

## 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25年 5月27日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2012

課題番号：21592159

研究課題名（和文）メニエール病発作発現時と治療時における前庭機能に関する研究

研究課題名（英文）Vestibular functions at the Meniere's attack and after treatment

研究代表者

柿木 章伸（KAKIGI AKINOBU）

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：60243820

研究成果の概要（和文）：メニエール病のめまい発作を誘発するモデル動物の作成に成功した。このモデルは、内リンパ嚢の機能障害を起こさせたモルモットに抗利尿ホルモンを投与するものである。組織学的には内リンパ水腫が形成されているが、内リンパ嚢機能障害もしくは抗利尿ホルモン投与単独と比べ、内リンパ水腫の程度が高度であった。さらに、内リンパ嚢機能障害もしくは抗利尿ホルモン投与単独では僅かに自発眼振を認める動物がいたが体平衡異常は認めなかった。新しいモデル動物では全例に自発眼振を認めるとともに体平衡異常も認めた。これらの結果からメニエール病の発作は、内リンパ嚢の機能障害に抗利尿ホルモンの異常高値が加わり引き起こされると考えられる。この新しいメニエール病モデル動物に抗利尿ホルモン V2R 拮抗薬を投与することにより内リンパ水腫の軽減と自発眼振・体平衡異常の消失を認めた。このことは、抗利尿ホルモン V2R 拮抗薬がメニエール病の新しい治療薬となる可能性を示唆する結果といえる。

研究成果の概要（英文）：We produced a new animal model for Meniere's disease. This model consists of hypo-function of endolymphatic sac and administration of vasopressin. This model showed larger endolymphatic hydrops than those of hypo-function of endolymphatic sac only and administration of vasopressin only. Moreover, this model showed spontaneous nystagmus and balance disorder. These results indicate that hypo-function of endolymphatic sac in combination with high plasma level of vasopressin would induce vertiginous attack of Meniere's disease. Further, we administered V2R antagonist to the new animal model for Meniere's disease. The animal showed decrease in endolymphatic hydrops and did not show spontaneous nystagmus or balance disorder. This result implies that V2R antagonist might be used for a treatment of Meniere's disease.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：メニエール病、内リンパ水腫、抗利尿ホルモン、めまい発作、自発眼振

## 1. 研究開始当初の背景

メニエール病の病理組織学的な特徴は内リンパ水腫である。近年、内リンパ水腫形成の機序に抗利尿ホルモン (VP) とそれによって制御されるアクアポリン 2 (AQP2) が深く関与することが明らかになってきた。しかし、内リンパ水腫形成とメニエール病の発作の関連についてはいまだ明らかにされていない。メニエール病発作発症の機序に関する仮説のひとつに外リンパ腔の高カリウム化 (高カリウム化説) がある。これまで我々は、この仮説の妥当性を支持する結果として、急性内リンパ水腫において外リンパ腔のカリウムイオン濃度が上昇することを証明した。また、内リンパ水腫形成とメニエール病の発作の関連について、内リンパ水腫モルモットでは VOR gain の有意な低下と、僅かではあるが自発眼振を認める動物が存在することを、赤外線 CCD カメラ装置を用いて明らかにした。さらに、ラットに VP を皮下注すると、投与後 20 分後をピークとする血管条の浮腫状変化が認められ、VP の V2 阻害薬を投与するとこの組織変化は見られなかった。これより、外リンパ腔から血管条内へ水が流入し、内リンパ水腫が形成されることが予想される。以上の結果から、メニエール病のめまい発作の機序をまとめると以下のごとくとなる。

抗利尿ホルモン (VP) 上昇⇒血管条での内リンパ液産生亢進⇒内リンパ水腫(メニエール病)⇒外リンパ腔高カリウム化⇒めまい発作

今回の研究では、内リンパ水腫形成とメニエール病の発作の関連についてさらに検証するために、VP 投与時の前庭機能を検討する。さらに、VP 拮抗薬投与の効果についても検討する。

## 2. 研究の目的

メニエール病の病理組織学的な特徴は内リンパ水腫である。しかしながら、内リンパ水腫とめまいの関連についての研究はほとんど見られない。これまでに我々は臨床および基礎研究分野においてメニエール病や内リンパ水腫に関して研究を重ねてきた。本研究ではこれらを踏まえた上で、モルモットでメニエール病の新しいモデル動物を作成し、内リンパ水腫とめまい発作の関連と治療薬の効果に関して検討を行う。

