

厚生省特定疾患

急性高度難聴調査研究班  
平成10年度研究業績報告書

平成11年3月

分科会長 星野 知之

## 急性高度難聴調査研究班

区 分	氏 名	所 属	職 名
分 科 会 長	星 野 知 之	浜松医科大学耳鼻咽喉科	教 授
分 科 会 員	宇佐美 真 一	弘前大学耳鼻咽喉科	助 教 授
	喜多村 健	自治医科大学耳鼻咽喉科	教 授
	東 野 哲 也	宮崎医科大学耳鼻咽喉科	助 教 授
	中 島 務	名古屋大学耳鼻咽喉科	教 授
	福 田 諭	北海道大学耳鼻咽喉科	助 教 授
	牧 嶋 和 見	産業医科大学耳鼻咽喉科	教 授
(監 事)	神 崎 仁	慶應大学耳鼻咽喉科	教 授
研 究 協 力 者 (基 礎 班)	野 田 哲 生	癌研癌研究所細胞生物部 東北大学細胞生物学講座	部 長 教 授
(難病特別研究員)	福 島 邦 博	岡山大学耳鼻咽喉科	助 手
(事 務 局)	星 野 知 之	浜松医科大学耳鼻咽喉科 〒 431-3192 静岡県浜松市半田町 3600 電話 (053) 435-2252 FAX (053) 435-2253	

# 目 次

I 総合研究報告	分科会長	星野 知之 (浜松医大)	1
II 総括研究報告	分科会長	星野 知之 (浜松医大)	3
III 分担研究報告抄録			
	分科会長	星野 知之 (浜松医大)	5
	分科会員	宇佐美真一 (弘前大)	5
		喜多村 健 (自治医大)	5
		東野 哲也 (宮崎医大)	5
		中島 務 (名大)	6
		福田 諭 (北大)	6
		牧嶋 和見 (産業医大)	6
		神崎 仁 (慶應大)	6
	研究協力者	野田 哲生 (東北大)	7
	難病特別研究員	福島 邦博 (岡山大)	7
IV 分担研究報告			
<突発性難聴の臨床>			
1. Pooled control を用いた突発性難聴の症例対照研究 —聴力型別にみた検討—			
		中島 務 (名大)	9
2. 全国疫学調査における突発性難聴、特発性感音難聴の重症度基準からの検討		中島 務 (名大)	15
3. 突発性難聴に対する単剤療法の効果			
		神崎 仁 (慶応大)	21
4. 突発性難聴に対する PGE1 製剤 (アルプロスタジル) の効果			
		神崎 仁 (慶応大)	23
5. 高気圧酸素療法による突発性難聴の治療 —PGE1 と SGB の比較検討—			
		牧嶋 和見 (産業医大)	25
6. 人工内耳効果からみた急性高度難聴症例の後迷路機能			
		東野 哲也 (宮崎医大)	27
7. 前庭水管拡大症における高気圧酸素療法			
		中島 務 (名大)	31
8. 剣道による急性感音難聴の病態について			
		東野 哲也 (宮崎医大)	35
9. 突発性難聴、特発性両側性感音難聴の重症度分類案の作成			
		星野 知之 (浜松医大)	37
<ウイルス学的検討>			
10. 突発難聴症例における抗ムンプス IgM 抗体の検索			
		福田 諭 (北大)	39
11. セロイジン包埋ヒト側頭骨標本を用いたウイルス RNA の検出 (第 2 報)			
		福田 諭 (北大)	41
12. 発症早期に唾液中 VZV DNA が検出された突発性難聴症例—抗ウイルス剤の併用による聴力回復例の報告—			
		福田 諭 (北大)	43
<遺伝学的研究>			
13. 非症候群性遺伝性感音難聴 (特発性両側性感音難聴を含む) の共同研究			
		喜多村 健 (自治医大)	45

