

令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16872

研究課題名（和文）「window」に注目した上半規管裂隙症候群の病態・治療に関わる基礎的検討

研究課題名（英文）Diagnosis and treatment for superior canal dehiscence syndrome

研究代表者

池田 怜吉（Ikeda, Ryoukichi）

東北大学・大学病院・講師

研究者番号：30645742

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,300,000円

研究成果の概要（和文）：水中内視鏡下半規管充填術を施行した上半規管裂隙症候群症例の術後聴力の検討を行った。2017-2019年に手術を行った7例を対象に純音聴力検査を含む診療録を後ろ向きに調査した。治療効果を症状の消失、軽減、不変に分け問診により調査した。急性期の平均最大閾値上昇はいずれの周波数においても有意に上昇していた。上半規管裂隙症候群の臨床所見はおおむね改善が認められていた。本術式による一過性骨導閾値上昇の原因として、膜迷路切断（部分的上半規管切除）や術後の外リンパ漏出といった影響もあるかもしれない。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、上半規管裂隙症候群に対する治療である経乳突の充填術における、内耳機能への影響について一定の理解が得られた。本研究結果により、上半規管裂隙症候群に対する治療において、内耳機能の長期的な温存が可能であることが示された。その一方で短期的には一時的に内耳機能の低下が起きうる結果であった。このことは、上半規管裂隙症候群の治療において内耳機能の温存への今後の研究の足掛かりとなると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Postoperative hearing of patients with superior superior canal dehiscence syndrome who underwent underwater endoscopic semicircular canal occlusion was studied retrospectively in seven patients operated in 2017-2019, including medical records with pure tone audiometry. The effect of treatment was divided into resolution, reduction, and invariance of symptoms and investigated by interview. The mean maximum threshold elevation in the acute phase was significantly elevated at all frequencies. The clinical findings of superior canal dehiscence syndrome were generally improved. The transient increase in osteoconductive thresholds due to this procedure may be due to the effects of membrane maze transection (partial upper semicircular canal resection) and postoperative extralymphatic leakage.

研究分野：耳科学

キーワード：上半規管裂隙症候群 内耳 耳管

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Third window が生じることによる蝸牛機能への影響、また window を減らすことによる治療法である round window reinforcement はどういったメカニズムになっているのか？

上半規管裂隙症候群は Minor らが 1998 年に報告した比較的新しい疾患単位である。上半規管に生じた裂隙部分が、従来の正円窓、卵円窓に続く「第三の窓：third window」として働くことによって、外リンパ還流に変化が生じ、Tullio 現象や瘻孔症状などの前庭症状並びに特に低音域の骨導閾値の低下並びに気導閾値の上昇による気骨導差や、臥位にて消失する自声強聴、耳閉感などの蝸牛症状を呈する。従来は欧米に多い疾患とされてきたが、日本における報告も増加しており、申請者の所属機関でもここ 2 年の間に 12 例を経験した。

当初はめまい疾患として認識されていた本疾患であるが、必ずしも前庭症状を伴うものだけでなく、蝸牛症状のみを呈する症例も多く経験する。しかし、前庭症状、蝸牛症状がどういった症例に生じるのかといった詳細なメカニズムについては未だ解明されていない。

また、当初は手術的治療法としては、中頭蓋窩法または経乳突法による半規管充填術が主流であったが、近年では、より低侵襲な方法として Silverstain らが報告した round window reinforcement が注目されており、当施設でも 3 症例に施行した。この方法は、上半規管裂隙にて生じた「third window」に対して、他の window (通常は正円窓) を閉鎖することにより、従来の「two window」の状態へ戻そうというコンセプトの術式である。

手術効果としては従来法と比較し、やや弱いものの、低侵襲で施行可能なため、第一選択として推奨している報告も散見されるが、その効果やメカニズムについては不明な点も多い。

そこで今回、これまで申請者が行ってきた内耳電気生理学的手法並びに分子生物学的手法を用いて、third window モデルを作成し、かつメカニズムの解明の一助として Keap1-Nrf2 制御系に焦点を当てた内耳機能解析を行うことを思いついた。

2. 研究の目的

1. Third window モデルマウスを作成する点

マウス third window モデルを確立することにより、様々な遺伝子改変マウスでの前庭機能並びに蝸牛機能の温存効果を検討することが可能になり、上半規管裂隙症候群のみならず、様々な蝸牛侵襲における発症メカニズム並びに治療法へのプレイクスルーになる可能性を秘めている。

2. Keap1-Nrf2 制御系に焦点を当てる点

Nrf2 は定常状態では Keap1 と結合した状態で蛋白分解され作用を抑制されているが、酸化ストレスにさらされると Keap1 による Nrf2 の抑制機構は解除され、核内に移動した Nrf2 が標的遺伝子の発現を誘導する。このように緊密に関連し合いながら Keap1-Nrf2 制御系は生体の様々な酸化ストレス防御機構に中心的な役割を果たしている。(Motohashi H, Yamamoto M. Trends Mol Med. 2004)

