原 著

部分的末梢前庭障害モデルの前庭機能評価法

下郡 博明・堀池 修・池田 卓生・山下 裕司

Evaluation of Vestibular Function in Animal Models with Partial
Peripheral Vestibular Disorder

Hiroaki Shimogori, Osamu Horiike, Takuo Ikeda, Hiroshi Yamashita

Department of Otolaryngology, Yamaguchi University School of Medicine

In this study we used the trapezoid rotation test to evaluate vestibular function in normal guinea pigs or guinea pigs with peripheral vestibular disorder. Post-rotatory nystagmus (PRN) was recorded on videotape under dark conditions with an infrared charge-coupled device camera. The analysis was performed using the public domain NIH Image program, and the horizontal and vertical components were calculated automatically. The mean value of maximum slow phase velocity (MSPV) in the normal guinea pigs and guinea pigs with vestibular disorder was 37.288 ± 9.423 degree/sec and 9.786 ± 2.758 degree/sec respectively. There was a significant correlation between the PRN number and MSPV.

We consider that this system makes it possible to evaluate vestibular function in animal models easily and inexpensively.

Key words: trapezoid rotation, post-rotatory nystagmus, maximum slow phase velocity, guinea pig

はじめに

種々の動物モデルに対して、聴覚機能の評価法は確立されているが、前庭機能に関してはその評価法は遅れている。また、動物モデルの前庭機能の評価した報告は、サーチコイルや発光ダイオードを用いたものもあるが、動物への侵襲が大きなものであった¹⁾²⁾。我々はこれまでヒトの眼球運動を、パソコンと赤外線 CCD カメラを用いて解析する簡易システムを開発し、報告した³⁾。この度はこの方法を応用して、非侵襲的にモルモットの眼球運動を解析する方法を開発した。そして正

常モルモット、一側末梢前庭障害を作製したモルモットに回転刺激を与え、出現した回転後眼振の最大緩徐相速度を測定することができたので報告する。

方 法

対象は、プライエル反射正常、両鼓膜正常のハートレイ系白色モルモットで、無処置14匹（正常群）、右外側半規管切断後3日目の7匹（障害群）である。

外側半規管切断は、我々が過去に報告した方法に準じて行った⁴⁾。ネンブタール® (27 mg/kg) 腹腔内麻酔下に耳後部の皮下に1%キシロカイン® 1.5 ml を注射し、耳後部を切開し、乳突骨胞を開放した。手術用顕微鏡下にバーで外側半規

図1 瞳孔の閾値の設定

眼球運動をパソコンに取り込んだ後(左図)、関心領域を決定して、瞳孔の閾値を設定して認識させる(右図)。

管を切断した。リンパ液を単脚側から2秒間吸引後、同部をボルヒール®〔藤沢薬品工業(株)〕で閉鎖した。感染予防のため術野にペントシリン®粉末を少量散布した後、創部を縫合して同薬剤を50 mg/kg 筋注した。縫合部は消毒後テラマイシン®軟膏を塗布した。

回転検査には、第一医科株式会社製回転装置を用いた。回転刺激は、過去に我々が報告した方法と同様である⁵⁾。すなわち、角加速度 10 deg/sec² で回転を開始して、定速 180 deg/sec になった後 60 sec 回転させ、角減速度 75 deg/sec² で停止させた。暗所開眼下で回転後眼振をビデオテープに録画した。得られたデータを、当教室の池田が報告したヒト用の簡易眼球運動解析法を応用して解析した³⁾。フリーウェアの画像解析ソフトである NIH Image を用いて、まずモルモットの瞳孔を認識するため、瞳孔の輪郭が明瞭に描き出されるように、閾値を設定した(図1)。これにより、モルモットの後眼振を ENG と同様の波形データとしてとらえることができた(図2)。モルモットの摘出眼球10個の眼球径と瞳孔径を測定して平均値を求め、この値を用いてモルモットの瞳孔の中心座標から、水平方向と垂直方向の眼球運動を計算し、緩徐相速度を算出した。

正常群と障害群で、最大緩徐相速度に統計学的に有意差があるかを Mann-Whitney の U 検定を

図2 解析波形

波形グラフは、上段が水平方向、下段が垂直方向を示す。ENG と同等の波形が得られる。

用いて調べた。また、回転後眼振数と、最大緩徐相速度の間に相関が認められるかどうかについて調べた。

結 果

無処置群では、時計方向回転、反時計方向回転をあわせた28個のデータのうち、体動で解析困難の2個を除き、 $n=26$ として解析した。最大緩徐相速度の平均値は、 37.288 ± 9.423 deg/sec ($M \pm$

図3 障害群, 正常群の最大緩徐相速度
障害群のMSPV(maximum slow phase velocity)は正常群と比較して, 有意に小さい値を示している (* $p < 0.0001$)。

