

主論文の要旨

**cVEMP correlated with imbalance in a mouse model of  
vestibular disorder**

〔 行動解析と相関するマウスの cVEMP 測定の評価 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻  
社会生命科学講座 環境労働衛生学分野

(指導：加藤 昌志 教授)

押野 玲奈

## 【緒言】

一般に、内耳前庭の有毛細胞などの障害により平衡感覚障害が誘発される。臨床的には、平衡感覚検査の一つとして前庭誘発筋電位 (vestibular evoked myogenic potential: VEMP) が広く用いられており、cervical VEMP (cVEMP) は前庭の球形囊の機能を反映する事が知られている。ヒトにおいては、cVEMP は重心動揺検査や平均台歩行検査の成績と相関する事が報告されている。一方、マウスにおいては、平衡感覚の客観的評価にロータロッド試験や平均台試験などの行動解析が用いられている。しかしながら、ロータロッド試験のような行動解析は、平衡感覚の他に、中枢神経機能障害や多系統萎縮症、パーキンソン症候群などの評価にも使用されていることから、行動解析の成績は前庭機能以外に中枢神経系や骨格筋など様々な要素が影響する可能性がある。そのため、*in vivo* で前庭機能を評価する方法が必要とされている。また、前庭障害モデルマウスを用いた cVEMP の測定例は未だなく、実験動物において cVEMP の成績が行動解析の成績や前庭の有毛細胞数と相関するかについては全く分かっていない。本研究では、マウスの cVEMP 測定法を確立し、その有用性を評価する目的で、ニトリル系化合物の iminodipropionitrile (IDPN) を投与して作製した前庭障害モデルマウスの cVEMP を測定し、前庭の有毛細胞数と cVEMP の成績、および行動解析と cVEMP の成績の相関関係を調べた。

## 【方法】

前庭障害モデル動物の作製に使われるニトリル系化合物の IDPN を 4-5 週齢の雄の ICR 野生型マウス (SPF) を対象に、経口投与 (28 mmol/kg body weight) した。対象群には、生理食塩水のみを投与した。IDPN の経口投与前日と投与一週間後に平衡感覚を評価するための行動解析 (ロータロッド試験、平均台試験、姿勢反射試験) と cVEMP 測定を実施した。ロータロッド試験は、10-20 秒間、10 rpm/min の速さで訓練した後に、本試験として、25 rpm/min の速さでマウスがロッドから落下するまでの時間、または足を滑らせるまでの時間を計測した。1 回の試験につき 300 秒の計測時間を上限に、一匹あたり 3 回の試験を実施した。平均台試験では、訓練として直径 22 mm の円形の棒上を 30 cm 歩ききるまでの時間を一匹につき 1 回実施した。その後本試験として、直径 15 mm の円形の木製の棒上を 30 cm 歩ききるまでの時間を一匹につき 2 回ずつ測定した。姿勢反射試験は、過去の論文 (Wubbels RJ, de Jong HA. Brain Res Bull. 2000;52:349-56) に従って実施した。この試験ではマウスを 50 cm の高さから自由落下させた為、落下の衝撃を緩和する目的で柔らかいスポンジを着地点に設置した。cVEMP 測定では、頸椎 (C3) の側に位置する胸鎖乳突筋に電極を刺した状態で、マウスを 1000 Hz の音で刺激して、得られた波形を記録した。前庭の形態的障害を評価するために、卵形囊、球形囊、半規管膨大部の有毛細胞のマーカーである anti-myosin7a 抗体を用いて免疫染色を実施した。細胞質が anti-myosin7a 抗体に陽性で、核が 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) 陽性の細胞を有毛細胞として同定し、その細胞数を計測した。2 群間の比較には Student's *t* test もしくは Welch's *t* test を用いた。行動解析と

cVEMP の成績の相関の解析、および有毛細胞数と cVEMP の成績の相関の解析には Spearman's rank correlation coefficient を用いた。

### 【結果】

IDPN 投与前に測定した平衡感覚の行動解析については、ロータロッド試験、平均台歩行試験、姿勢反射試験の3つの試験のいずれにおいても、IDPN 経口投与群と IDPN 非投与群の間でその成績に有意な差は確認されなかった。また、IDPN 投与前に測定した cVEMP の成績についても、IDPN 経口投与群と IDPN 非投与群の間で有意な差は確認されなかった。一方、IDPN 経口投与により作成された前庭障害モデルマウスにおいて、平衡感覚の行動解析の成績が、ロータロッド試験、平均台歩行試験、姿勢反射試験の3つの試験のいずれにおいても、IDPN 経口投与前の成績と比較して IDPN 経口投与後の成績が有意に低下した。また、前庭の有毛細胞数も、卵形囊、球形囊、半規管膨大部のいずれにおいても、IDPN 経口投与群のものが非投与群のものと比較して有意に減少していた。これらのことから、IDPN 経口投与による前庭障害モデルの作成が成功したことが示された。一方、IDPN 経口投与前に測定した cVEMP と比較して、IDPN 経口投与 4-5 日後に測定した cVEMP の成績は有意に低下していた (Fig. 1)。また、IDPN 経口投与 4-5 日後の cVEMP の成績について IDPN 非投与群と比較した際も、IDPN 経口投与群の cVEMP の成績は有意に低い値を示した (Fig. 1)。IDPN 経口投与 4-5 日後に測定した cVEMP の成績は、同じく IDPN 経口投与後に測定されたロータロッド試験、平均台歩行試験、姿勢反射試験の3つの行動試験の全ての成績と有意に相関した。一方、IDPN 経口投与 4-5 日後に測定された cVEMP の成績も、IDPN 経口投与後の卵形囊、球形囊、半規管膨大部それぞれの有毛細胞数とも有意な相関を示した (Fig. 2)。

### 【結語】

IDPN 経口投与による、前庭障害モデルマウスの作成に成功した。IDPN 経口投与により作製した前庭障害モデルマウスを用いて、cVEMP の測定法を確立できた。さらに、cVEMP の成績に対して、前庭の有毛細胞数ならびに行動解析の成績がそれぞれ有意に相関したことから、cVEMP は実験動物の前庭機能と平衡感覚を評価できる有用な指標である事が明らかとなった。