## 3. 研究の方法

### 実験 1

有色モルモット 28 匹を使用し、以下の 5 群について前庭機能を検討した。  
A 群 4 匹に対し、全身麻酔下に左側内リンパ管・囊閉塞術を施行後 1 週間飼育。

B 群 4 匹に対し、抗利尿ホルモン V2 作動薬であるデスマプレッシン 100  $\mu$  g/kg を皮下注。  
C 群 8 匹に対し、全身麻酔下に左側内リンパ管・囊閉塞術を施行後 1 週間飼育後デスマプレッシン 100  $\mu$  g/kg を皮下注。

D 群 8 匹に対し、全身麻酔下に左側内リンパ管・囊閉塞術を施行後 4 週間飼育後デスマプレッシン 100  $\mu$  g/kg を皮下注。

コントロール群 4 匹に対し、生食を皮下注。これら 5 群に対し、暗所にて赤外線 CCD カメラシステムで眼振記録を各群 4 匹に、C・D 群の各 4 匹に対し、体平衡異常の観察を目的に 1 時間の行動観察を各群 4 匹に行った。

### 実験 2

モルモット 28 匹を使用し、全身麻酔下に左側内リンパ管・囊閉塞術を施行した。手術後、14 匹を 1 週間、残りを 4 週間飼育した。両群とも 7 匹に対し、抗利尿ホルモン V2 作動薬であるデスマプレッシン 100  $\mu$  g/kg を、残りの 7 匹には同量の生理食塩水を皮下注し 1 時間経過観察した。全ての動物の側頭骨標本作製し、球形囊、卵形囊、半規管における膜迷路の占める割合を求め各群間で比較した。この実験の側頭骨を分類すると、手術後 1 週間飼育動物において、E (コントロール) 群、F (手術後 1 週間飼育) 群、G (デスマプレッシン投与) 群、H (手術後 1 週間飼育+デスマプレッシン投与) 群、手術後 4 週間飼育動物において、I (コントロール) 群、J (手術後 4 週間飼育) 群、K (デスマプレッシン投与) 群、L (手術後 4 週間飼育+デスマプレッシン投与) 群となる。統計学的検討は Tukey test を用い、危険率 5% 未満を有意差ありと設定した。

### 実験 3

有色モルモット 16 匹を使用し、以下の 2 群について前庭機能を検討した。  
M 群 8 匹に対し、全身麻酔下に左側内リンパ管・囊閉塞術を施行後 1 週間飼育後、デスマプレッシン 100  $\mu$  g/kg を皮下注前 1 時間に V2R の拮抗的阻害剤 (OPC-31260) 100mg/kg を経口投与。  
N 群 8 匹に対し、全身麻酔下に左側内リンパ管・囊閉塞術を施行後 4 週間飼育後、デスマプレッシン 100  $\mu$  g/kg を皮下注前 1 時間に V2R の拮抗的阻害剤 (OPC-31260) 100mg/kg を経口投与。  
これら 2 群に対し、暗所にて赤外線 CCD カメラシステムで眼振記録を各群 4 匹に、体平衡異常の観察を目的に 1 時間の行動観察を各群 4 匹に行った。

## 4. 研究成果

### 実験 1

自発眼振の誘発頻度は A 群 0%、B 群 25%、C

群 100%、D 群 100%、コントロール群 0%であった。体平衡異常の誘発頻度はC群 100%、D 群 100%であった。図 1、2 に刺激性と麻痺性めまいを示す。

