

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成23年9月30日現在

機関番号：15501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21791617

研究課題名（和文）末梢前庭機能回復過程におけるメカニズムの解明を目指して

研究課題名（英文）The aim to elucidate the mechanism of peripheral vestibular function recovery process

研究代表者

竹野 研二 (TAKENO KENJI)

山口大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：60526903

研究成果の概要（和文）：

可逆性末梢前庭機能障害モデル動物を用いて、生理学的、また免疫組織学的検討を行った。MK-801を用いた生理学的検討においては、前庭機能回復期において、従来の永続性末梢前庭障害モデル動物と対照的な結果を得られた。また免疫組織学的にはモルモットにおいても前庭機能障害、また回復期中枢前庭の可塑性のマーカーに pCREB を用いる事ができる事を証明した。

研究成果の概要（英文）：

We reported the process of vestibular function in the unilateral vestibular re-input model using tetrodotoxin (TTX) with osmotic pump in the guinea pig.

The aim of this study is to clarify the process of the neural activity in our model in the guinea pig brainstem. We observed the pCREB labeling neurons in the brainstem at several post-operative intervals in UL and TTX-treated animals. In both groups, the pCREB labeling neurons were detectable in both sides of the vestibular nucleus at early period. In both groups, the pCREB labeling neurons were detectable in both sides of the vestibular nucleus at early period.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	600,000	180,000	780,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	1,900,000	570,000	2,470,000

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：pCREB, TTX, MK-801 前庭機能

## 1. 研究開始当初の背景

申請者のグループは浸透圧ポンプをもちいた薬剤の直接内耳投与モデル動物を確立し、末梢前庭障害モデル動物の作成、また薬剤投

与による治療法に関して報告を行ってきた。申請者は TTX 直接内耳投与による一過性末梢前庭入力遮断モデルを確立し、同モデルは前庭再入力後に TTX 投与側への眼振方向優

位性 (DP) を認める特徴を有し、TTX 投与中ジアゼパム投与により DP が抑制される事を報告した (Takeno et al,2006)。この結果は末梢前庭機能が回復しても、体動時にめまいが起きている事の証明であり、ジアゼパムを投与する事で症状を改善させる可能性を示唆するものである。この結果は TTX 投与中の中枢の変化が強く関与していると考えられ、その機序を解明する事により、より有効な治療法の確立が期待できると考え、本研究を計画した。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、可逆性末梢前庭機能障害モデル動物を用いて、生理学的、また免疫組織学的検討を行う事である。メニエール病に代表される可逆性末梢前庭機能障害における、末梢前庭機能障害から回復に至る機序の解明と、治療法の確立を目的とする。

## 3. 研究の方法

末梢前庭機能破壊モデル動物に関して CREB、MK-801 を用いた報告があるが、同モデルのごとく前庭機能回復モデルに関しての報告はない。同モデルの中枢の変化を経時的に組織学的検討を行った。また前庭機能回復過程における中枢の可塑性にかんして生理学的に検討を行った。免疫組織学的検討に関しては CREB を指標として、また生理学的検討に関しては MK-801 を用いて経時的に観察を行い、評価・検討を行った。

## 4. 研究成果

(1) 前庭機能回復過程における pCREB の発現、経時的变化について

目的；可逆性末梢前庭機能障害モデルを用い、pCREB が中枢前庭にどのように発現するか検討を行った。

方法：

前庭入力遮断期 (TTX 投与 1、2、6、72 時間後)

前庭機能回復期 (TTX 投与中止 1、2、6、

24、72、144 時間後)

上記の群を作成し、それぞれ深麻酔下に生理食塩水にて経心還流を行った後、4%パラホルムアルデヒド経心還流固定を行い、中枢前庭を中心に切片を作成した。pCREB を用いて免疫組織学的に検討を行った。

結果：(図 1～5、表 1)

前庭入力遮断期にいままでの末梢前庭破壊モデルと類似した pCREB の発現が認められることを証明した。従来の報告はラットを用いたものであり、モルモットでもマーカーとなりうる事を示した。

TTX 投与後 1 時間より両側前庭神経核に pCREB の発現を認め、2 時間後を最大として、以降は減弱を認めた。(図 1、2、表 1) 前庭機能回復期の pCREB 発現に関しては TTX 投与中止後は 1 時間後より pCREB の発現を認め、2 時間後から 1 日後までは強い発現があり、以降は減少を認めた。1 時間後では健側優位であった。(図 3、4、5、表 1) 但し n 数が少ない段階での計画終了となり、一定の傾向を明らかにする事は不可能であった。

