

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K15616

研究課題名(和文)直線加速・回転加速刺激による動物用前庭誘発脳電位検査の開発

研究課題名(英文)Development of a recording system to record short-latency vestibular evoked potentials in response to linear and angular accelerations in animals

研究代表者

岩崎 真一(Iwasaki, Shinichi)

東京大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：10359606

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文):実験動物の前庭機能を計測することが可能な、短潜時の前庭誘発脳電位(VsEP)記録システムの開発を行った。本研究では、強力な加振機と回転刺激装置を用いることによって、耳石器機能と半規管機能を別々に評価可能な計測システムの構築を試みた。直線加速度刺激では、再現性の高いVsEPを記録することが出来た。VsEPは、聴性脳幹反応(ABR)とは、異なる波形を有した。蝸牛を破壊すると、ABRは消失しものの、VsEPに変化は認められなかった。一方、外科的にマウスの内耳を破壊すると、ABR、VsEPともに消失した。一方、今回、回転刺激では再現性のあるVsEPを記録することは出来なかった。

研究成果の概要(英文):To evaluate peripheral vestibular function in experimental animals, we have developed a system to record short-latency vestibular evoked potential (VsEP). In this system, we adopted newly developed vibrator and motor to provide linear and angular accelerations, respectively.

We could record reliable and repeatable VsEPs in response to linear accelerations of the head in mice. The waveforms of VsEP were different from auditory brainstem responses (ABRs). In mice treated with ototoxic drugs, kanamycin and ethacrynic acids, ABRs were absent, but VsEPs could be recorded. In contrast, in mice whose inner ears were surgically damage, both ABRs and VsEPs were absent. These results suggested that VsEPs evoked by linear acceleration were originated from the vestibular endorgans, probably the otolith organs. On the other hand, we could not record reliable VsEPs in response to angular accelerations, probably due to insufficient power of the rotatory motor that we used to evoke VsEPs.

研究分野：耳科学、神経耳科学、細胞生理

キーワード：脳・神経 内耳 前庭 平衡

1. 研究開始当初の背景

マウスを初めとする実験動物の聴力が、聴性脳幹反応 (ABR) 等を用いて、簡便に測定することが出来るのに対して、前庭機能の評価は比較的困難であり、回転検査による前庭動眼反射の測定やカロリックテストによる眼振の緩徐相速度の計測など、高価な設備が必要であり、全身麻酔下では測定出来ない物が大半である。このことは、聴覚と比較して前庭の基礎研究が進んでいないことの重大な原因の一つとなっている。

過去に報告された、実験動物の簡便な前庭機能評価法に前庭誘発脳幹電位 (short latency vestibular evoked potential :VsEP)がある。VsEPは、動物の頭部に加振機で繰り返し振動を与え、末梢前庭を刺激することによって得られる脳内の誘発電位を記録することで、前庭機能の評価する方法であり、Jones らが1999年に報告した (Jones et al. *Hear Res* 1999)。この方法は、ABRと同様に全身麻酔下で簡便に動物の末梢前庭機能の評価出来る利点を有するが、頭部に加速度を与え、記録を行うのに特殊な手術が必要であることや、前庭のどの部分の機能を反映するかが明確でない、一側前庭障害の評価は困難であるなどの短所を有している。

2. 研究の目的

申請者らは、先行研究を参考にして、VsEP 測定の第一号の試作機を製作し、マウスの VsEP の測定に既に成功している (鴨頭ら *Equilibrium Res* 2014)。

本研究では、新たな頭部固定装置と、近年発売された強力な加振機と回転刺激装置を用いることによって、VsEP 測定装置をさらに改良し、1) 実験動物の卵形囊・球形囊機能を別々に測定可能な、動物用耳石器機能測定装置の作製と、2)

回転刺激による動物用半規管機能測定装置の作製を行う。特に半規管機能測定装置では、強力な角加速度刺激によって、一側半規管機能測定を可能とすることを目的とする。

本研究で作製される動物用耳石器機能測定装置・半規管機能測定装置を使用する事により、様々な遺伝子改変動物の前庭機能測定が可能となり、前庭機能の研究が飛躍的に発展することが期待される。また、一側前庭機能測定も可能であることから、末梢前庭の一側を障害する実験にも対応可能であり、前庭代償の機構の解明や、末梢前庭疾患の新たな治療の開発にもつながることが期待される。

3. 研究の方法

1. 動物用耳石器機能測定装置の作製と機能評価

Jcl:ICR マウスを使用し、通常動物麻酔後、ナリシゲ社製マウス用頭部固定装置 SG-4N にて、上顎・両側耳前部2カ所の計3点をピンにより固定し、ナリシゲ社製の接続治具を用いて、旭製作所製小型加振器 S-0105 (図1)と接続した。



図1. 加振機 (S-0105)

