

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 8 日現在

機関番号：16201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23791902

研究課題名(和文)内リンパ嚢の内リンパ静水圧調節機能についての検討

研究課題名(英文) Study of the function of the endolymphatic sac on the regulation of endolymphatic pressure

研究代表者

稲本 隆平 (INAMOTO, RYUHEI)

香川大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：50581047

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)：内リンパ嚢(ES)は内耳の一部で、内リンパを吸収しているとされている。ESや内リンパ管を閉塞すると、蝸牛、前庭・半規管において内リンパが蓄積され、この状態は内リンパ水腫(EH)と呼ばれ、メニエール病の特徴的な病理所見である。蝸牛EHは難聴を起し、前庭EHはめまいを起す。したがって、内リンパの調節は聴力や平衡感覚に必要不可欠である。本研究では前庭内リンパ静水圧が蝸牛内リンパと同様の大きさで、イソプロテレノールは前庭内リンパ静水圧をESへの作用を介して上昇させるが、蝸牛と比較すると有意に小さいことを明らかにし、カテコラミンが異なった方法で内リンパ系の静水圧を調節している可能性を示している。

研究成果の概要(英文)：The endolymphatic sac (ES) is part of the inner ear and is believed to absorb endolymph. Obliteration of the ES and the endolymphatic duct cause accumulation of endolymph in the cochlea, the vestibule and the semicircular canals. This condition referred to as endolymphatic hydrops. Endolymphatic hydrops in the cochlea causes deafness, while endolymphatic hydrops in the vestibule causes vertigo. Therefore, endolymph regulation is essential for normal hearing and the sense of equilibrium. The present study demonstrated that the hydrostatic pressure of ampullar endolymph is similar in magnitude to that of cochlear endolymph, and that isoproterenol elevated the hydrostatic pressure of ampullar endolymph likely via its action on the ES to a significant smaller degree than that of cochlear endolymph. The results imply that catecholamines would regulate the hydrostatic pressure of the endolymphatic system in a different manner.

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：内リンパ静水圧 蝸牛 前庭 カテコラミン 内リンパ嚢

## 1. 研究開始当初の背景

特定疾患であるメニエール病は蝸牛症状を伴う発作性のめまいを反復する原因不明の内耳性疾患であり、間歇期には正常に回復する例もあるが、発作を反復すると聴力障害、前庭・半規管障害が不可逆となる。病理学的には側頭骨の病理学的検索により内リンパ水腫が存在することが明らかにされている。しかし、内リンパ水腫発生の原因は未だ不明であり、その解明と根治的治療法の確立が待ち望まれている。

メニエール病の主症状であるめまい発作と難聴の機序は、従来内リンパ圧亢進説 (Tonndorf J, 1957) と膜迷路破裂による内リンパ液が鼓室階 (外リンパ) に流入することによる高カリウム化説 (Lindsay JR, 1967) の2つの仮説で議論されてきた。内リンパ圧亢進説は、内リンパ水腫という形態学的な特徴により内リンパ圧の亢進を前提にしている。この仮説では内リンパ圧の亢進による基底膜の振動障害によって難聴が、そして、急激な内リンパ圧の亢進により生じたクプラの偏位によりめまいが生じるとされている。また、ストレスにより症状が難聴やめまいが悪化することが経験的に言われているが、未だ証明されておらず、その機序は不明であり、予防法も治療法も確立されていないのが現状である。

内リンパ嚢は膜迷路の一部であり、一部は側頭骨内に存在し、一部は頭蓋内に存在し、頭蓋内ではS状静脈洞や硬膜に接している。正常では内リンパ水腫が生じないように内リンパ系は調節されており、この内リンパ系の調節に内リンパ嚢が重要な役割を担っていることが、近年の形態学的、薬理的、生理学的研究により示唆されている。特に内

リンパ嚢、内リンパ管を閉塞した動物ではメニエール病の病態である内リンパ水腫が生じることから、内リンパ嚢は内リンパ液の吸収を行っており、メニエール病の発症に内リンパ嚢が関与していると考えられるが、詳細は不明である。また、内リンパ嚢にはいくつかの機能が推定されており、内リンパ圧の調節作用もその一つであるが、多くの研究が主張しているものの、形態学的に推定している報告が数点あるのみで、今まで実証した報告はなかった。

我々の研究室ではメニエール病の責任部位が内リンパ嚢と考え、特に内リンパ嚢のイオン輸送に注目し、研究を行い、内リンパ嚢上皮におけるイオンチャンネル、トランスポーターを同定し発表してきた (Akiyama, 2008, 2009, 2010; Mori, 2009)。また、内リンパ嚢の最近の我々の研究 (Furuta, 1999; Wu & Mori, 1999; Miyasita, 2001) ならびに他の研究機関による研究から内リンパ嚢におけるイオン輸送の調節因子として、アルドステロン、ANP、カテコールアミン、バゾプレッシンなどが候補として挙がってきている。それらの調節因子を内リンパ嚢に作用させた時に蝸牛、前庭半規管の内リンパ系にどのような影響がでるかを調べることにより、内リンパ嚢が内リンパ系でどのような役割を担っているかを明らかにすることにより、内リンパ系の調節機構、メニエール病をはじめとする内リンパ水腫疾患の病態解明および新しい治療法の確立につながると考えられる。