14. X連鎖混合難聴 (DFN3) の日本人家族における POU3F4 新変異	喜多村 健 (自治医大) ……47
15. 難聴の原因遺伝子に関する研究	宇佐美真一 (弘前大) ……49
16. 難聴家系を用いた遺伝子解析による難聴原因究明の試み	福島 邦博 (岡山大) ……51
17. 難聴家系を用いた遺伝子解析による難聴遺伝子の研究	福島 邦博 (岡山大) ……53
〈疾患モデルによる検討〉	
18. 音響曝露がモルモット外有毛細胞に及ぼす影響	牧嶋 和見 (産業医大) ……55
19. 頭部打撲外傷による聴覚障害の成因に関する研究	牧嶋 和見 (産業医大) ……57
20. 耳毒性薬剤投与によるモルモット急性高度難聴モデルの内耳グルタミン酸動態	東野 哲也 (宮崎医大) ……59
21. マイクロクランプを用いたラット前下小脳動脈閉塞の内耳血流への影響	中島 務 (名大) ……61
22. 光増感反応による限局障害作成蝸牛の蝸牛内電位 (Endocochlear Potential, EP)	星野 知之 (浜松医大) ……65
23. モルモット蝸牛外側壁限局性障害モデルにおける聴力の検討	星野 知之 (浜松医大) ……69
24. 限局性蝸牛血流障害に対する薬剤効果の比較	星野 知之 (浜松医大) ……71
25. ステロイドホルモン投与および柴苓湯投与による免疫異常モデルマウス(MRL/lpr)の聴力の変化と組織学的変化に対する検討	神崎 仁 (慶應大) ……73
26. エンドセリンとその受容体の局在および W/W <sup>v</sup> マウス血管条毛細血管 Basal lamina の肥厚と IgG 沈着に関する免疫細胞化学的研究	牧嶋 和見 (産業医大) ……75
27. 難聴モデルマウスの解析	喜多村 健 (自治医大) ……77
〈基礎的研究 (その他)〉	
28. マウス蝸牛における PACAP とそのレセプターの発現	東野 哲也 (宮崎医大) ……79
29. 蓋膜微細構造の原子間力顕微鏡による観察	福田 諭 (北大) ……81
30. Megalin の蝸牛管における局在	星野 知之 (浜松医大) ……83
31. ジーンターゲティングによる高度難聴モデルマウスの樹立と解析	野田 哲生 (東北大) ……85
V 研究成果の刊行に関する一覧表	……………89

# I 総合研究報告

# 総合研究報告

分科会長 星野知之  
(浜松医大耳鼻咽喉科)

## I 研究目標

突発性難聴（突難）、特発性両側感音難聴（特難）を中心とする疾患の疫学調査、重症度基準の作成、急性高度難聴の原因究明、遺伝子異常の全国共同研究、突発性難聴の単剤治験の検討を目標とした。

## II 研究成果

A. 疫学 1972年、1987年、1993年に行なった突発性難聴（突難）、特発性両側性感音難聴（特難）の調査（特難はあとの2回）を解析し、発生頻度、性別、年齢など臨床病態の分析を行なった。またブルドコントロールとの比較により、突難患者の生活習慣がある程度解明できた。

### B. 難聴の原因究明

1) 突難の2大原因と永年考えられている内耳血流障害、ウイルス感染に的を絞り、血流では血管条障害を中心に検索した。光増感反応を応用して、モルモット蝸牛に約1mmの障害をつくり、限局性障害の形態学的特性を調べ、さらにその内耳の機能を蝸牛内電位（EP）、複合活動電位（CAP）、血流量測定などで検討した。突難の特徴である難聴の多様性と可逆性をしめすEPのデータが得られ、病態に一步近づいた。血管条につきさらに、多種類のペプチド、エンドセリンの分布、NOの関与などが検討された。

2) ウイルスについては突難患者の唾液24検体からの各種ウイルスDNAの検出が試みられ、VZV 0検体、HSV-1 4検体で陽性の結果が得られた。不顕性感染が問題で、剖検例試料でのウイルスDNA、RNAの検出も行なわれ、HHV-6 DNAが検出され、この新しいウイルスと難聴との関連の検討が進められている。