刺激用の振動波形は、先行研究 (Jones et al. 1999) に基づいた波形を使用し、アンプにより加振器を励起させた。

誘発電位は、通常 ABR の計測方法と同様、頭頂部・両側耳後部に設置した針電極を用い、加算平均(100回)記録し、その波形に

より反応の有無を判別した(図2)。

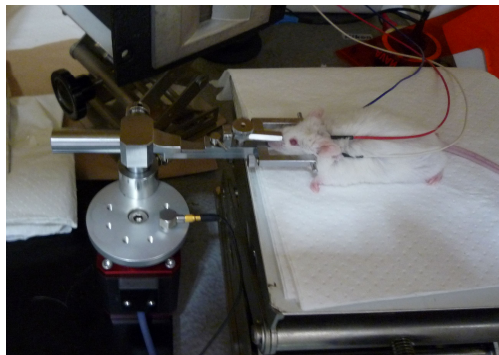


図2. VsEP 記録装置

最大の加速度時間微分のピークを 10dB (0dB re. 1g/ms)として 5dB ずつピークを減少させて、-20dB まで計測し、閾値を求めた。

ICR マウスを使用し、コントロール群を 5 匹、蝸牛障害モデルを 5

匹とした。障害モデルについては、カナマイシン 1000mg/kg を筋

注、エタクリン酸 40mg/kg を静注し、4日後に、麻酔下に ABR および VsEP を計測した。誘発電位計測後、側頭骨を固定・脱灰後に薄切切片を作成し、組織学的評価を行った。

2. 動物用半規管機能測定装置の作製と機能評価

耳石器機能測定 of VsEP と同様に、通常の動物麻酔後、ナリシゲ社製マウス用頭部固定装置 SG-4N にて、上顎・両側耳前部 2カ所の計 3 点をピンにより固定した後、オリエンタルモーター社製の強力な小型回転刺激装置(DG-60 ; 図3)を使用し



図3. 回転刺激装置(DG60)

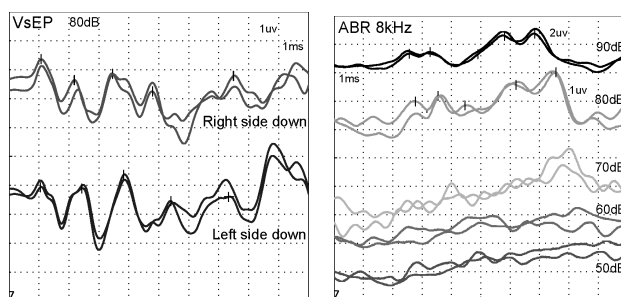
て、動物の頭部に回転加速を繰り返し与えることにより、VsEP の記録を試みた。

様々な回転加速度、回転の振幅、刺激パターンで刺激を与え、VsEP の記録に最適な刺激パラメーターについて、検討を行った。

4. 研究成果

1. 直加速度刺激による VsEP

記録を試みた全てのマウス (n= 15) で、小型加振機を用いた直線刺激により VsEP とと思われる反応を記録することが出来た(図4)。



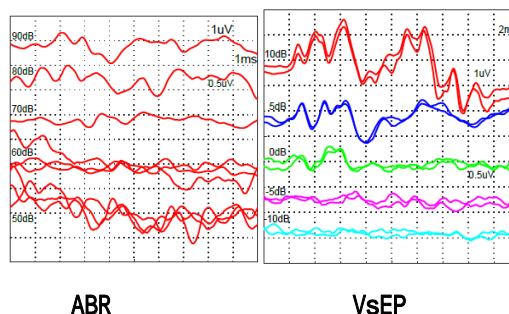
VsEP の波

ABR の波形

図4. VsEP と ABR の波形の比較

VsEP は、通常の ABR の I 波 ~ V 波とは異なる潜時において、陰性波と陽性波を認めた。

次に、VsEP が前庭由来であるかどうかを検討する目的で、内耳の破壊実験を行った。カナマイシンとエタクリン酸を使用して、蝸牛破壊を行ったところ、ABR の波形は消失したが、VsEP の波形はほぼ保たれていた(図5)。このことは、VsEP が蝸牛由来では無いことを示唆する。



ABR

VsEP

図5. エタクリン酸、カナマイシンによる蝸牛障害後の ABR と VsEP

外科的に両側のマウスの内耳破壊を行ったところ、ABR, VsEP とともに反応が消失した(図

6) このことは、ABR, VsEP とともに内耳由来の反応であることを示唆する。以上より、今回、記録された VsEP は、前庭由来の反応であると考えることが出来る。

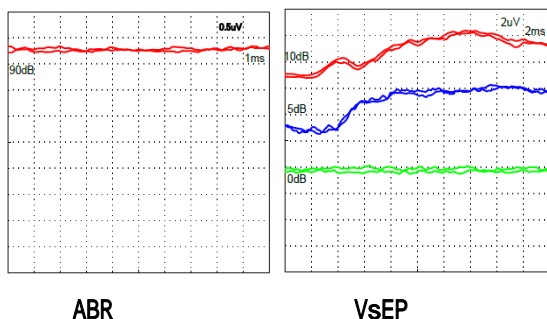


図6 . 内耳破壊術後の ABR と VsEP

2 . 回転加速度刺激による VsEP

直線加速度刺激の VsEP と同様に頭部を固定して、強力な小型回転刺激装置(DG-60 を用いて、様々な刺激強度、刺激頻度で回転刺激を行ったものの、再現性のある誘発電位を記録することは出来なかった。原因として、回転刺激の on-off の部分の加速・減速の強度が VsEP の誘発には不十分であることが考えられた。