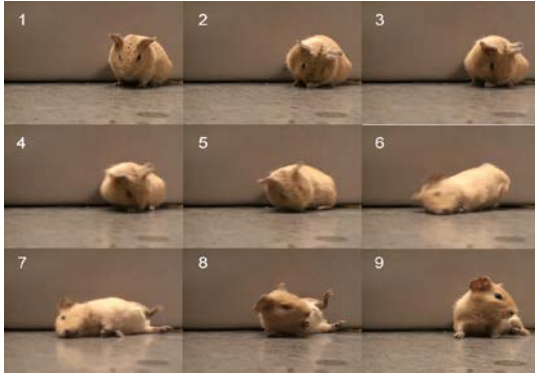


図 1 内リンパ嚢閉塞術側とは反対側に転倒しており刺激性めまいが誘発されていると考えられる。

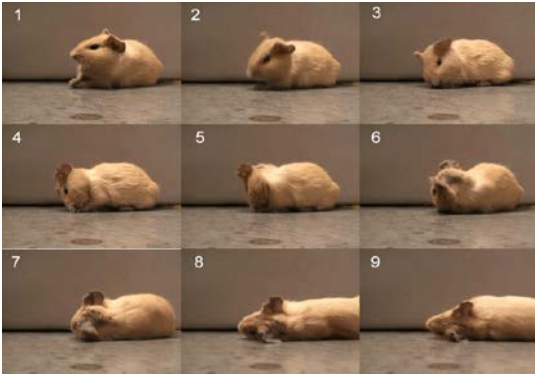


図 2 内リンパ嚢閉塞術側に転倒しており麻痺性めまいが誘発されたと考える。

#### 実験 2

球形嚢の骨迷路に対する面積の比較を各郡で行ったところ図 3 に示すごとく、L 群に続いて J 群で有意に内リンパ腔の拡大を認めた。

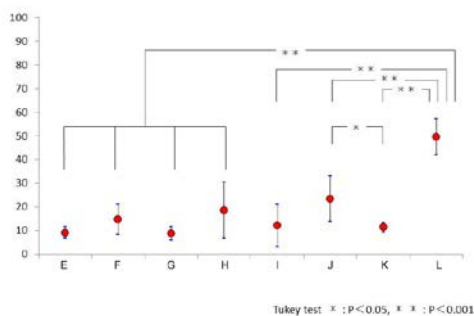


図 3 球形嚢の骨迷路に対する面積比の比較

この結果は、実験 1 において H 群と L 群どちらにも前庭機能障害が誘発されており、内リンパ水腫のいかんに関わらずめまい発作が発症することを示唆する結果である。

また、J(手術後 4 週間飼育)群は内リンパ水腫の存在だけではめまい発作は起こらないことを示唆している。

卵形嚢と半規管においては各群間に内リンパ腔の大きさには有意の差はなく、これらの場所では球形嚢と比べて内リンパ水腫が起こりにくいことを示しており、過去の報告と矛盾しない結果である。

#### 実験 3

M 群 N 群ともに自発眼振の誘発および体平衡異常を認めなかった。このことは V2R 拮抗薬により抗利尿ホルモンによる内リンパ水腫の増悪効果が抑制され、内耳液の急激な変化が起きなかったためと考えられる。

#### 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)

Takeda T, Takeda S, Egami N, Kakigi A, Nishioka R, Yamasoba T. Type 1 allergy-induced endolymphatic hydrops and the suppressive effect of leukotriene receptor antagonist. *Otol Neurotol*. 2012 Jul;33(5):886-90. doi:10.1097/MAO.0b013e3182565a27.

Kakigi A, Okada T, Takeda T, Takeda S, Nishioka R, Taguchi D, Nishimura M, Yamasoba T. Endocytosis of cationized ferritin in marginal cells of the stria vascularis is regulated by protein kinase, protein phosphatase, and MEK/ERK and PI3-K signaling pathways. *Otol Neurotol*. 2011 Jul;32(5):856-62. doi:10.1097/MAO.0b013e318210b8ad.

Kakigi A, Okada T, Takeda T, Takeda S, Nishioka R, Taguchi D, Nishimura M, Yamasoba T. Endocytosis of microperoxidase in marginal cells is mainly regulated by RhoA signaling cascade, but not by Rho-associated protein kinase, myosin light-chain kinase and myosin phosphatase. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*. 2011;73(1):1-8. doi:10.1159/000321117. Epub 2010 Oct 26.

Takeda T, Kakigi A. The clinical value of extratympanic electrocochleography in the diagnosis of Ménière's disease. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*. 2010;72(4):196-204. doi:10.1159/000315552. Epub 2010 Jul 29.