### C. 遺伝性難聴の全国共同研究

この3年の間に自治医大、岡山大のセンターで、送付された69検体を検索、ミトコンドリア遺伝子の3243、1555の変異がみつかった。遺伝性の明確でない難聴でも遺伝子異常は見つかっており、特難のかなりのものに遺伝子異常が関与しているのではないかと推測するに至った。

班員、特別研究員の独自の研究でDFNA16、POU3F4、PDS、Cx26、EYA1などの遺伝子異常が見つかり報告された。さらに遺伝子異常のため血管条に異常を来すWvマウス、Wsラット、神経上皮変性が一次的に起るWriggle Mouse Sagamiについてもその内耳形態と機能につき検討された。

### D. 突難の単剤治験

班員全体の協力による突難の治験は平成10年度で終了予定であったが、近年の治験実施の困難なこともあって、完了が遅れている。班員独自の突難治験では、高気圧酸素療法、PGE-1、ウログラフィンなどが検討された。

### E. 重症度基準の作成

突難、特難の2疾患につき重症度の基準を平成10年に作成。前者を4つのグレード、後者を3グレードにわけた。分類はこれまで蓄積したエビデンスに基づいている。

## III 残された課題

疫学ではケースコントロールの群をこれまで検討したものと別の地域から選び、より普遍的な突難患者の生活習慣や問題点を探し出す必要がある。内耳血流障害の検索では、さらにヒトでの突難病態に近づくため、2箇所以上での限局障害を作り、形態学的、生理学的変化を検討する必要がある。ウイルス検索では、簡単に確実に内耳のウイルス感染を診断する方法がまだ無く、実際の臨床での検査が容易でない。この方法の開発が課題である。感音難聴患者の遺伝子異常の検索は着実に進んでおり、遺伝子異常の関与は難聴とくに特難への関与が解明されつつあるので、引続き行なってゆく。遺伝子異常が広く行なわれるようになると難聴の遺伝相談が重要になり、班としての準備を行なうべき時にきていると考えられる。治験についてはrandomizeされdouble blindでの

薬効検定を多数例で実施することがかなり難しく、しかしその必要はあり、今後の課題として残されている。

## Ⅱ 総括研究報告



# 総括研究報告

分科会長 星野知之  
(浜松医大耳鼻咽喉科)

## I 研究目標

平成10年度は8年、9年度にひき続き突発性難聴（突難）、特発性両側性感音難聴（特難）を中心とする疾患の疫学調査、両疾患の重症度基準の作成、難聴の原因究明、遺伝子異常の全国共同研究、単剤治験の検討をおこなった。

## II 研究成果

### 1) 疫学

突発性難聴のアンケート方式による調査を1972年、1987年、1993年の3回、特発性難聴については1987年、1993年の2回おこなっているが、その結果をコンピュータにすべて登録し終えたので、解析を行い、疾患の発生頻度の年次推移などを検討した。プールドコントロールを使つての突難患者の生活習慣の検討は、昨年は睡眠時間が短いこと、朝食をたべないことなどが、突難群で有意に多いことがわかったが、今年度はさらに聴力型を加えて検討した。

### 2) 重症度基準の作成

突発性難聴、特発性両側性感音難聴につき作業を行ない、前者では初診時純音聴力が40dB、60dB、90dBを境にして4つのグレードに、後者を両耳70dB未満、一側70dB未満-他側70dB以上、両耳70dB以上の3つのグレードにわけて作成した。

これを実際の症例に適用して、解析を試みた。1993年の全国調査の結果から発症後2週までの初診症例を対象とすると、グレード1、2、3、4はそれぞれ16%、26%、40%、19%であり、聴力固定時では60%以上の症例がグレード1に入り、グレード4に留まるのは5%程度であることがわかった。特難についても1993年の調査結果にもとづき検討を行った。

### 3) 難聴の原因の究明

血管条につき様々な研究がなされた。光増感反応を利用してモルモット蝸牛に限局性障害を作成し、蝸牛内電位（endocochlear potential; EP）を測定し、障害部ではいったん低下したEPが2週間後にはもとの値に戻ることを確かめた。また障害部位が上方回転と下方回転にある場合とでは、同じ蝸牛の他の部位で測定したEPに対する影響が違って現われることを確認した。下方に限局性障害を作り、上方でEPを測るとEPの低下がみられるが、上方で障害をつくり、下方で測定するとEP低下はみられない。突発性難聴患者でみられる難聴の可逆性、純音聴力型の多型性を説明しうる現象として注目され報告が行われた。