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9件)

Iwasaki S, Karino S, Kamogashira T, Togo F, Fujimoto C, Yamamoto Y, Yamasoba T. Effect of noisy galvanic vestibular stimulation on ocular vestibular evoked myogenic potentials to bone-conducted vibration. *Front Neurol* 8: 26, 2017 査読有
Kamogashira T, Hayashi K, Fujimoto C, Iwasaki S, Yamasoba T. Functionally and morphologically damaged mitochondria observed in auditory cells under senescence-inducing stress. *Aging Mechanisms Dis* 3:2, 2017 査読有

Fujimoto C, Kinoshita M, Kamogashira T, Egami N, Sugasawa K, Yamasoba T, Iwasaki S. Characteristics of vertigo and the affected vestibular nerve systems in idiopathic bilateral vestibulopathy. *Acta Otolaryngol* 136: 43-47, 2016 査読有
 Inoue A, Egami N, Fujimoto C, Kinoshita M, Yamasoba T, Iwasaki S*. Vestibular evoked myogenic potentials in vestibular migraine: Do they help differentiating from Meniere's disease? *Ann Otol Rhinol Laryngol* 125: 931-937, 2016 査読有
Fujimoto C, Yamamoto Y, Kamogashira T, Kinoshita M, Egami N, Uemura Y, Togo F, Yamasoba T, Iwasaki S*. Noisy galvanic vestibular stimulation induces a sustained improvement in body balance in elderly adults. *Sci Rep* 6: 37575, 2016. 査読有
Fujimoto C, Egami N, Kinoshita M, Sugasawa K, Yamasoba T, Iwasaki S. Involvement of vestibular organs in idiopathic sudden hearing loss with vertigo: an analysis using oVEMP and cVEMP. *Clin Neurophysiol* 126: 1033-1038, 2015 査読有
 Yoshimoto R, Iwasaki S, Takago H, Nakajima T, Sahara Y, Kitamura K. Developmental increase in hyperpolarization-activated current regulates intrinsic firing properties in rat vestibular ganglion cells. *Neuroscience* 284: 632-642, 2015 査読有
Iwasaki S, Fujimoto C, Kinoshita M, Kamogashira T, Egami N, Yamasoba T. Clinical characteristics of patients with abnormal ocular/cervical vestibular evoked myogenic potentials in the presence of normal caloric responses. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 124: 458-465, 2015. 査読有
Fujimoto C, Egami N, Demura S, Yamasoba T, Iwasaki S. The effect of aging

on the center-of-pressure power spectrum in foam posturography. *Neurosci Lett* 585: 92-97, 2015 査読有

〔学会発表〕(計6件)

岩崎真一 シンポジウム「耳鼻咽喉科・頭頸部外科学研究の最前線」両側前庭障害に対する治療：基礎研究と臨床研究の最前線 第118回日本耳鼻咽喉学会総会 2017年5月18日 広島国際会議場 広島

岩崎真一、藤本千里、木下淳、江上直也、鴨頭輝、牛尾宗貴、菅澤恵子、山岨達也 経皮的ノイズ前庭電気刺激が歩行に及ぼす影響：両側前庭障害症例の検討。第117回日本耳鼻咽喉科学会総会 2016年5月19日 名古屋

岩崎真一 バイオフィードバックの活用 ノイズ電気刺激を利用した両側前庭障害患者の体平衡機能改善 第75回日本めまい平衡医学会総会 2016年10月27日 大阪

Iwasaki S. VEMP (Basic)-The neural basis of vestibular evoked myogenic potentials. Characteristics of oVEMPs in response to air-conducted sound and bone-conducted vibration. 29th Barany Society Meeting, June 8, 2016, Grand InterContinental Hotel Seoul, Seoul, Korea

Iwasaki S. Clinical aspects of vestibular neuropathy. 30th Politzer Society Meeting, July 2, 2015, Niigata

Iwasaki S., Kamogashira T., Karino S., Fujimoto C., Yamasoba T. Effect of noisy galvanic vestibular stimulation on ocular vestibular evoked myogenic potential to bone-conducted vibration. 2015 Annual CORLAS Meeting, Aug 25, 2015, San Francisco, California

USA

Iwasaki S. Probing vestibular function from postural stability. 13th Japan-Taiwan Conference on Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Dec 3, 2015, Tokyo

取得状況(計1件)

名称：前庭機能評価装置及び非ヒト動物における前庭機能の評価方法

発明者：岩崎真一、松本有、藤本千里、鴨頭輝

権利者：岩崎真一、松本有、藤本千里、鴨頭輝

種類：特許

番号：6280075号

取得年月日：2018年1月26日

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1)研究代表者

岩崎 真一 (IWASAKI, Shinichi)
東京大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：10359606

(2)研究分担者

藤本 千里 (FUJIMOTO, Chisato)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：60581882

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

松本 有 (MATSUMOTO, Yu)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：80548553