

平成 22 年 5 月 17 日現在

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2007 ～ 2009  
 課題番号：19591989  
 研究課題名（和文） 発作性頭位めまい症の発症メカニズムとエストロゲンの前庭器内局在に関する基礎的研究  
 研究課題名（英文） Model experiments on BPPV mechanism and estrogen receptor distribution within the vestibular organ.  
 研究代表者  
 鈴木 衛 （SUZUKI MAMORU）  
 東京医科大学・医学部・教授  
 研究者番号：80116607

## 研究成果の概要（和文）：

前庭器におけるエストロゲン受容体の分布は、雄よりも雌動物で強いが高齢で低下し、耳石器の耳石の剥脱は高齢動物と更年期動物で著明であった。エストロゲン低下が耳石の代謝異常を起し、良性発作性頭位性めまい症の発症に関与するものと考えられた。また、耳石の安定化を検証した実験で、理学療法後の耳石の安定度が卵形囊斑耳石層の状態に左右されること、約 5 分後に耳石が安定化することから、理学療法後のめまいは卵形囊斑の異常に左右されることと卵形囊斑障害が大でも本治療が有効であることが証明された。

## 研究成果の概要（英文）：

Estrogen receptors (ER) in the vestibular organ were investigated by immunochemical method. ER was distributed more in the female and it markedly decreased in the elderly animals. Dislodge of the otoconia due to mechanical stimulus was more pronounced in the elderly and menopausal animals, suggesting otoconial metabolic disorder contributes to emergence of benign paroxysmal positional vertigo. Stability of the otoconia placed on the utricular macula was studied using the frog model. The otoconial stability depends on condition of the utricular macula, but it became stabilized in 5 min., suggesting that the physical therapy is still useful even if the utricular macula is disturbed.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

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：良性発作性頭位めまい症、耳石、前庭、更年期、卵形囊、半規管、エストロゲン

## 1. 研究開始当初の背景

めまいのうち最も多い良性発作性頭位めまい症 (BPPV) は予後良好とされる。しかしながら、遷延化例、難治性例、あるいは易再発性の症例は稀でなく、これらでは日常生活の QOL が著明に障害されている。疫学所見から BPPV は更年期以後の女性に多く、さらに難治性、再発性のもこの年代に多いことが分かっている。近年の研究から、BPPV の主病態は半規管結石症やクプラ結石症であることが判明してきた。我々も過去の基礎的研究から、これらが本症の主病態となることを報告してきた。しかしながら、本症の発症メカニズム、治療法、予防法については不明の点が多い。これは、本めまい症の動物モデルが確立されていないのが一つの原因で、知見の獲得が臨床経験や検査所見に依存しているのが現状である。

## 2. 研究の目的

動物モデルを作成して、基礎的研究の成果から、BPPV の発症、難治化、再発などのメカニズムを解明し、治療法や予防法の確立に役立てる。とくに、更年期以後の女性に半規管結石症やクプラ結石症が頻発するメカニズムや耳石の不安定化の機序が解明されれば、本症の治療法の確立や発症の予防などが可能になるものと考え、本研究を企画した。本研究は、普遍的な内耳疾患である BPPV の動物モデルを作成することと、耳石の脱落現象、さらにホルモン受容体をこのモデルで検索することが独創的と考える。

## 3. 研究の方法

### 1) 更年期・高齢ラットにおける耳石の剝脱

ラットの卵巢摘出によって更年期モデルを作成した。この若年動物と更年期動物、さらに高齢動物において卵形囊耳石や耳石膜の形態を実体顕微鏡ならびに走査電顕で検索し、形態異常の有無を調べた。ついで振動刺激を側頭骨に与え、耳石の卵形囊斑

からの脱落程度を比較した。同時に走査電顕で耳石ならびに耳石膜の変化を観察し、それらが脱落にいかに関与するかを検索した。振動負荷後の耳石の脱落程度の定量には高精度実体顕微鏡を用いた。