当教室と、本学医化学分野との間で、頭頸部腫瘍や内耳分野に関する共同研究を行ってきた。

(Ohkoshi, et al., Cancer Prev Res, 2013) (Honkura et al., Sci Rep. 2016)

上半規管裂隙症候群をはじめとする「third window」の疾患に関しても、圧変化や音響負荷などのストレスに対する Keap1-Nrf2 制御系の関与が考えられ、今回の解析は非常に意義深いと考えられる。

3. 研究の方法

(1) Third window モデルの作成

(2) 手術法の違いによる蝸牛機能の影響の検討

(3) Third window disease における Keap1-Nrf2 制御系の関与の検討

1 つ目の目標達成のため、マウスを用いて third window モデルの作成をし、電気生理学・組織学・分子生物学的解析を行う。

2 つ目の目標達成のため(1)にて作成したモデル動物を用いて様々な組織を用いた round window reinforcement を行い、電気生理学・組織学・分子生物学的解析を行う。

3 つ目の目標達成のため、third window モデルマウスにおいて Glutathione、Nrf2、Keap1 の発現について検討を行い、また Nrf2、Keap1 knock out mouse を用いて third window を作成し、内耳機能の評価を行う。

(1) third window モデルの作成

モルモット並びにマウスを用いて third window モデルを作成する。

最初に容易に作成可能と考えられるモルモットでの検討を行った後に、マウスでの検討を行う。ドリルを用いて、上半規管・後半規管・外側半規管に対して骨迷路の開放を行い、検討を行う。骨欠損の大きさ、膨大部からの距離の条件設定を行い、骨欠損作成直後、1日後、1週間後、4週間後、3か月後について検討する。

評価項目としては、電気生理学検査として、ABR、DPOAE、CAP、CM並びに double barrel 電極にて EP、K⁺、Ca²⁺の検討を行う。組織学的検討として内耳有毛細胞カウント、並びに内耳形態変化の検討を行う。

(2) 手術法の違いによる蝸牛機能の影響の検討

前年度に作成した third window モデルマウスを用いて round window reinforcement 前後の検討を行う。骨欠損の程度、位置については前年度の結果を踏まえて設定する予定である。Round window に筋膜、軟骨膜、軟骨、側頭骨骨片、bone wax を各々単独並びに組み合わせの条件設定を行い、骨欠損作成直後、1日後、1週間後、4週間後、3か月後について検討する。

評価項目としては、電気生理学検査として、ABR、DPOAE、CAP、CM並びに double barrel 電極にて EP、K⁺、Ca²⁺の検討を行う。組織学的検討として手術材料の経時的な変化を観察するため round window 周囲の組織学的検討 (HE 染色、電顕) を行い、内耳への影響の観察として内耳有毛細胞カウント、内耳形態変化の検討を行う。

(3) Third window disease における Keap1-Nrf2 制御系の関与の検討

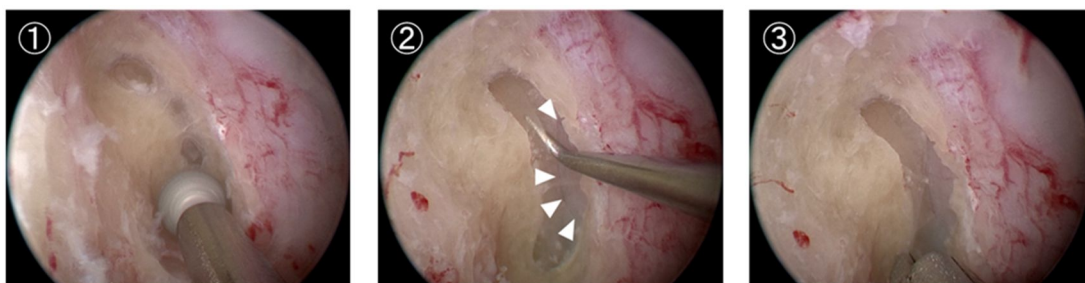
Keap1-Nrf2 制御系に関するマウスを用いて、Keap1-Nrf2 制御系の関与の検討を行う。ストレス負荷の方法として、third window モデルマウスに対し、音響外傷モデルとして当科にて行っている音圧・時間 (8-16kHz octave band noise, TTS: 89dB, 120min, PTS 105dB, 120min) にて音響を負荷する。

Nrf2 が恒常的に活性化している Keap1 ノックダウン (Keap1f^{-/-}) マウスを用いて、Nrf2 活性化の効果を検討する。評価としては、負荷前後の ABR、DPOAE、CAP、CM にて電気生理学的検討を行う。内耳有毛細胞カウントにて組織学的検討を行う。分子生物学的検討として glutathione, Nrf2, HO-1, NQO1 について RT-PCR にて Keap1f^{-/-}マウス・Keap1f^{+/+}マウス・Nrf2 ノックアウトマウス・WT マウスでの発現量を比較検討する。また免疫染色にてそれらの発現部位の検討を行う。

