

## 論文の内容の要旨

### 論文題目

音響刺激によりモルモットの頸部に誘発される電位に関する研究—ヒト前庭性頸筋電位（VEMP）の動物モデルとしての視点から—

松崎真樹

#### 目的

近年新しい前庭機能検査として、音刺激によって誘発される前庭頸筋反射を胸鎖乳突筋の筋電図として測定する前庭性頸筋電位（Vestibular Evoked Myogenic Potential : VEMP）の有用性が提唱されている。VEMPはその起源として耳石器、特に球形嚢が提唱されており、耳石器～下前庭神経の簡便な機能評価がこれまで困難であったことから、その可能性が注目されているが、正確な起源、経路についてはまだ議論の余地が残されている。動物において音刺激に対する誘発電位を頸部で測定できれば非常に有用であると考えられるが、確立された動物モデルは存在しない。

本研究では球形嚢の求心線維がクリック音刺激に反応することが報告されているモルモットを用い、音刺激に対して頸部に誘発される電位の測定を試みた。

#### 実験

ヒトで VEMP を測定する場合には胸鎖乳突筋の持続的な収縮が不可欠であるが、全身麻酔下の動物モデルにおいては持続的な収縮を得るのは困難である。そこで前庭頸筋反射経路の中間過程、すなわち脊髄伝導路～頸筋運動核の段階で誘発電位を測定すれば必ずしも頸筋の収縮は必要ないと考え、胸鎖乳突筋上ではなく脊髄により近傍の椎前筋上において測定を試みた。

実験 1 ではプライエル反射陽性で、前庭眼反射の存在を確認した 4 匹の雄のハートレー系白色モルモットを用い、全身麻酔下にまず蝸牛機能の基準としての聴性脳幹反応（Auditory Brainstem Response : ABR）を測定した。頸部正中に切開を加え、気管の後面に存在する椎前筋（longus colli muscle）を露出し、およそ第 3 頸椎のレベルで銀ボール

電極を筋膜上に接着剤で固定して関電極とした。これに対し胸骨前筋群に銀ボール電極を接着剤で固定して不関電極とした。接地電極は耳介周囲の皮下に針電極を刺入した。刺激音はクリック音で、持続時間 0.1ms、音圧 105dB SPL、刺激頻度は 5Hz とした。誘発電位には 20-2000Hz のフィルターをかけ、200 回の記録を加算して平均化した。

結果として、まず ABR の閾値は全例 25dB SPL 以下であった。椎前筋上ではクリック音刺激に対し、全例潜時 6~8ms の再現性のある陰性波 (Negative Potential : NP) を認めた。NP の頂点潜時は  $6.88 \pm 0.75$ 、6.00-7.80 (mean  $\pm$  SD, range) ms であり、閾値は ABR 閾値上約 90~100dB SPL であった。NP の閾値が蝸牛由来の誘発電位よりはるかに高値であったという結果はヒトの VEMP の閾値と共通の特徴であった。

実験 2 では前庭頸筋反射の経路である脊髄 (頸髄) 硬膜外に電極を置いて誘発電位の測定を試みた。モルモット 6 匹を用い、今回は背面から皮切を加えて頸髄の硬膜を露出し、銀ボール電極をおよそ第 3 頸椎のレベルで硬膜外に固定して関電極とし、背部皮下脂肪組織に針電極を刺入して不関電極とした。接地電極は耳介周囲の皮下に針電極を刺入した。

結果、全例において脊髄硬膜外においても椎前筋上で測定された NP と類似した波形の陰性波が再現性をもって確認され、頂点潜時は  $6.55 \pm 0.15$ 、6.36-6.78 (mean  $\pm$  SD, range) ms であり、閾値は ABR 閾値上約 90~100dB SPL であった。NP の頂点潜時は 6~8ms であるが、立ち上がりは 4~5ms 付近であり、モルモットの音刺激に対する誘発電位を前庭神経核レベルで測定した実験報告での潜時が 1~3ms であったことからすると、脊髄レベルの潜時としては矛盾のないものと考えられた。以上より頸部誘発電位 NP は内耳から脊髄を下降する電位であるという可能性が示唆された。

