

2022年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	耳一脳ネットワークに着目しためまい神経回路の活動様式の解明 一次世代型リハビリテーションの基盤創出を目指して
キーワード	① めまい、② 前庭代償、③ 中枢神経系

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏名	ウミベ アキコ 海邊 昭子
配付時の所属先・職位等 (令和4年4月1日現在)	獨協医科大学・医学部・助教
現在の所属先・職位等 (令和5年7月1日現在)	獨協医科大学・医学部・助教
プロフィール	2012年獨協医科大学埼玉医療センター耳鼻咽喉・頭頸部外科に入局し専門外来としてめまい外来を開設。病院内および地域の開業医の先生方から難治性めまいの患者さんに対する精密検査依頼を受けるようになりました。そこで、なかなか改善しない患者さんを診察して思い知らされたことは、難治性めまいの原因には耳鼻咽喉科だけでなく脳神経内科・外科や精神科疾患、循環器疾患など多種多様な病態が関係しており、さらにそれぞれの患者さんの家族構成や職業、また現在の日本の社会背景など複雑な要素が絡み合っているという事実です。そのような中から、少しでもめまいに苦しむ患者さんを減らしたいと思い、研究に携わるようになりました。まだまだ、実験系構築の段階ですが、これからも日本の医療のために貢献していきたいと思っています。

1. 研究の概要

めまい症に対する前庭リハビリテーションは、前庭代償を促進させることでめまい症状を緩和させる。代償を早期に促進させることは日常の暮らしへの復帰を早め、また寝たきり・認知症を防ぐ大きな要因となる。しかし、前庭リハビリテーションの具体的な神経学的機序や活動依存的な神経可塑性機構については十分に知られていない。

そこで本研究では、めまい症モデル動物を用いて、前庭代償前後で神経回路の活動様式と可塑的代償機構を単一細胞レベルで解明し、体性感覚刺激を用いた新規前庭リハビリテーションの介入の可能性について探求する。すでに当研究室で確立している *in vivo* リアルタイム領域イメージング法を用いることで、長期間かつ同一個体で小脳深部の神経細胞マッピングを行い、さらに体性感覚刺激時の小脳および大脳体性感覚野の応答様式とそれぞれの相関を比較・解析することで新規リハビリテーションに対する基礎データを蓄積する。

2. 研究の動機、目的

ヒトは、身体のバランスを内耳からの前庭感覚入力を基にして脳幹や小脳と神経ネットワークを形成し制御している。このいずれかの領域が破綻あるいは機能低下すると、身体の平衡

障害をきたし、ふらつきやめまいを自覚する。実地臨床においては、メニエール病や突発性難聴、外リンパ瘻などの一側末梢前庭障害によりめまい・ふらつきを来すことが多いが、末梢前庭機能が完全に改善しなくても中枢前庭系の機能代償である静的前庭代償により次第に症状は軽減する。しかし、頭部運動や体動により誘発される眼振やふらつきなどの動的前庭障害は持続し、特に高齢者は動的前庭代償不全に陥りやすく臨床上的問題になることが多い。

めまい症患者に対する前庭リハビリテーションは、1944年に初めて報告され (Cawthorne T, The Journal of the Chartered Society of Physiotherapy, 1944)、その安全性・有効性が示されてきた。しかし、前庭リハビリテーションの神経可塑的な機序や機能的代償を促進する因子および領域・時期特異的なリハビリテーションの効率的な介入の可能性は明らかにされておらず、患者ごとの個別前庭リハビリテーションには至っていないのが現状である。そこで今回研究者は、内耳・脳幹・小脳の神経ネットワーク系において、単一細胞レベルで可視化することで神経ネットワークがどのような神経学的様式を形作っているのか、という疑問に対して研究を推進した。

本研究では内耳-脳幹-小脳という平衡機能ネットワークの中でも、長期抑圧 (Long-term depression: 以下 LTD) と呼ばれる神経可塑性の中心的役割を担う小脳プルキンエ細胞を可視化した。生体マウスで小脳片葉におけるプルキンエ細胞を長期的にかつ繰り返しまッピングすることで、めまい症モデルにおいて前庭代償過程の小脳神経回路活動様式がどのような神経可塑性機構を持つことで前庭代償の恒常性維持に寄与しているのか、さらに領域特異的なあるいは時期依存的な前庭リハビリテーションを行うことで神経可塑性機構の基礎データを蓄積することを目的とする。

