバゾプレッシンV2レセプター拮抗的阻害薬を投与し、水腫軽減効果を認めた。以上の本研究により内リンパ水腫形成にVPを介した水代謝機構が介在している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to clarify the underlying mechanism of vertiginous attacks in Ménière's disease (MD) with a new combined animal model. Our animal model induced severe endolymphatic hydrops (EH) in the cochlea and the saccule and showed episodes of balance disorder along with spontaneous nystagmus. These findings suggest that administration of vasopressin (VP) can exacerbate EH due to acute V2; VP type 2 receptor-mediated effects, and when combined with endolymphatic sac (ES) dysfunction can cause temporary vestibular abnormalities that are similar to the vertiginous attacks in patients with MD. Systemic or local application of VP type 2 receptor antagonist; V2 antagonist (OPC-41061), an inhibitor of the VP-AQP2 reduced EH in the cochlea and the saccule. These results suggest that VP-AQP2 system plays an important role in the pathogenesis of MD and an inhibitor of the VP-AQP2 system will be a promising drug in the treatment of MD.

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 アクアポリン

### 1. 研究開始当初の背景

メニエール病の病理組織学特徴は内リンパ水腫であるが、その発症機序に関してはいまだ不明な点が多い。内リンパ嚢における内リンパ液の吸収障害が内リンパ水腫の一因として考えられている。一方、従来の内リンパ嚢閉塞によるメニエール病モデル動物ではめまい発作誘発の報告がないことなどから臨床上のメニエール病の急性期の難聴・めまい発作という特徴を説明することができず、より実際の臨床像に即したモデルの開発が急務であった。临床上、メニエール病の発症にストレスの関与が注目されており、ストレス下で分泌される抗利尿ホルモンであるバゾプレッシン(VP)が水タンパクであるアクアポリン(AQP)とともに内耳水代謝に関与していると考えられる。メニエール病の発症には内リンパ嚢の機能不全或いは内耳における水代謝機構の亢進がそれぞれ単独で関与しているわけではなく、両者が相乗的に作用しているものと推測される。

### 2. 研究の目的

内リンパの機能不全を目的とした従来から報告されている内リンパ嚢(管)を閉塞したメニエール病モデル動物に対して内耳水代謝の亢進を目的にバゾプレッシンを負荷することにより新しい内リンパ水腫モデル動物を作成する。このモデル動物の形態評価と機能評価を目的に組織学的及び生理学的検討を行うことで内耳における水代謝へのバゾプレッシンの関与について検討する。また内耳における AQP2 の局在について免疫組織学的に評価し、VP-AQP2 システムの内耳における水代謝機構について解明したい。最後に VP-AQP2 システムの阻害剤がメニエール病に対する新規の治療薬開発への応用の可能性について検討することでメニエール病の内リンパ水腫形成における病態を解明し、メニエール病の発症時期について検討したい。

### 3. 研究の方法

#### (1) 新しい内リンパ水腫モデルの作成及び組織学的検討

モルモットの内リンパ嚢(管)を手術にて電気焼灼して閉塞し、1週及び4週間、自由飲水にて飼育した後に抗利尿ホルモン V2 作動薬であるデスマプレッシンを投与し、側頭骨を光学顕微鏡にて観察し、内リンパ水腫作成の有無を蝸牛、耳石器、半規管について組織学的に検討する。

#### (2) 眼球運動解析システムを用いた前庭機能の生理学的検討

上述の手法で作成したメニエール病モデル動物の自発眼振の有無及び最大緩徐相速度について計測するとともに体平衡障害について観察、比較検討する。

#### (3) 免疫組織学的手法による AQP 及び V2R の局在に関する検討

免疫蛍光染色法を用いて特に AQP2 及び V2R の蝸牛血管条における局在を同定する。

#### (4) V2R 拮抗的阻害薬(OPC-31260・OPC41061)の慢性投与による水腫軽減効果に関する検討

内リンパ嚢(管)閉塞術を施行したモルモットに V2R 拮抗的阻害薬である OPC-31260・OPC41061 を経口全身投与あるいは鼓室内局所投与し、蝸牛及び球形嚢における水腫軽減効果について比較検討する。

### 4. 研究成果

#### (1) 新しい内リンパ水腫モデルの作成及び組織学的検討

古典的内リンパ嚢(管)閉塞モデル動物にバゾプレッシンを急性投与することにより新しい内リンパ水腫モデル動物を作成した。このモデル動物の側頭骨病理組織標本を用いて内リンパ水腫が蝸牛及び球形嚢において古典的内リンパ嚢(管)閉塞モデル動物と比較して定量的に高度な内リンパ水腫を生じていることが組織学的にも比較証明できた。(図1)