SD)であった。障害群では, 障害側の外側半規管機能を主として反映する, 反時計回転の後眼振

のデータを用い, $n=7$ として解析した。最大緩徐相速度の平均値は, 9.786 ± 2.758 deg/sec ($M \pm SD$)であった(図3)。最大緩徐相速度に関しては, Mann-Whitney の U 検定では $p < 0.0001$ で 2 群間で有意差を認めた。

無処置群の26例, 障害群の7例をあわせた33例について, 各々の回転後眼振数に対する最大緩徐相速度の値をプロットした。その結果, 回転後眼振数と最大緩徐相速度との間には, 統計学上有意义的な相関が認められた ($r=0.592$, $n=33$, $p=0.0002$) (図4)。

考 察

我々は, 種々の薬剤の内耳に対する影響を調べ, 臨床的に内耳へ直接的に投与可能な薬剤を検討することを目的に, 浸透圧ポンプを用いた実験を続けてきた^{4)~7)}。浸透圧ポンプを用いた実験の大きな問題点は, ポンプのカニューレ脱落と感染である。そしてこれらの問題点を生じることなく, 非侵襲的に前庭機能が評価できるシステムを確立してきた⁵⁾。その間我々は一貫して, 前庭機能評価の指標のひとつとして回転後眼振数を用いてきた。これを指標にして, ステロイドホルモンが正常時には末梢前庭機能を安定させ, 障害時には興奮性に作用する可能性を突き止めた⁴⁾⁶⁾。し

図4 回転後眼振数と最大緩徐相速度との相関

回転後眼振数と最大緩徐相速度との間には, 統計学上有意义的な相関が認められる ($r=0.592$, $n=33$, $p=0.0002$)。

かし、過去の臨床研究、基礎研究では、主に温度眼振の持続時間や VOR gain の測定が前庭機能評価に用いられており、動物モデルにおいて後眼振数がどれほど前庭機能を反映するのかについては解決しなければならない問題であった。本研究では、後眼振数と最大緩徐相速度との間には有意な相関を認めたことから、後眼振数を用いた前庭機能評価法は信頼性があったと考える。

本システムの問題点として、体動の影響を全くなくすることができず、データが使えない場合がわずかながらあったことである。過度の固定は、動物に負担をかけることになり、また圧迫のため閉眼してしまうこともある。データがうまく取れず、繰り返して検査をしても response decline が生じてしまう。我々のこれまでの実験から、モルモットに3分間のインターバルをおいて連続して回転刺激を加えると、1, 2回目に比べて3回目以降は後眼振数が減少してくる傾向があることがわかっている。この問題を解決するためには、より生理的な刺激で、response decline が生じにくい振子様回転刺激を用いた方が望ましい。臨床データとしては VOR gain が数多く報告されていることから、本システムで得られた実験モデルのデータを臨床データと比較するためにも、今後は振子用回転刺激を行い、最大緩徐相速度を求めることで VOR gain を計測することがよいと考えた。

まとめ

1. 赤外線 CCD カメラとパソコンを用いた眼球運動画像解析法を用いて、モルモットの回転後眼振を解析した。

2. 本システムを用いて、安定的に最大緩徐相速度の測定が可能であることがわかった。

3. 回転後眼振数と最大緩徐相速度との間には、有意な相関を認めた。

本論文の要旨の一部は、第59回日本めまい平衡医学会総会（東京）で発表した。なお、本研究の一部は平成12-13年度文部省科学研究費（基盤研究 C No 12671669）の補助にて行われた。

文 献

- 1) Pettorossi VE, Bamonte F, Ericco P, et al: Vestibulo-ocular reflex (VOR) in guinea pigs. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 101: 378-388, 1986
- 2) Escudero M, de Waele C, Vibert N, et al: Saccadic eye movements and the horizontal vestibulo-ocular and vestibulo-collic reflexes in the intact guinea-pig. *Exp Brain Res* 97: 254-262, 1993
- 3) 池田卓生, 綿貫浩一, 菅原一真, 他: 赤外線 CCD カメラとパソコンを用いた簡易的眼球運動画像解析法. *Equilibrium Res* 59: 298-305, 2000
- 4) Shimogori H, Yamashita H: Efficacy of intracochlear administration of betamethasone on peripheral vestibular disorder in the guinea pig. *Neurosci Lett* 294: 21-24, 2000
- 5) 下郡博明, 菅原一真, 池田卓生, 他: 浸透圧ポンプ留置モデルの前庭機能評価法. *Equilibrium Res* 59: 306-310, 2000
- 6) Shimogori H, Yamashita H, Watanabe T, et al: A role of glucocorticoid receptors in the guinea pig vestibular system. *Brain Res* 851: 258-260, 1999
- 7) 下郡博明, 山下裕司, 高橋正紘: 浸透圧ポンプによる内耳への直接的薬剤注入法の検討. *Otol Jpn* 7: 109-113, 1997

（原稿到着：平成13年3月12日
別刷請求先：下郡博明
〒755-8505 山口県宇部市南小串1-1-1
山口大学医学部耳鼻咽喉科学教室）