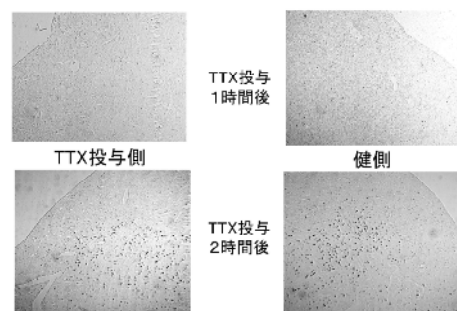


図 1：TTX 投与後 1、2 時間後の前庭神経核における pCREB の発現

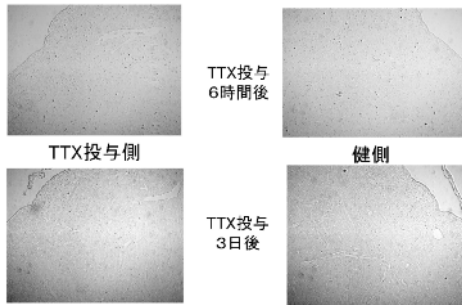


図 2 : TTX 投与後 6 時間、3 日後の前庭神経核における pCREB の発現

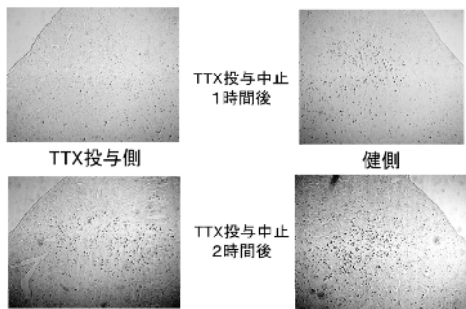


図 3 : TTX 投与中止後 1、2 時間後の前庭神経核における pCREB の発現

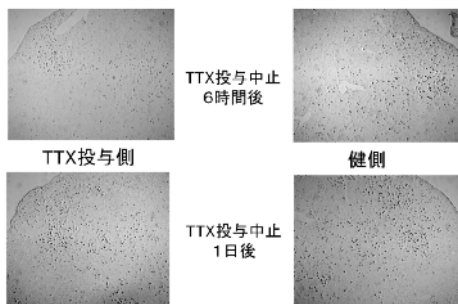


図 4 : TTX 投与中止後 6 時間、1 日後の前庭神経核における pCREB の発現

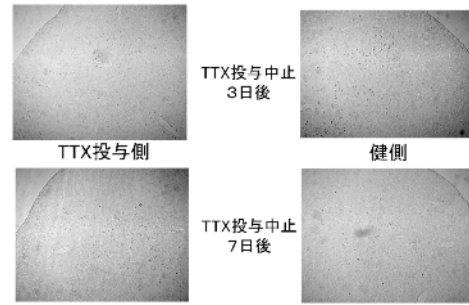


図 5 : TTX 投与中止後 3、7 日後の前庭神経核における pCREB の発現

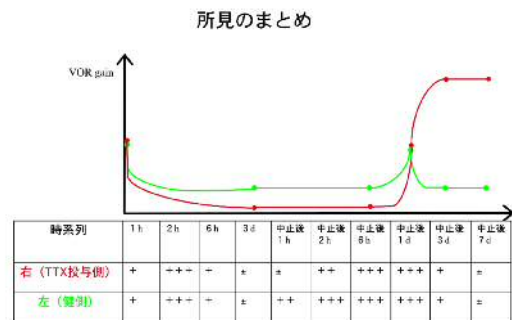


表 1 : 所見のまとめ

(2) 前庭機能回復過程における MK-801 投与後の生理学的な経時的変化について  
目的 ; 同モデルを用い、生理学的に MK-801 による中枢前庭の可塑性の経時的変化に関して検討を行った。

方法 :

前庭機能回復期 (TTX 投与中止 1、3、7、14 日後)

上記の群を作成し、それぞれ MK-801(0.5mg/kg)を腹腔内投与を行い、30 分後に自発眼振数の計測を行った。

結果 : (表 2、3)

TTX 投与中止後 1 日、3 日、7 日後において、MK-801 投与後に TTX 投与側への自発眼振を認めた。14 日後には認めなかった。TTX 投与中止後 7 日後で最大となり、1 日後、14 日後と有意差を認めた。(表 2)

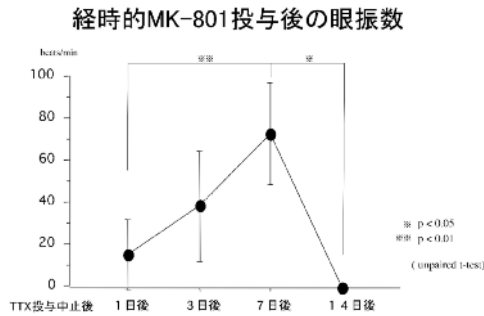
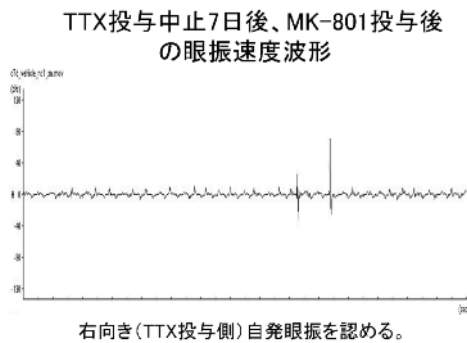


表 2：経時的 MK-801 投与後の眼振数



考察：従来永続性末梢前庭障害モデルにおける検討によると、MK-801 を投与すると障害直後と同様の自発眼振（健側向き）が観察されるとの事だが、当モデルにおける回復期において MK-801 投与を行うと、その逆（障害側向き）であった。末梢前庭機能回復期においては、永続性末梢前庭障害とは異なった中枢の可塑性が存在する事が示唆され、非常に興味深い結果を得る事が出来た。この結果は末梢前庭機能の回復は中枢前庭へ影響を与える可能性、また前庭再入力側への眼振方向優位性をもたらす神経可塑性が存在する可能性が示唆するものと考えられた。

機序を解明する上では、実際の可塑性がどの部位で、特にどの時間に強く働いているのかを解明すべきであり、前庭機能回復期における MK-801 投与後の中枢前庭における pCREB の発現に関する検討を行っていたが、

n 数が少ない段階で計画終了となり、一定の傾向を得る事ができなかった。

当実験系は表 1 に示すごとく、生理学的データと組織学的データをリンクして検討する事ができ、従来には無い実験系だけに、特に回復期 1 日以内のより詳細な検討を行うことで、革新的なデータを発表するものと考えている。逆にその部分を解明しきれない段階での計画終了となったため、発表や論文化を行う事ができなかった。

### 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 0 件）

〔学会発表〕（計 0 件）

### 6. 研究組織

#### (1) 研究代表者

竹野 研二 (TAKENO KENJI)

山口大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：60526903