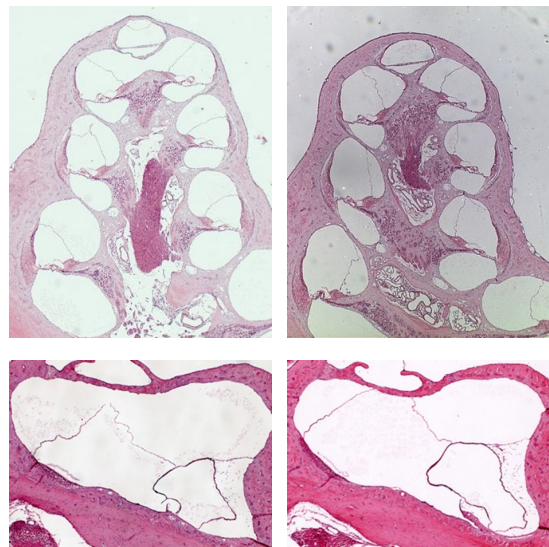


図1 (左上・下)内リンパ嚢(管)手術単独群、(右上・下)デスマプレッシン併用群、新しい内リンパ水腫モデル動物では古典的な

モデル動物と比較して優位に蝸牛及び球形嚢において高度の内リンパ水腫形成を認めた。

### (2) 眼球運動解析システムを用いた前庭機能の生理学的検討

古典的内リンパ水腫モデル動物では見られないめまい発作について新しい内リンパ水腫モデル動物を用いて急性めまい発作による体平衡障害、自発眼振が誘発されることを記録し、その前庭機能について評価を行い、実際の臨床像と極めて近いモデル動物であることを証明できた。(図2)



図2 左耳内リンパ嚢(管)を手術にて閉塞し、4週間飼育した後にデスマプレッシンを投与した動物  
投与後20分から術側である左方向への転倒傾向が観察され、60分後には体平衡障害は見られなくなった。

Table 1.  
Presence or absence of spontaneous nystagmus in experimental animals

|                         | Spontaneous nystagmus |          |
|-------------------------|-----------------------|----------|
|                         | positive              | negative |
| Control (V) group       | 0%                    | 100%     |
| Desmo (V) group         | 25%                   | 75%      |
| Surgical (V) group (1W) | 0%                    | 100%     |
| Surgical (V) group (4W) | 0%                    | 100%     |
| Combined (V) group (1W) | 100%                  | 0%       |
| Combined (V) group (4W) | 100%                  | 0%       |

表1 コントロール群(生理食塩水)、デスマプレッシン単独投与群、内リンパ嚢(管)手術単独群、内リンパ嚢(管)手術+デスマプレッシン併用群の自発眼振の出現頻度  
新しい内リンパ水腫モデル動物での全例で自発眼振を認めた。眼振の性質に関しては刺激性眼振単独、麻痺性眼振単独、刺激性眼振から麻痺性眼振に移行するもの等あり、個体差が見られた。

### (3) 免疫組織学的手法による AQP 及び V2R の局在に関する検討

ラット蝸牛血管条の基底細胞に AQP2 が局在することを蛍光免疫染色で証明した。(図3)

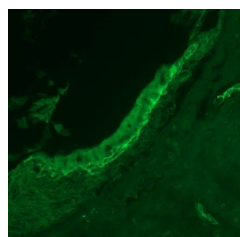


図3 ラット蝸牛凍結切片

### (4) V2R 拮抗的阻害薬(OPC-31260・OPC41061)の慢性投与による水腫軽減効果に関する検討

内リンパ嚢(管)閉塞術後、4週間、自由飲水にて飼育した動物に V2R 拮抗的阻害薬 5 日間経口投与した群及び鼓室内局所投与した群を検討対象とした。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、アブミ骨定板を含め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結果、両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た。V2R 拮抗的阻害薬の全身投与あるいは局所投与による血中抗利尿ホルモン(ADH)の濃度についても手術を施行していない正常動物を用いて検討し、血中 ADH 値及び血漿浸透圧の上昇は見られなかった。

以上の本研究により内リンパ水腫形成に VP を介した水代謝機構が介在している可能性が示唆された。

### 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)

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.

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: 335-343. 2013.

〔学会発表〕(計 4 件)

Egami N, Kakigi A, Takeda T, Yamasoba T. The effects of vasopressin type 2 receptor antagonist (OPC-41061) on endolymphatic hydrops. The Association for Research in Otolaryngology, 37<sup>th</sup> MidWinter Meeting. 2014.2.22-26. San Diego, USA

Egami N, Kakigi A, Takeda T, Yamasoba T. Morphological and functional changes in a new animal model for Meniere's disease. The Association for Research in Otolaryngology, 36<sup>th</sup> MidWinter Meeting.

2013.2.16-20. Baltimore, USA

江上直也、柿木章伸、坂本幸士、西岡利恵、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 拮抗的阻害薬の内リンパ水腫軽減効果に関する検討. 第 113 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会. 2012.5.10-12. 新潟

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 71 回日本めまい平衡医学会総会・学術講演会. 2012.11.28-30. 東京

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

江上 直也 (EGAMI NAOYA)

東京大学医学部附属病院・助教

研究者番号：10505895