3. 研究の結果

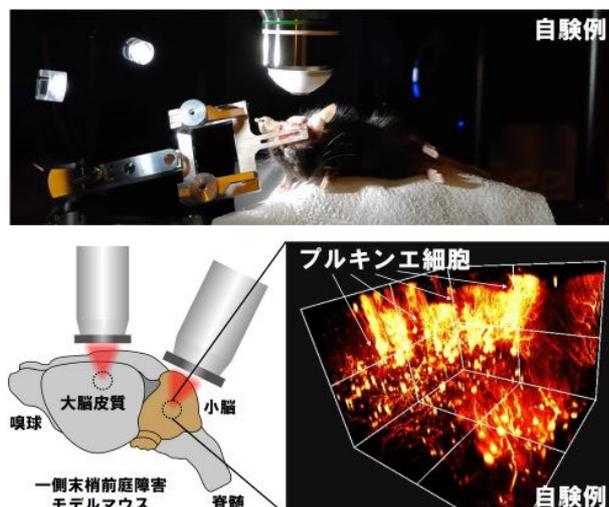
① めまいモデルマウスの作製

めまいモデルマウスとして、一側性末梢前庭障害を引き起こすマウスの作製を試みた。具体的には、麻酔下のマウスに対して外科的な Labyrinthectomy を行った。マウスの左耳の後ろよりアプローチし中耳骨包をドリルおよび探針で慎重に壊し、内耳破壊を行うことによる末梢前庭障害を引き起こしたマウスを作製した。このモデルマウスの頭位の偏位程度と眼振速度の測定を行うことでめまいモデルを確立する。

② 前庭代償時 (静的・動的) の神経細胞活動の可視化

生体下でマウス小脳を観察するために、*Thy1-EGFP* マウス (小脳における苔状線維、および大脳皮質第5層の興奮性神経細胞に発現する *Thy1* 遺伝子プロモーターの制御下に GFP を発現させた遺伝子改変マウス) を使用した。その利点は 2 光子イメージング時に小脳の形態観察を行いやすくするためである。さらに、細胞活動を可視化するため緑色カルシウム感受性蛍光タンパク質 GFP-based Calcium Calmodulin probe (GCaMP: 細胞や生体分子を蛍光標識する緑色蛍光タンパク質である GFP を遺伝子工学的に改変させた緑色蛍光 Ca^{2+} センサー) をコードする遺伝子を挿入したアデノ随伴ウイルスを用いて小脳片葉および大脳皮質体性感覚野に注入し発現させた。このマウスに対し、すでに確立している *in vivo* リアルタイムイメージング法と 2 光子顕微鏡を組み合わせ、神経の応答を Ca^{2+} の蛍光輝度の変化としてとらえ、一側末梢前庭障害前、障害直後、障害後の代償期、頭部回転直後の神経活動を可視化し解析を試みた。2 光子顕微鏡を用いて形態学的にプルキンエ細胞を強く疑う細胞の可視化に成功した (図)。

2光子顕微鏡を用いた *in vivo* イメージング法 (小脳・大脳皮質)



4. 研究者としてのこれからの展望

研究者は、これまで耳鼻咽喉科疾患の中でも神経耳科学に対して専門的な研究および臨床を行ってきた。その中でも平衡機能障害は、実地臨床において多種多様な主訴、精神・心理学的な背景を持つ患者、中枢性病変の可能性など非常に複雑かつ複数の診療科にまたがる領域である。器質的な異常を認めない、あるいは診断に苦慮する患者も非常に多く、治療法や新規リハビリテーションの必要性を痛感しながら外来診療を行っている。当大学病院においては専門外来であるめまい外来を標榜して8年になり、その過程でめまいに対する学会活動および医療従事者に対する教育研究活動、多施設との共同臨床研究を積極的に行い、今後も神経耳科の研究者として積極的に社会に貢献したいと考えている。

また、めまい症モデルマウスの実験で得られた結果を臨床医学に橋渡しできるよう今後もトランスレーショナルリサーチを続けていく。さらに、めまい症の臨床および研究を行える後輩を指導・教育し、めまいの分野の研究に貢献していきたい。

5. 支援者（寄付企業等や社会一般）等へのメッセージ

このたびは、2022年度女性研究者奨励金として、研究費を助成して頂き誠にありがとうございます。この分野は歴史はあるものの、まだ未解明な部分も多く、さらにめまいに苦しむ患者さんは毎年とても多いのが現状です。基礎研究において実験系を構築するところから始め、最終的には橋渡しとなるような研究成果を出すことが目標です。

当診療科で構築しているめまい症モデルマウスの単一細胞レベルでのイメージング技術を、小脳やその他の前庭受容器および中枢神経系に応用し、めまい症の原因について多角的に解明していきたいと思っております。今後とも何卒宜しくお願い致します。