

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：24601  
研究種目：若手研究(B)  
研究期間：2017～2020  
課題番号：17K16938  
研究課題名(和文)めまい平衡障害モデルマウスの開発と平衡リハビリテーションへの応用

研究課題名(英文)Model mouse for vestibular rehabilitation

研究代表者  
伊藤 妙子(Ito, Taeko)  
奈良県立医科大学・医学部附属病院・診療助教

研究者番号：60623486  
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：前庭障害がおこるとめまいがおきる。前庭障害のあとは前庭代償という中枢の可塑性が働きめまいが回復する。その前庭代償を促進する方法を開発することはめまい平衡障害を克服することにつながる。前庭障害、前庭代償の研究には今まで猫やラットなどの比較的大きな動物が使われてきた。しかし遺伝的な改変が容易であるマウスでモデル動物を作成することは今後の研究の促進に寄与する。本研究では再現性が高いめまい平衡障害モデルマウスを作成し、今後の研究の基準となる回復過程の記録を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義  
めまい平衡障害になやんでいる患者は多い。慢性的なめまいは薬物投与で改善することが乏しく、前庭リハビリテーションが有用な治療法として注目されている。しかしその治療法としてのエビデンスは低く、今後有用な治療法として確立させるためには基礎研究を含めた研究が必須である。本研究はめまい平衡障害の基礎研究のためのモデルマウスを作成する研究として大いに意味があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Vestibular disorders cause vertigo/dizziness. After the vestibular function was damaged, the central plasticity of vestibular compensation works and the vestibular function recovers. Developing the methods to promote that vestibular compensation leads to overcoming dizziness balance disorders. Until now, relatively large animals such as cats and rats have been used to study vestibular disorders and vestibular compensation. However, creating model animals in mice, which are easily genetically modified, will contribute to the development of future research. In this study, we created highly reproducible dizziness balance disorder model mice and recorded the recovery process, which will be the basis for future studies.

研究分野：平衡

キーワード：めまい モデルマウス

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

前庭代償の研究ではラットやモルモットを使用しためまい平衡障害モデル動物が多用されてきた。しかし研究の将来性を考慮すると、遺伝工学的アプローチが容易であるマウスで簡便かつ再現性の良いめまい平衡障害モデルの確立が重要となる。ラットにおけるめまい平衡障害モデルの作成方法としてはエタノール内耳灌流が再現性の高い有用な方法として報告されているが、個体の小さいマウスに同方法を施行し高い再現性を得るには長期間の鍛錬が必要となる。

### 2. 研究の目的

今回我々は研究に必要な個体数を最小限にしつつ十分な検体量を得ることを目的とし、ラットで報告されているアルサニル酸を用いた内耳破壊法をマウスに施行した。しかしながら同方法では再現性を得られなかったことから変法を考案し、この方法がめまい平衡障害モデル作成法として有用であるかを動物行動学的、組織化学的に検討した。

### 3. 研究の方法

C57BL, /6N マウス (10 週齢) を使用した。本研究の計画・実施においては、法令を遵守し、奈良県立医科大学動物実験管理規程に基づき、動物実験計画書を提出、承認を受けている。必要な動物数を最小にし、適切な麻酔、鎮痛処置を施行したうえで実験を行っている。

#### (1) 実験方法

イソフルラン吸入麻酔下ですべての外科的処置を施行した。右耳後部切開後、外耳道を開放し鼓膜を確認、切開した。0.4Mp-アルサニル酸ナトリウム溶液 50  $\mu$ l を鼓膜切開部から鼓室内に投与し 5 分留置後吸引除去、耳後部を縫合し終了した。コントロールに対しては 0.1M PB 50  $\mu$ l を鼓室内に 5 分間投与した。

#### (2) 観察項目

##### 1) 動物行動学的指標

###### 頭部偏傾角

頭部正面から写真撮影し、冠状断で頭部の正中と観察台との角度を計測した。計測は内耳破壊後 1 日目から 7 日目まで毎日 1 回ずつ行った。

###### バランステスト

Tail hanging test、drop test、オープンフィールドで行動を観察した。

###### 眼振

頭部固定装置を備えた赤外線 CCD ビデオカメラを使用し頭部を固定、眼振を撮影した。

##### 2) 組織化学的指標

左心室経路で 4%パラホルムアルデヒド、0.1%グルタルアルデヒドを用いて灌流固定を行った。

###### 側頭骨 HE 染色

灌流後摘出した側頭骨から 7  $\mu$ m ずつの切片を作成し、HE 染色し前庭を観察した。

###### 神経活動マーカー (IEGs) を用いた免疫染色

脳幹を凍結後 30  $\mu$ m の切片を作成した。第一抗体 (1:20000, anti-cFos, 1:20000, anti-Arc, 1:15000, anti-Zif 268)、第二抗体 (1:1, Histofinesimple stain PO Kit) と反応させ発色には DAB を用いた。