次の段階として NP の起源を調べるため、実験 3 ではアミノグリコシド系抗生物質であるアミカシン投与による選択的蝸牛破壊モデルを作製して測定を行った。8 匹のモルモットを用い、まず全例温度眼振の存在を定性的に確認した。硫酸アミカシン 450mg/kg/day を 18 日間筋肉注射した後、実験 1、2 と同様の刺激条件、解析方法で、椎前筋上 (N=3) と脊髄硬膜外 (N=5) とにおいて測定を行なった。

結果、アミカシン投与後全例においてプライエル反射は消失したが、前庭眼反射および温度眼振は保たれていた。一方 ABR 閾値は正常モルモットと比べ上昇が認められ、その平均は  $84 \pm 15$  dB SPL (mean  $\pm$  SD) であった。椎前筋上でも硬膜外でも全例において陰性波 NP を認め、頂点潜時は椎前筋上  $7.02 \pm 0.69$ 、6.24-7.56 (mean  $\pm$  SD, range) ms、硬膜外  $7.09 \pm 0.43$ 、6.54-7.68 (mean  $\pm$  SD, range) ms であった。アミカシン投与の効果を確認するため内耳組織標本作製したが、アミカシン投与モルモットでは正常モルモットに比べ蝸牛有毛細胞の変性脱落が認められた一方、半規管膨大部および耳石器感覚上皮の有毛細胞は著変を認めなかった。こうした選択的蝸牛破壊モデルにおいて NP が椎前筋上と脊髄硬膜外の両者において測定されたことは NP が蝸牛以外に由来することを示唆する所見と考えられた。

実験 4 では補足としてアミノグリコシド系抗生物質であるゲンタマイシン投与による選択的前庭破壊モデルを作成して測定を行った。4 匹のモルモットに対しゲンタマイシン 90mg/kg/day を 20 日間筋肉注射した後、椎前筋上において頸部誘発電位を測定した。

結果、ゲンタマイシン投与後全例において前庭眼反射および温度眼振が消失した一方、プ

ライエル反射は保たれており、ABR 閾値の平均は投与前後で変化を認めなかった。全例で椎前筋上における頸部誘発電位 NP は測定されなかった。内耳組織標本では、ゲンタシン投与モルモットでは正常モルモットに比べ半規管膨大部稜、耳石器感覚上皮において細胞の変性および上皮層の厚みの減少が認められたが、蝸牛有毛細胞には著変を認めなかった。選択的前庭破壊モデルで NP が消失したという結果は、NP が前庭由来であるとする仮説を強く支持するものとなった。

最後に実験 5 では外科的に前庭神経を切断し、誘発電位 NP の変化を ABR の結果と比較した。5 匹のモルモットを用い、非処理側の影響を考慮して始めに外耳道経由で非刺激側の内耳を外科的に破壊した。ついて刺激耳の耳介付着部付近の頭蓋骨に開窓し、内耳神経が内耳道を出て頭蓋内に入る部分を露出した時点でまず ABR の測定を行った。椎前筋上における NP の測定を行った後、まず前庭神経を内耳道の出口付近で切断した。切断後再度 ABR および NP の測定を行った後、蝸牛神経も切断した。

内耳神経を露出した時点で測定された NP の潜時は  $6.98 \pm 0.70$ 、 $6.42-7.86$  (mean  $\pm$  SD, range) ms であったが、選択的前庭神経切断後には全例消失した一方、ABR は保存されていた。最後に蝸牛神経を切断すると ABR も消失した。前庭神経切断後に ABR が保存され NP が消失したという結果は、蝸牛神経の機能が保存された一方、前庭神経を経由する NP に影響が生じたという可能性を強く示唆していた。

#### まとめ

- 1) モルモットの椎前筋上および脊髄硬膜外においてクリック音刺激に対し、頂点潜時 6~8ms の再現性のある陰性波 NP を認めた。
- 2) NP の閾値は ABR 閾値上約 90~100dB SPL であった。
- 3) アミカシン全身投与による選択的蝸牛破壊モデルにおける測定では NP は正常モルモットと同様の潜時にて測定された一方、ゲンタシン全身投与による選択的前庭破壊モデルには NP は測定されなかった。
- 4) 選択的前庭神経切断により NP は消失した。

#### 結論

モルモットの頸部において強大なクリック音により誘発される陰性電位 NP は、筋原性電位ではないがヒトの VEMP と共通の特徴を有しており、蝸牛ではなく前庭に由来する可能性が示唆された。頸部誘発電位 NP はモルモットのの前庭脊髄反射を反映するものと考えられ、ヒトの VEMP の動物モデルとしての有用性が期待される。