4. 研究成果

水中内視鏡下における上半規管裂隙症候群に対する半規管切断術の検討

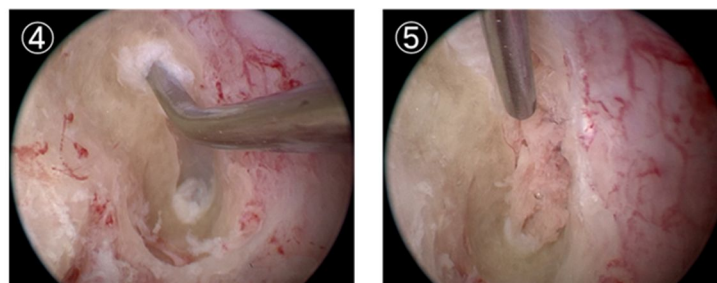
下図のように水中下で膜迷路の操作を行うことにより、半規管の膜迷路が鮮明に確認できる。



①上半規管の開放

②裂隙範囲の確認

③部分的上半規管切除



④筋膜の充填

⑤骨パテの充填

上半規管裂隙症候群の臨床症状の術前術後の変化

図のように、手術治療により、上半規管裂隙症候群の多くの症状が消失または軽減していた。

症状		術前	術後		
		有症数	消失	軽減	不変
聴覚症状	聴覚過敏	5	5	0	0
	自声強聴	5	5	0	0
	呼吸音聴取	1	1	0	0
	体内音聴取	3	3	0	0
	耳閉感	4	4	0	0
	耳鳴	2	2	0	0
	拍動性耳鳴	2	2	0	0
	難聴	1	1	0	0
平衡症状	慢性めまい	4	1	2	1
	体位変化	1	1	0	0
	強大音	2	2	0	0
	息み	1	1	0	0

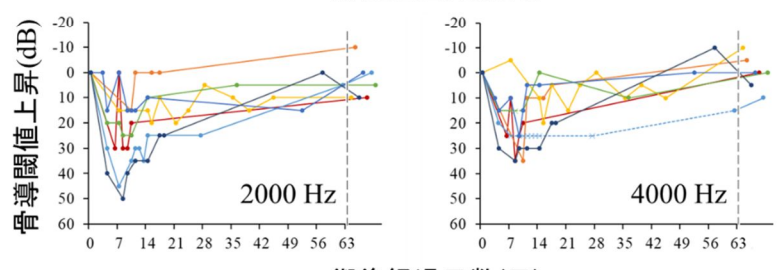
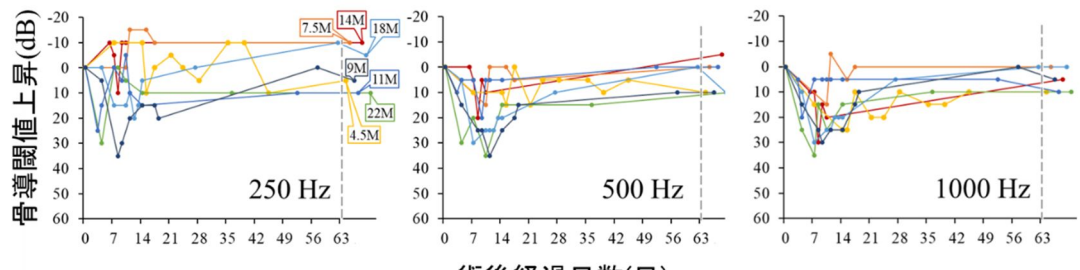
術前術後の聴力の変化

手術後の聴力はほぼ保たれていた。

症例		1	2	3	4	5	6	7	平均 (SD)
平均気導聴力 (dB)	術前	3.8	26.3	21.3	37.5	17.5	23.8	13.8	20.5 (10.6)
	術後	11.3	18.8	25.0	35.0	15.0	20.0	17.5	20.4 (7.7)
	術後-術前	7.5	-7.5	3.8	-2.5	-2.5	-3.8	3.8	-0.2 (5.3)
平均骨導聴力 (dB)	術前	-3.8	21.3	17.5	25.0	15.0	16.3	13.8	15.0 (9.1)
	術後	-1.3	17.5	23.8	31.3	20.0	18.8	21.3	18.8 (9.9)
	術後-術前	2.5	-3.8	6.3	6.3	5.0	2.5	7.5	3.8 (3.8)*
平均気骨導差 (dB)	術前	17.5	15.0	5.0	27.5	0	20.0	5.0	12.9 (9.8)
	術後	20.0	15.0	5.0	5.0	0	10.0	2.5	8.2 (7.2)
	術後-術前	2.5	0	0	-22.5	0	-10.0	-2.5	-4.6 (8.8)

各周波数毎の術後聴力の経過

いずれの周波数も急性期では一過性の閾値上昇を認めたが、その後徐々に閾値は改善していった。



— Case 1 — Case 2 — Case 3 — Case 4 — Case 5 — Case 6 — Case 7 ×·····scale out

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------