Kakigi A, Okada T, Takeda T, Takeda S, Taguchi D, Nishimura M, Yamasoba T. Endocytosis of MPO in marginal cells is regulated by PKC, protein phosphatase, ERK and PI3-K signaling cascades, but not by PKA and MEK signaling cascades. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*. 2010;72(4):188-95. doi: 10.1159/000314697. Epub 2010 Jul 29.

Kakigi A, Taguchi D, Takeda T, Takeda S, Nakatani H. Time course of vestibular function changes of experimental endolymphatic hydrops in guinea pigs. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*. 2010;71 Suppl 1:19-25.

Nishioka R, Takeda T, Kakigi A, Okada T, Takebayashi S, Taguchi D, Nishimura M, Hyodo M. Expression of aquaporins and vasopressin type 2 receptor in the stria vascularis of the cochlea. *Hear Res*. 2010 Feb;260(1-2):11-9. doi: 10.1016/j.heares.2009.09.011.

Nishimura M, Kakigi A, Takeda T, Takeda S, Doi K. Expression of aquaporins, vasopressin type 2 receptor, and Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup> cotransporters in the rat endolymphatic sac. *Acta Otolaryngol*. 2009 Aug;129(8):812-8. doi: 10.1080/00016480802441754.

Nishimura M, Kakigi A, Takeda T, Okada T, Doi K. Time course changes of vasopressin-induced enlargement of the rat intrastrial space and the effects of a vasopressin type 2 antagonist. *Acta Otolaryngol*. 2009 Jul;129(7):709-15. doi: 10.1080/00016480802419115.

[学会発表] (計 26 件)

西岡利恵、柿木章伸、兵頭政光. ラット蝸牛血管条における水チャネルの局在. 第110回日本耳鼻咽喉科学会総会ならびに学術講演会 東京 2009. 5.14-16

Kakigi A, Yamasoba T, Takeda T. Vestibular function in a new animal model for Meniere's disease. 46th Inner Ear Biology Workshop - Utrecht, Netherlands, 2009. 9. 12-15

Takeda T, Takeda S, Kakigi A. Type-1 allergy-induced endolymphatic hydrops and the suppressive effect of leukotriene antagonist. 46th Inner Ear Biology Workshop - Utrecht, Netherlands, 2009. 9.

12-15

西村将彦、柿木章伸、竹田泰三、土井勝美. Bumetanide投与によるラット血管条の形態変化とOPC-31260投与における効果. 第19回日本耳科学会総会・学術講演会, 東京 2009.10.8~10

西岡利恵、柿木章伸、兵頭政光. ラット内耳血管条におけるアクアポリン10~12の発現. 第19回日本耳科学会総会・学術講演会, 東京 2009.10.8~10

Takeda T, Kakigi A. Aquaporins as Potentials Drug Targets for Meniere's disease and its Related Disease. BIT's 2nd Annual Congress and Expo of Molecular Diagnostics, Beijing, China 2009. 11. 19-21.

柿木章伸、山岨達也、竹田泰三. 内リンパ水腫動物の前庭機能. 第68回日本めまい平衡医学会 総会・学術講演会 2009.11.25-27 徳島市

西岡利恵、柿木章伸、兵頭政光. ラット内耳前庭におけるAQPの発現. 第68回日本めまい平衡医学会 総会・学術講演会 2009.11.25-27 徳島市

西村将彦、柿木章伸、竹田泰三、土井勝美. Vasopressin投与によるラット血管条の形態変化について(第3報). 第68回日本めまい平衡医学会 総会・学術講演会 2009.11.25-27 徳島市

Kakigi A. Mechanisms underlying the Formation of Endolymphatic Hydrops and its Clinical Pictures. 49th Korean Audiological Society academic meeting, Seoul, Korea, 2010. 5. 15

Takeda T, Takeda S, Egami N, Kakigi A, Nishioka R. Type-1 allergy-induced endolymphatic hydrops and the suppressive effect of anti-allergy drugs. 47th Inner Ear Biology Workshop - Prague, Czech Republic, 2010. 8. 29-9. 1

柿木章伸、江上直也、山岨達也、西岡利恵、竹田泰三. 内リンパ水腫動物の前庭機能(第2報). 第69回日本めまい平衡医学会総会・学術講演会 2010.11.17-19 京都