耳毒性薬剤で障害をモルモット蝸牛に作成しグルタミン酸の動態を検討したり、各種ペプチドのマウス血管条での動態などが検討された。血管条に遺伝的欠陥をもつラット（Ws）とマウス（Wv）での蝸牛の病態が、形態学的特徴、EP、エンドセリンの分布、血管透過性、OAEの面などから検討された。

難聴発症へのウイルスの関与についての基礎データを集めるため、突難患者の抗ムンプスIgM抗体を測定して検出率を調べ、不顕性感染の危険性、予防接種の重要性が指摘された。ウイルス感染早期診断方法として唾液からDNAが検索され、VZV DNA: 0/24、HSV DNA: 4/24で検出された。剖検試料での各種ウイルスDNA、RNAの検出もひきつづき行なわれている。

音響暴露やサリチル酸投与時の内耳機能を検討し、外有毛細胞の機械-電気変換の障害を確認したり、頭部外傷時の聴覚中枢路の病変の確認、突難に対する高気圧酸素治療、PGE1を用いた治療などについても検討が進んだ。

#### 4) 遺伝性難聴の遺伝子検索

遺伝性難聴の全国共同研究も3年目をむかえ、28検体が東西の班員のいるセンター（自治医科大学、岡山大学）に送付され、ミトコンドリア遺伝子異常が4検体で見つかった。共同ではなく班員、特別研究員の独自の研究で、X連鎖遺伝性のDFN3の家系からPOU3F4遺伝子の異常、さらにPDS遺伝子、コネキシン26遺伝子、EYA1遺伝子の異常などがみつかった。POU遺伝子の一つBm-4の欠失したノックアウトマウスがつくられ、その蝸牛での病態がラセン靱帯の線維細胞にあることが形態学的につきとめられた。

#### 5) 突発性難聴の単剤治験

突難の単剤治療による治験は、6剤（ATP, betamethasone, hydrocortisone, beraprost sodium(PGI2), PGE1, amidotrizoate）について行っているが、近年の治験施行の難しさも加わって終了が遅れているが、3年間での一応の終了を目指してデータを解析中である。

### Ⅲ 次年度に残された課題と目標

突難の特徴は、難聴のさまざまな聴力型とその可逆性である。今年度はこの2つの特徴を説明する限局障害モデルが作られたが、多発障害の際の形態と機能は不明であり、この検討を続ける予定である。ウイルスの関係では、内耳に感染が疑われる時、簡単に検索しうる検査法が確立していないので、この研究を行なう。疫学では、データの集積が大きな任務であるので、ひき続きこれを行なう。遺伝子異常の全国共同研究は、しだいに多施設の協力が得られるようになってきたので、センターでの検索を続けるが、3年一区切りの研究班体制でこうした全国的、永続的な作業の期待される事業に適当かどうか、改めて検討する時期にきている。単剤治験は次年度に終了することを目指す。

### Ⅲ 分担研究報告抄録

## 限局性血管条障害の形態と機能

星野 知之  
浜松医大耳鼻咽喉科

光増感反応による部分障害モルモット蝸牛を利用し、蝸牛内リンパ電位 (EP) の測定、血流量に及ぼす薬剤の効果を検討した。約 900  $\mu\text{m}$  の障害部での EP は一旦は低下するが、2 週で回復することがわかり、機質的障害を残して機能が回復するモデルが作成できた。限局障害の EP への影響は障害が基底部にあると上方には強く現われるが、上方にあると下方部分には現われないこともわかり、小さな障害でも様々な病態を起しうる可能性が示唆された。障害部での血流をレーザー血流計で測り 3 種の薬剤の血流維持効果をみたが、ハイドロコチゾンのみが有効であった。更に光を蝸牛壁に接線方向に照射して、側壁のみの障害を作り、ラセン器への影響を検討した。血管条に先天的に欠陥のある Ws ラットを形態学的に検討し、メラノサイトが血管条血管の形成維持、上皮細胞の分化に重要であること、異常な血管条の部位でも感覚細胞の変化は少ないことが分かった。