### 2) 若年、更年期、高齢ラットにおけるエストロゲン受容体 (ER) の前庭内分布

内耳形態変化と ER との関係を見るためにラット側頭骨を摘出、4%ホルマリンで固定した。EDTA で脱灰後、切片を作成し、H-E 染色を行った。その後 ER を LSAB 法で免疫組織染色した。蝸牛の ER については免疫染色による報告がある。これに従い、免疫染色法を用いて ER の前庭器における分布状態を検索した。マウス内耳の ER $\alpha$  と  $\beta$  の発現を蛍光顕微鏡により免疫組織学的に検索した。検索部位は蝸牛では血管条、内外有毛細胞、前庭神経節細胞、前庭器では半規管感覚細胞、耳石器感覚細胞、耳石膜、暗細胞、内リンパ囊、前庭神経節とした。ER $\alpha$  と  $\beta$  の発現強度は蛍光顕微鏡により定量化した。

### 3) 卵形囊斑耳石層上の耳石塊安定度の実験

BPPV の特異的理学療法として頭位治療 (耳石置換法) が広く用いられている。有効性は高いが、症例によっては難治性となる。頭位治療によって卵形囊に戻った耳石が卵形囊耳石上で安定するまでの時間を計測し、耳石の安定化の差が難治性の原因となる可能性について検索した。摘出ウシガエルの正常卵形囊耳石上に耳石塊を置き、直後、3 分後、5 分後にそれぞれ、卵形囊を垂直に 10 秒間保持した後の耳石塊の位置を観察した。卵形囊斑耳石層の状態は正常、耳石層半分除去、耳石層完全除去の 3 種に分けた。これは、正常、更年期・高齢、高度障害の 3 条件のシミュレーションとするためである。耳石安定度や耳石の形態は、高感度実体顕微鏡、走査型電子顕微鏡で観察した。

## 4. 研究成果

## 1) 更年期・高齢ラットにおける耳石の剥脱

東京医科大学産婦人科学教室の指導によって卵巣摘出法を習得した。この方法でラットの更年期モデル動物を作成することに成功した。1. 正常群 (14~18 週齢群) 2. 更年期モデル群 (10~12 週齢で卵巣摘出した 14~18 週齢群) 3. 高齢群を作成した。卵形囊耳石と耳石膜、半規管クプラの形態はこの 3 群間で大きな差はなかった。ついでドリルで振動刺激を側頭骨に 5 分、あるいは 10 分間与え、①平衡斑表面の菲薄化、②平衡斑辺縁の不整、③平衡斑周囲の耳石流出を実体顕微鏡で観察した。耳石剥脱程度を点数換算し、評価した。振動負荷後、球形囊斑において耳石剥脱がみられた。振動負荷を長時間とするほど耳石剥脱程度が増加した。振動負荷 10 分では、正常ラットでも高度に耳石が剥脱した。同じ刺激時間で各モデルラットを比較すると、更年期、高齢ラットは、有為に正常ラットよりも耳石が剥脱しやすいことがわかった。以上から、更年期や高齢の状態では形態的变化によって耳石が剥脱しやすくなり、半規管結石症を惹起し、さらに BPPV を起こすと考えられた。また、半規管クプラも薬物負荷その他の原因により形態変化、とくに収縮を起すことが判明し、頭位性めまいの原因になることが考えられた。このことから、機械的振動の他、ホルモン異常、内耳炎、内リンパ水腫、薬物投与、アブミ骨手術など様々な条件下で耳石が剥脱し、さらにクプラ形態も変化し、発作性頭位めまい症の原因になることが推察された。

## 2) 若年、更年期、高齢ラットにおけるエストロゲン受容体 (ER) の前庭内分布

ラット側頭骨の H-E 染色と LSAB 法による免疫組織染色の結果、ER は卵形囊、球形囊、膨大部には発現せず、骨迷路内に発現していた。内耳骨は 3 層の骨から成るが、その中間に位置する層に ER が発現していた。しかし、各群間に差はなく、ER 数はエストロゲン量の増減に関係なく存在していることがわかった。Collagen II 染色を行うと内耳骨の中間層で正常群と更年期群で骨量の違いが認められ、これが BPPV の発症と関係することが想像された。

若年と高年のマウス内耳の ER $\alpha$  と  $\beta$  の発現を免疫組織学的に検索すると、ER $\alpha$ 、 $\beta$  とともに蝸牛の血管条、内外有毛細胞、前庭神経節細胞、暗細胞、内リンパ囊などに認められた。蛍光顕微鏡で発現強度を観察すると、 $\alpha$  の発現は雄よりも雌マウスで強く、高齢マウスでは  $\alpha$ 、 $\beta$  とともに低下していた。性別や年齢で両 ER の発現が異なることから、前庭における ER の機能的差異や BPPV 発症への関与の差が推測された。ヒトで更年期や高齢期にエストロゲンが減少すると、それにより ER が減少する。特に ER $\alpha$  の減少は耳石の代謝障害を惹起し、結果として高率にめまいや BPPV を発症することが考えられた。