我々の研究 (Inamoto, 2009) により、カテコールアミンであるイソプロテレノールが内リンパ嚢を介して蝸牛内リンパ静水圧を上昇させることが明らかになった。この研究結果

によりストレスにより内リンパ嚢を介して蝸牛内リンパ静水圧が上昇することにより難聴が悪化することが説明可能となり、同様に前庭半規管、球形嚢など他の内リンパ系において内リンパ静水圧の変化を調べることにより、ストレスによりめまいが起こる機序を説明できると考えられる。また、他のイオン調節因子を投与した場合の内リンパ圧の変化を調べることにより内リンパ系の調節機構、内リンパ水腫疾患の病態解明が進むと考えられる。また、イソプロテレノール投与時の、ABR、蝸牛電位、前庭誘発筋電図を調べる事により内リンパ圧上昇による聴覚・平衡機能への影響を調べる。これらの実験によりストレスによるメニエール病の症状悪化を実証できると考える。

また、めまい発作のコントロール不良な難治性のメニエール病の治療として、経験的に内リンパ嚢開放術（ドレナージ術）が、広く行われている。この手術は内リンパ圧亢進説を背景に行われているが、どのような機序でメニエール病に効果があるかは未だ不明である。そこで、内リンパ嚢を開放した実験動物にイソプロテレノールを投与し、内リンパ静水圧の変化を検討する。この研究により、内リンパ嚢を開放した実験動物において、内リンパ静水圧の上昇が抑制されれば、内リンパ嚢開放術の効果を実証することができ、メニエール病の治療法として確立できると考えられる。

## 2. 研究の目的

我々の研究は、カテコールアミンであるイソプロテレノールが内リンパ嚢を介して蝸牛内リンパ静水圧を上昇させることが明らかにした(Inamoto,2009)。これまでメニエール病

患者においてストレスにより難聴が悪化することが経験的に言われてきたが実証されたことはなかったが、この結果により説明可能となった。本研究では同様の手法を用いて前庭・半規管、球形嚢などにおける内リンパ圧の変化を調べることにより、ストレスにより内リンパ嚢を介してめまいが起こる機序を説明することができると考える。このように内リンパ嚢が内リンパ系でどのような役割を担っているかを明らかにすることにより、内リンパ系の調節機構、メニエール病をはじめとする内リンパ水腫疾患の病態解明および新しい治療法の確立につながると考えられる。

## 3. 研究方法

(1) カテコールアミン（イソプロテレノール）投与時の内リンパ系各部位での静水圧の測定実験

測定方法はこれまでの報告（Inamoto,2009）と同じであり、モルモットをケタミン（50 mg/kg）・キシラジン（5 mg/kg）にて全身麻酔後に中耳骨胞を開放し、上半規管膨大部が半規管に移行する部位の骨壁に小孔を作成し、小孔よりガラス電極（先端径5-10 μm、2MKCl 充填）を挿入。挿入部位をメチルシアノクリレートにて閉鎖後に WPI 社製の 900A micropressure system を用いて電位および静水圧を測定する。球形嚢における電位および静水圧の測定は、アブミ骨に小孔を作成、もしくはアブミ骨を除去し、ガラス電極を挿入し、測定。また、蝸牛側壁に小孔を作成し、前庭階の電位および静水圧を測定。また、各部位の静水圧の測定後に内頸静脈に挿入したカテーテルよりイソプロテレノール（6.25 μg/kg/min）を5分間投与し、電位および静水圧の変化を測定する。また、電位および静水圧

の変化を測定できた場合は、後頭蓋より内リンパ嚢にアプローチして、自家骨粉にて内リンパ嚢を閉塞し、内リンパ嚢閉塞モデルを作成。内頸静脈に挿入したカテーテルよりイソプロテレノールを投与し、電位および静水圧を測定する。

(2)イソプロテレノール投与時の聴覚・平衡機能の測定

イソプロテレノール(6.25 μg/kg/min)5分間投与時の、ABR、蝸電図、前庭誘発筋電図(VEMP)、DPOAE を調べる事により内リンパ圧上昇による聴覚・平衡機能への影響を調べる。測定および解析は日本光電社製の MEB-9240 を用いて測定する。