Kakigi A, Egami N, Sakamoto T, Nishioka R, Hyodo M, Takeda T, Yamasoba T. Vestibular Function in A New Animal Model for Meniere's Disease. Sixth International Symposium on Meniere's Disease and Inner Ear Disorders. Kyoto, Japan. 14-17 November, 2010

Egami N, Kakigi A, Takeda T, Takeda S, Nishioka R, Yamasoba T. Type-1 Allergy-Induced Endolymphatic Hydrops and the Suppressive Effect of Leukotrien and Histamin Antagonists. The Association for Research in Otolaryngology, 34th

MidWinter Research Meeting. Baltimore, Maryland, USA. 19-23 February, 2011

Kakigi A, Egami N, Sakamoto T, Nishioka R, Hyodo M, Takeda T, Yamasoba T. A new animal model for Meniere's disease. 48th Inner Ear Biology Workshop. Lisbon, Portugal, 2011. 9. 18-21

西村 将彦、柿木 章伸、竹田 泰三、土井勝美、兵頭 政光. Vasopressin投与によるラット血管条細胞間隙の経時的変化とVasopressin type 2 antagonist投与における効果. 第21回日本耳科学会総会・学術講演会, 2011.11.24-26 沖縄

江上 直也、柿木 章伸、竹田 泰三、西岡利恵、山嵜 達也. 内リンパ嚢におけるロイコトリエン受容体の発現について. 第21回日本耳科学会総会・学術講演会, 2011.11.24-26 沖縄

柿木 章伸、江上 直也、坂本 幸士、西岡利恵、兵頭 政光、山嵜 達也. 実験的内リンパ水腫動物にめまいは起きるか? 第21回日本耳科学会総会・学術講演会, 2011.11.24-26 沖縄

Kakigi A, Egami N, Sakamoto T, Nishioka R, Takumida M, Hyodo M, Yamasoba T. Immunolocalization of Aquaporin1 and 2 in The Rat Vestibule and Semicircular Canal. 14th Korea Japan Joint Meeting of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery. 2012. 4. 12-14. Kyoto, Japan.

Kakigi A, Egami N, Sakamoto T, Nishioka R, Takumida M, Hyodo M, Yamasoba T. Immunolocalization of Aquaporins and Vasopressin V2 Receptor in The Rat Vestibule and Semicircular Canal. The 1st Asian Otology Meeting & the 3rd East Asian Symposium on Otology. 2012. 6. 2-3. Nagasaki, Japan.

R. Nishioka, T. Takeda, A. Kakigi, M. Komori, T. Kobayashi, M. Hyodo. Expression of aquaporins (AQPs)-10/11/12 in the lateral wall of the rat cochlea. 49th Workshop on Inner Ear Biology. 2012. 9. 30 - 10. 2. Tübingen, Germany.

Kakigi A, Egami N, Sakamoto T, Yamasoba T. Cochlear Function in A New Animal Model for Meniere's Disease. 13th International Meeting of Mediterranean Society of Otology and Audiology. 2012. 10. 26-29. Naples, Italy.

柿木章伸. 「内リンパ水腫と水代謝」 —基礎から臨床まで—. 第71回日本めまい平衡医学会総会・学術講演会. 2012. 11. 28-30. 東京

江上直也、柿木章伸、竹田 泰三、兵頭 政光、山嵜 達也. メニエール病モデル動物におけるV2拮抗的阻害薬の効果に関する検討.

第71回日本めまい平衡医学会総会・学術講演会. 2012. 11. 28-30. 東京

Egami N, Kakigi A, Takeda T, Yamasoba T. Morphological and Functional Changes in a New Animal Model for Meniere's Disease. 36th Association for Research in Otolaryngology Midwinter Meeting, USA, Baltimore, Maryland, USA. 2013.2.16-20

Nishimura M, Kakigi A, Takeda T, Takeda S, Okada T, Murata J, Ikeda K. Water Transport in the Rat Inner Ear; Translational Research of Meniere's Disease. 36th Association for Research in Otolaryngology Midwinter Meeting, USA, Baltimore, Maryland, USA. 2013.2.16-20

〔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

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

柿木 章伸 (KAKIGI AKINOBU)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号: 60243820