## 3) 卵形囊斑耳石層上の耳石塊安定度の実験

正常卵形囊では耳石塊を卵形囊斑の直上に置くと耳石膜に捕らえられ、直ちに固定するのが観察された。正常卵形囊では耳石塊は速やかに固定され、めまいは消失すると考えられる。耳石半分除去モデルでは耳石塊固定までに最低 3 分を要し、半規管結石症が起こると理学療法後もめまいが残存しやすいと考えられた。耳石完全除去卵形囊では耳石塊を置いた直後に耳石塊は移動し、固定までに 5 分を要した。これは耳石膜が消失しているため直ちに耳石塊を固定できないため、耳石除去の状態では耳石塊の固定は弱く、めまいが残存しやすいと考えられた。このように、耳石層が異常な状態では耳石塊の固定は弱く、高齢者や更年期では耳石代謝が障害され、不安定感やめまいの原因となることが想像できた。しかしながら、一定時間後には耳石は固定するので理学療法の有効性は保たれていると考えられた。高齢者や更年期では耳石代謝が障害され、耳石除去の状態になることが想像できる。このような耳石層の障害が難治例の原因の一つと推察した。

## 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 3 件)

- ① Motohashi R, Takumida M, Shimizu A, Konomi U, Fujita K, Hirakawa K, Suzuki M, Anniko M: Effects of age and sex on the expression of estrogen receptor alpha and beta in the mouse

inner ear. Acta Otolaryngologica 130: 204-214, 2009

- ② Konomi U, Suzuki M, Otsuka K, Shimizu A, Inagaki T, Hasegawa G, Shimizu S, Motohashi R: Morphological change of the cupula due to an ototoxic agent; a comparison with semicircular canal pathology. Acta Otolaryngologica [Epub, ahead of print] 2009
- ③ 稲垣太郎, 湯川久美子, 市村彰英, 萩原晃, 小川恭生, 北島尚治, 中村珠理, 鈴木 衛: 内耳疾患の経過中に発症したBPPV様症候の検討. Equilibrium Research 67,18-23, 2008

[学会発表] (計6件)

- ① Otsuka K, Suzuki M, Shimizu S, Konomi U, Ogawa Y, Hayashi M: Model experiments of otoconia stability after canalith repositioning procedure of BPPV. 19th World Congress of Otorhinolaryngology 2009.6.3, Sao Paulo
- ② 本橋 玲, 工田昌也, 鈴木 衛: マウス内耳におけるエストロゲンレセプター $\alpha$ ,  $\beta$ の発現への加齢、性別の影響. 第19回日本耳科学会 2009.10.8, 東京
- ③ Suzuki M, Otsuka K, Inagaki T, Shimizu S, Konomi U, Hasegawa G, Kitajima N, Ogawa Y: Positional and positioning vertigo. Morphological change of the cupula as a possible etiology of intractable BPPV. 25th Barany Society Meeting. 2008. 4. 1, 京都市
- ④ Suzuki M: Morphological change of the semicircular canal cupula and its involvement in BPPV etiology. 82th Collegium Otorhinolaryngologicum Amicitiae Sacrum Meeting. 2008.8.25, Berlin
- ⑤ 大塚康司, 鈴木 衛, 清水重敬, 許斐氏元, 小川恭生, 林 麻美: 実験的にみたBPPV頭位療法後の耳石塊の動態について. 第67回日本めまい平衡医学会. 2008.10.29, 秋田市
- ⑥ 許斐氏元, 清水 顕, 本橋 玲, 鈴木 衛: 振動負荷による更年期や高齢モデルラットでの球形囊耳石の形態変化. 第67回日本めまい平衡医学会. 2008.10. 31, 秋田市

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

○取得状況 (計0◇件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

[その他]  
ホームページ等  
なし

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者 鈴木 衛  
(SUZUKI MAMORU)  
東京医科大学・医学部・教授  
研究者番号: 80116607

(2) 研究分担者 ( )  
研究者番号:

(3) 連携研究者 ( )  
研究者番号: