

論文の内容の要旨

論文題目 メニエール病モデル動物における内リンパ水腫形成に関わるバゾプレシンに関する研究

氏名 江上 直也

メニエール病はめまい発作を繰り返し、難聴や耳鳴などの蝸牛症状が反復・消長することを特徴とする疾患であり、その病理組織学的特徴は内耳における内リンパ水腫である。メニエール病の原因としてストレス・血液循環障害・アレルギー・自己免疫・ウイルス・遺伝・水代謝異常など種々のものが考えられているが、確立されたものはなく、発症機序に関してもいまだに不明なことが多い。古くからメニエール病の病態解明を目指した基礎研究では内リンパ嚢（管）の閉塞による内リンパ水腫モデル動物がメニエール病の標準的なモデル動物として広く用いられてきた。しかしながらメニエール病に最も特徴的であるめまい発作は出現しておらず、これまでのところメニエール病の病態を忠実に再現するには至っていない。したがってめまい発作を発症する内リンパ水腫モデル動物を新たに作成し、内リンパ水腫形成及び発症に関わる病態を解明することが期待されている。また近年、メニエール病のヒト側頭骨病理所見にみる内リンパ水腫とメニエール病発症の関連性に関する検証が報告され、内リンパ水腫単独ではメニエール病発症には至らないと考えられるようになってきた。メニエール病の病態には内耳での内リンパ水腫形成に至る水代謝異常が潜在することが想定されるが、抗利尿ホルモンであるバゾプレシン（VP）は水代謝に関与する重要なホルモンである。メニエール病の発症あるいは症状の増悪には心労、過労、不眠などの精神的・肉体的ストレスが関与することが臨床疫学的にも実証されており、メニエール病の発症要因にストレスが関与していると考えれば、VPはメニエール病の病態を解明する上で重要な鍵となるものと考えられる。本研究ではメニエール病の病態に関わる因子としてVPと内耳水代謝異常に着目し、以下の3点について検討した。

研究①：内リンパ水腫形成及びめまい発症に関わるバゾプレシン（VP）に関する研究

研究②：内リンパ水腫形成に関わる内耳におけるアクアポリン（AQP）とバゾプレシン 2 型受容体

(V2R) に関する免疫組織学的研究

研究③：VP2 型受容体 (V2R) 拮抗的阻害薬による内リンパ水腫軽減効果に関する研究

研究①では、内リンパ囊(管)閉塞術による古典的な内リンパ水腫モデル動物に VP の V2 受容体作動薬であるデスモプレシンを投与することで内リンパ囊の機能不全にデスモプレシンによる V2 効果を相加した内リンパ水腫動物モデルを作成し、VP の内リンパ水腫形成及びメニエール病のめまい発症への関与について形態学的、機能的に評価した。はじめに、左内リンパ囊(管)電気焼灼閉塞術施行後、1 週もしくは 4 週飼育後に手術の有無(手術耳と非手術耳)、注射の有無(デスモプレシンと生理食塩水)によって 8 群に分け、側頭骨病理組織標本を作成した。蝸牛、前庭(球形囊・卵形囊)、半規管それぞれの内リンパ腔の面積を計測し、蝸牛については中央階面積の総増加率を、前庭及び半規管については骨迷路に占める内リンパ腔の面積率を比較検討した。内リンパ囊(管)閉塞術にデスモプレシンを相加した群では病理組織形態学的に蝸牛及び球形囊において内リンパ囊(管)閉塞術単独群と比較して有意に高度の内リンパ水腫形成を認めた。また 1 時間あたりの内リンパ腔の増加率を計算したところ、内リンパ囊(管)閉塞術単独群では極めて緩徐に内リンパ水腫が増大したのに対し、内リンパ囊(管)閉塞術にデスモプレシンを相加した群ではデスモプレシンを相加した作用により、急激に内リンパ水腫が増大したことがわかった。次に、自発眼振及び体平衡障害の有無を観察し、機能的な評価を行った。内リンパ囊(管)閉塞術単独では自発眼振及び体平衡障害とも出現せず、めまい発症には至らなかったが、内リンパ囊(管)閉塞術にデスモプレシンを相加すると飼育期間にかかわらず(1 週と 4 週)、自発眼振及び体平衡障害を伴うめまい発作を認めた。このことより慢性の内リンパ吸収障害と V2 効果による急激な内耳水代謝の亢進が相加的に作用したものと考えられ、メニエール病の内リンパ水腫形成及び発症に至る病態には内リンパ囊の機能不全或いは VP による水代謝機構がそれぞれ単独で関与しているわけではなく、両者が相加的に作用介在しているものと推測された。

研究②では、分子生物学的にアクアポリン (AQP) 2 及び VP2 型受容体 (V2R) が内耳に局在し、内耳水代謝及び内リンパ水腫形成に関与すると考えることができるかについて検証した。ラット側頭骨をホルマリン経心還流固定後に採取し、脱灰処理後に凍結切片を作成し、免疫蛍光染色を行った。AQP2

及び V2R が蝸牛血管条の基底細胞に局在していることを免疫組織学的に確認した。内リンパは外リンパから供給されると考えられているが、血管条は外リンパと内リンパを隔てていて、VP の作用により、AQP2 を介して血管条内に水が移動することが予想される。このことより分子生物学的にも内耳において VP が内耳水代謝及び内リンパ水腫形成に関与すると考えられた。

研究③では、VP2 型受容体 (V2R) 拮抗的阻害薬の内リンパ水腫軽減効果について病理組織学的に検討し、経口投与及び局所投与による全身的な影響を確認するために血漿 VP 値及び血漿浸透圧値を測定した。はじめに、左内リンパ囊 (管) 電気焼灼閉塞術施行後、4 週飼育した後に生理食塩水を経口投与する群 (Cauterized ES group)、V2R 拮抗的阻害薬であるトルバプタン 10 mg/kg を経口投与する群 (Cauterized ES tolvaptan 10 mg/kg group)、トルバプタン 100 mg/kg を経口投与する群 (Cauterized ES tolvaptan 100 mg/kg group)、トルバプタン 1 mg/body を正円窓経由で投与する群 (Cauterized ES tolvaptan (RW) group) の 4 群に分類し、側頭骨病理組織標本を作成した。研究①と同様の手法にて蝸牛、球形囊それぞれの内リンパ腔の面積を計測し、蝸牛は中央階の面積の総増加率、球形囊は前庭全体に占める内リンパ腔の面積率を比較検討した。蝸牛・球形囊ともにトルバプタン 10 mg/kg を経口投与した群 (Cauterized ES tolvaptan 10 mg/kg group) とトルバプタン 1 mg/body を正円窓経由で投与した群 (Cauterized ES tolvaptan (RW) group) は生理食塩水経口投与した群 (Cauterized ES group) と比較して有意な水腫軽減効果を認めた。一方、トルバプタン 100 mg/kg を経口投与した群 (Cauterized ES tolvaptan 100 mg/kg group) は蝸牛ではトルバプタン 10 mg/kg を経口投与した群 (Cauterized ES tolvaptan 10 mg/kg group) と比較して、球形囊では生理食塩水経口投与した群 (Cauterized ES group) 及びトルバプタン 10 mg/kg を経口投与した群 (Cauterized ES tolvaptan 10 mg/kg group) と比較して有意に内リンパ水腫の増大を認めた。次に、血漿 VP 値及び血漿浸透圧値を測定した。生理食塩水を経口投与した群 (control group)、トルバプタン 10 mg/kg を経口投与した群 (tolvaptan 10 mg/kg group)、トルバプタン 1 mg/body を正円窓経由で投与した群 (tolvaptan RW group) の血漿 VP 値及び血漿浸透圧に有意な差は認めなかった。一方、トルバプタン 100 mg/kg を経口投与した群 (tolvaptan 100 mg/kg group) の血漿 VP 値は他の群より有意に高く、血漿浸透圧は生理食塩水を経口投与した群 (control group) 及びトルバプタン 1 mg/body を正円窓経由で投与した群 (tolvaptan RW group) より有意に高かった。VP-AQP2 システムの阻害薬であるトルバ

プタンを全身投与或いは局所投与することで内リンパ水腫が軽減したことより、内リンパ水腫形成に至る病態に内耳における VP-AQP2 システムの亢進が関与していることが示唆された。しかしながら全身投与に関しては高容量では血漿浸透圧の上昇に伴う血漿 VP 値の上昇が全身的な影響としておこり、内耳における水代謝亢進による二次性的内リンパ水腫形成に至ると考えられた。

メニエール病の本態は内耳における水代謝異常によって形成される内リンパ水腫であると考えられ、内リンパ吸収部位である内リンパ嚢機能不全を背景に、心理・社会的ストレスに起因する VP 分泌亢進による内耳における VP-AQP2 システムの亢進が水代謝恒常性維持機構を破綻させた結果、内リンパ水腫を形成し、メニエール病発症に至ると推測される。本研究では慢性内リンパ吸収障害を内リンパ嚢(管)閉塞術による慢性水腫モデルと考え、V2 効果による急激な内耳水代謝の亢進を VP の V2 作動薬であるデスマプレシンによる急性水腫モデルと捉え、両者を相加させることで形態学的には高度の内リンパ水腫を、機能的にはめまい発作をきたすメニエール病の臨床像に合致した新しい内リンパ水腫モデル動物を作成することに成功した。また VP-AQP2 システムの阻害薬であるトルバプタンを全身投与或いは局所投与することで内リンパ水腫が軽減したことより、内リンパ水腫形成に至る病態に内耳における VP-AQP2 システムの亢進が関与していることが示唆された。今後、内耳水代謝に関わる内耳における VP-AQP2 システムの解明がさらに発展し、VP-AQP2 システムの阻害薬がメニエール病の新しい治療戦略の一つとして実用化されることが期待される。