4. 研究成果

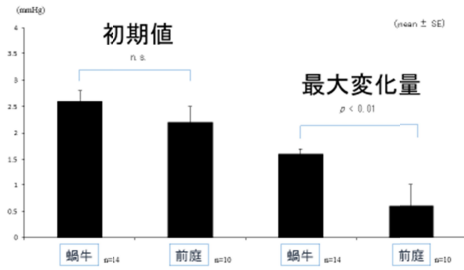
前庭(上半規管膨大部)内リンパ圧は 2.3 ± 0.2mmHg(n=20)、膨大部内リンパ電位は 3.5 ± 0.2mV(n=20)であった。また、前庭(上半規管膨大部)外リンパ圧は 2.4 ± 0.2mmHg(n=5)であった。イソプロテレノールを投与すると、蝸牛と同様の時間経過で一過性に静水圧が上昇し、緩やかにもとの値に戻った。また、内リンパ嚢を閉塞すると静水圧の上昇作用は認められず、蝸牛と同様にイソプロテレノールは内リンパ嚢への作用を介して静水圧を上昇させていると思われる。

前庭内リンパ圧・AEPの比較

	前庭内リンパ圧(mmHg)			膨大部内リンパ電位(AEP)(mV)			
	n	薬剤投与前	投与開始後最大値	薬剤投与前	測定終了時	Repeated Measures ANOVA	
内リンパ嚢未閉塞 生理食塩水	5	2.1 ± 0.6	2.2 ± 0.5	n.s.	3.2 ± 0.3	2.9 ± 0.3	n.s.
内リンパ嚢未閉塞 イソプロテレノール	10	2.2 ± 0.3	2.8 ± 0.4 *	* p < 0.01	3.4 ± 0.3	3.5 ± 0.2	n.s.
内リンパ嚢閉塞 イソプロテレノール	5	2.7 ± 0.4	2.8 ± 0.4	n.s.	3.3 ± 0.3	3.5 ± 0.4	n.s.

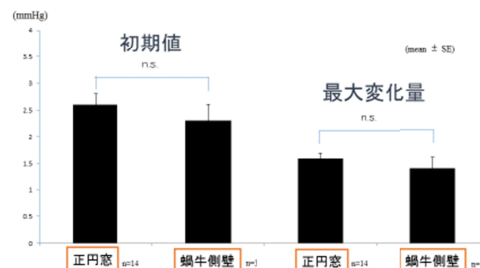
蝸牛内リンパ圧および前庭内リンパ圧の初期値においては有意差を認めなかったが、イソプロテレノール投与時の蝸牛内リンパ圧と前庭内リンパ圧では最大変化量に差を認めた。

蝸牛内リンパ圧と前庭内リンパ圧の比較



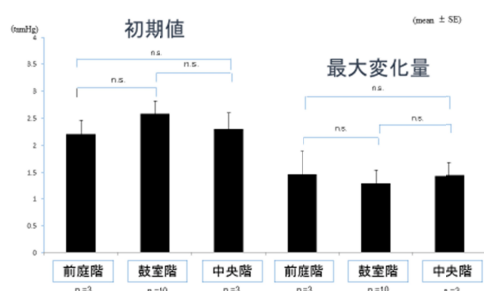
測定方法による差でない事を確認するために、蝸牛側壁アプローチにて蝸牛中央階・蝸牛前庭階における静水圧および電位をイソプロテレノール投与時の変化を確認した。蝸牛側壁アプローチでの蝸牛内リンパ圧の初期値および最大変化量は 2.3 ± 0.3 mm Hg、1.4 ± 0.5mmHg(n=3)であり、蝸牛内リンパ圧は測定方法を変えても初期値およびイソプロテレノール投与時に最大変化量に有意な差を認めなかった。よって蝸牛内リンパ圧と前庭内リンパ圧のイソプロテレノール投与時の最大変化量の差は、測定方法の違いによるものではなく、解剖学的特徴や膜特性の差によるものであると考えられる。

蝸牛内リンパ圧の測定方法別による比較



蝸牛側壁アプローチにて前庭階でのリンパ圧を測定すると、蝸牛リンパ圧は、鼓室階、中央階、前庭階で初期値および最大変化量において差を認めなかった。

蝸牛の各部位のリンパ圧の比較



蝸牛および前庭の各部位において、リンパ圧測定を行っている研究は国内外でも少なく、少なくとも国内では現在我々の施設のみである。また、薬物投与によってリンパ圧の変化を測定したのは我々が初めてであると思われる。

今回、ABR、蝸電図、DPOAE にてイソプロテレノール投与時に明らかな変化を認めなかった。しかしながら、正常モデルでは代償機構が存在する可能性があり、変化は微小なものである可能性があるため、さらに測定条件を変えて測定する必要がある。また内リンパ水腫モデル動物にイソプロテレノール投与した時の聴覚・平衡機能の測定も今後必要であると考え。また、イソプロテレノール以外の薬剤でリンパ圧の変化を確認できれば、さらなる圧調節の仕組みを解明できると思われる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計3件)

第23回日本耳科学会総会・学術講演会

第114回日本耳鼻咽喉科学会総会・学

術講演会

耳鼻咽喉科ニューロサイエンス研究会

〔図書〕(計0件)

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

稲本 隆平 (INAMOTO RYUHEI)

香川大学・耳鼻咽喉科・病院助教

研究者番号：50581047