### 4. 研究成果

#### 1) 動物行動学的指標

頭部偏傾角 バランステストともに 48 時間後に最も異常が認められ、その後徐々に改善する結果となった (図 1. A-I)。

###### 眼振

内耳破壊 30 時間後に最も多い眼振を認め、48 時間後までに消失していた (図 1. JK)。

#### 2) 組織化学的指標

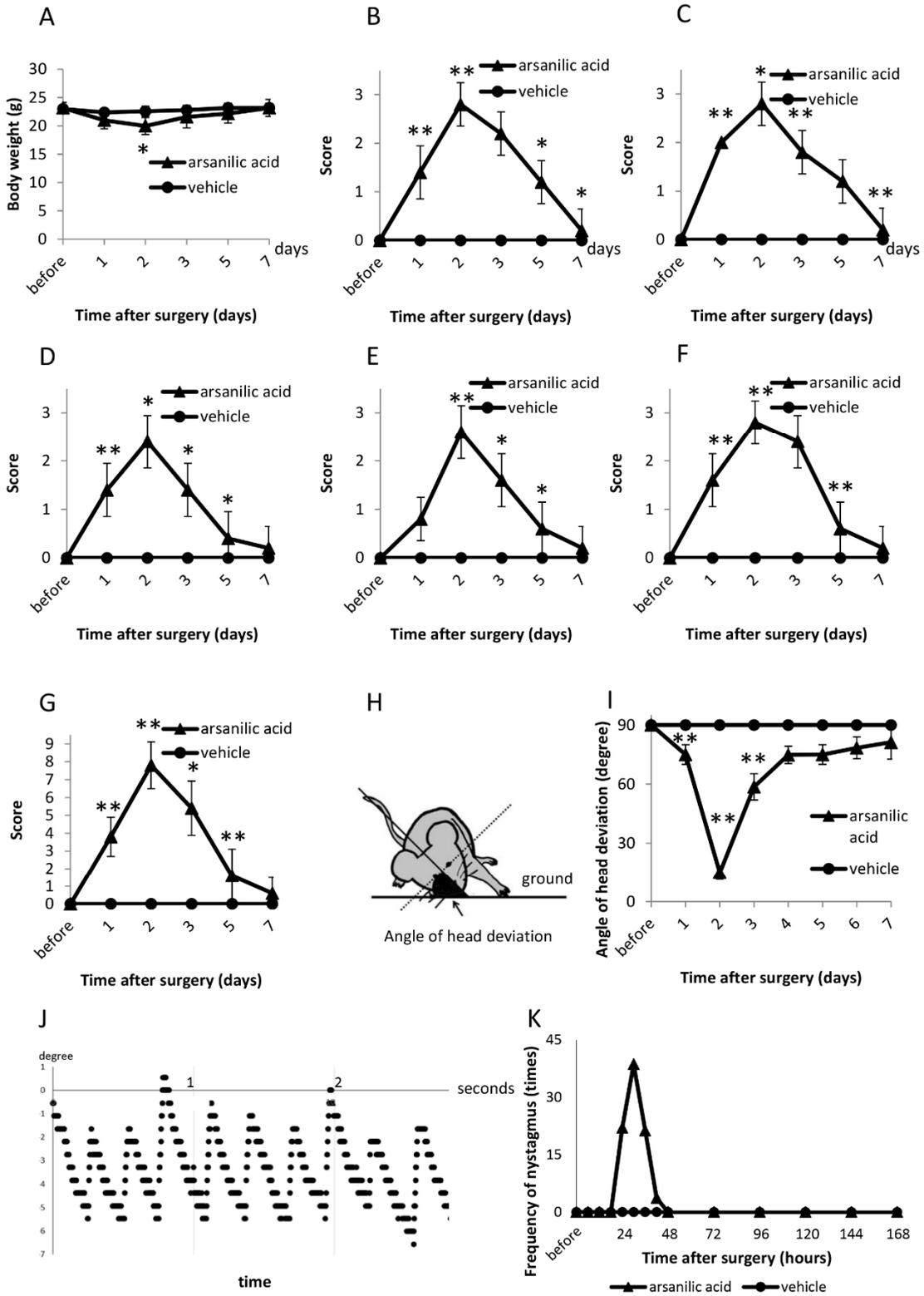
###### 側頭骨 HE 染色

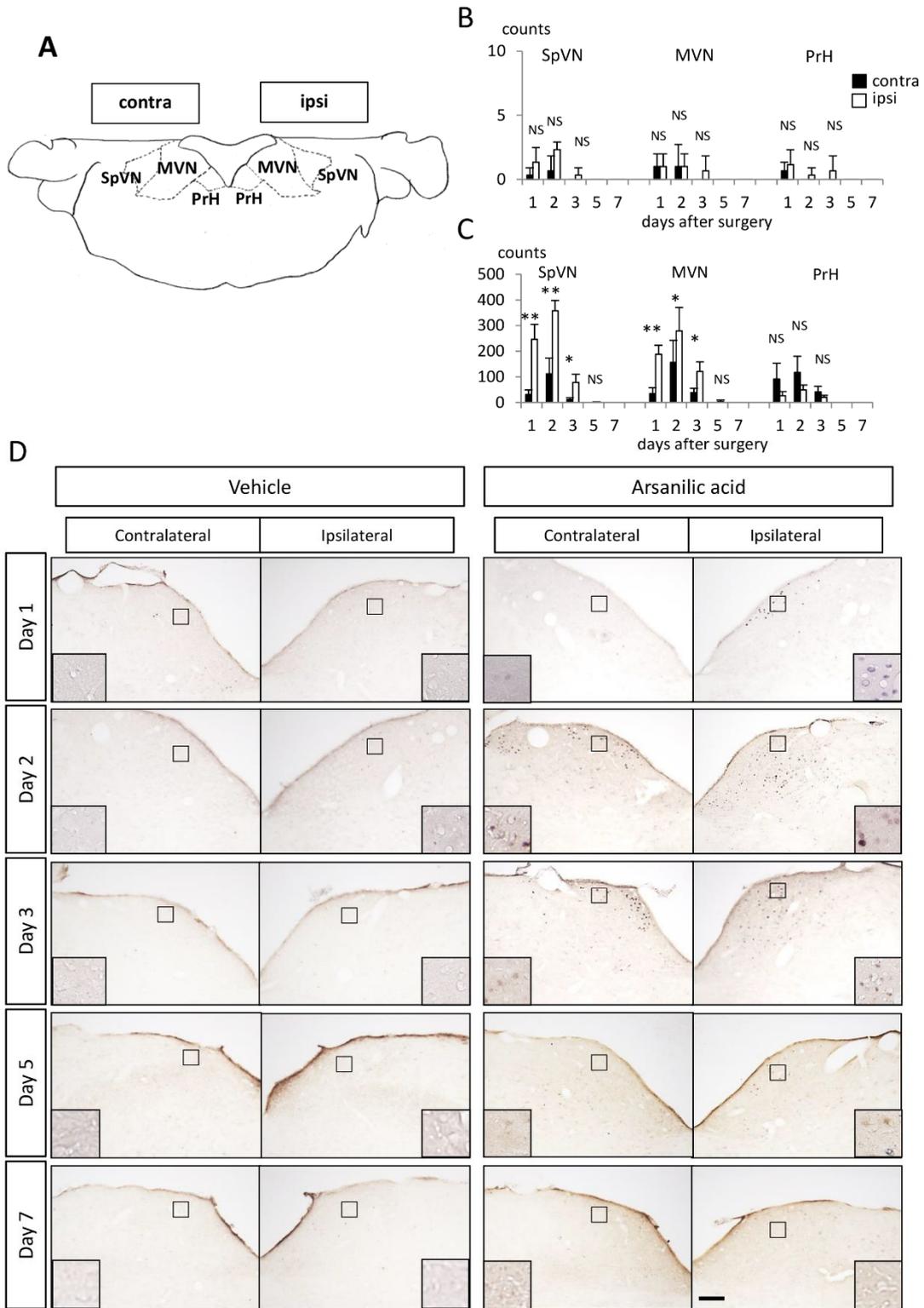
アルサニル酸による内耳破壊 (UL) を施行した場合コントロールと比較して前庭における耳石の消失、炎症細胞の浸潤、細胞質の脱落を認めた。

###### IEGs

内耳破壊 48 時間後の脳幹では、破壊側前庭神経核において健側前庭神経核と比較して c-fos の発現が多くみられた。Arc, Zif268 抗体を用いた染色でも同様の結果であった。

1





5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ito Taeko, Tatsumi Kouko, Takimoto Yasumitsu, Nishimura Tadashi, Imai Takao, Yamanaka Toshiaki, Takeda Noriaki, Wanaka Akio, Kitahara Tadashi	4. 巻 9
2. 論文標題 Vestibular Compensation after Vestibular Dysfunction Induced by Arsanilic Acid in Mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Brain Sciences	6. 最初と最後の頁 329 ~ 329
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/brainsci9110329	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 伊藤妙子、滝本泰光、今井貴夫、西村忠己、山中敏彰、北原 紘
2. 発表標題 アルサニル酸を用いたマウス内耳破壊
3. 学会等名 めまい平衡医学会総会・学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazuki Nakahara, Taeko Ito
2. 発表標題 A new procedure of labyrinthectomy in mice by means of transtympanic injection of p-arsanilic acid
3. 学会等名 Barany society XXX meeting（国際学会）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------