## 難聴の原因遺伝子に関する研究

宇佐美 真一  
弘前大耳鼻咽喉科

難聴に関連する遺伝子検索を行い以下の結果を得た。(1)「前庭水管拡大を伴った難聴」が Pendred 症候群の原因遺伝子である PDS 遺伝子の変異によるものであることが明らかになった。(2) コネキシン 26 遺伝子の変異が難聴患者に変異が確認され、日本人難聴者にも関与している事が明らかとなった。(3) ミトコンドリア遺伝子の変異 (1555A  $\rightarrow$  G 点変異) に関する臨床像の検討、疫学調査を行った結果、多くの難聴者に変異が見いだされた。この変異を持つ高度難聴者に対しては人工内耳が有用であることを報告した。また遺伝子変異を持つ患者の家族はアミノ配糖体抗生物質に対し高感受性があることから予防の必要性を強調した。(4) 日本人の BOR 症候群の家系に EYA1 遺伝子異常が見いだされた。以上のように難聴患者に遺伝子変異が数多く発見されたことにより、難聴を診断する際、遺伝子の関与を常に念頭に入れる必要があると思われた。

## 遺伝性難聴の全国共同研究成果と POU3F4 遺伝子変異

喜多村 健  
自治医大耳鼻咽喉科

全国の医療機関に感音難聴の遺伝子解析の共同研究をよびかけ、平成 10 年 1 月から 11 月末までに 28 検体が自治医科大学と岡山大学に送付され登録された。これらの検体のなかで、遺伝子変異はミトコンドリア遺伝子 3243 変異が 1 検体、1555 変異が 3 検体に検出された。

自治医大で独自に収集した難聴症例の遺伝子検索では、X 連鎖遺伝の DFN3 と診断される家系において、日本人では初めて POU3F4 遺伝子の 6 塩基の欠失が同定された。さらに、前庭水管拡大症の孤発例において、PDS 遺伝子において 1 塩基変異を認めた。

内耳奇形マウスの研究では、感覚毛の障害が主要病変である Jackson shaker マウスの遺伝子変異が分子モーターであるキネシンであると判明した。この新知見は同じ分子モーターであるミオシン VIIA がヒトならびに shaker-1 マウスの内耳障害の原因遺伝子であることを合わせ考慮すると、内耳における分子モーターの重要性を再認識するものである。

## 急性高度難聴に伴う神経障害の基礎的、臨床的研究

東野 哲也  
宮崎医大耳鼻咽喉科

急性高度難聴の病態は、種々の原因による蝸牛障害と一時的または二次的に生じる神経障害が合わさったものと考えられる。我々は代表的な内因性神経毒であるグルタミン酸の蝸牛内動態を明らかにする目的で、微小透析法による外リンパグルタミン酸測定を行ってきた。本年度は耳毒性薬剤によるモルモット急性高度難聴モデルを用い、エタクリン酸による血管条障害のみでは検出されないグルタミン酸放出がカナマイシン併用による外有毛細胞傷害が加わることで急激に増加する事を明らかにした。当科の人工内耳症例の検討からは急性高度難聴発症例の人工内耳成績が比較的良いことより、急速で広範な障害が生じた際の内耳における神経防御機構の存在が示唆された。今回、マウス蝸牛で発現を確認した神経保護作用を有するペプチド PACAP も、それに関与する因子と推定される。人工内耳成績向上のための神経機能保存治療の手がかりを与えるものと考えられる。

## 突発性難聴の疫学，実験的血流障害の研究

中 島 務  
名大耳鼻咽喉科

突発性難聴の疫学的研究として，平成 10 年度は，  
1) 症例対照研究 2) 重症度基準による全国調査  
の検討を行った。

1) 症例対照研究は，オーディオグラムを 1 例ずつ調  
査することにより聴力型別に症例対照研究を行った。  
その結果，聴力型別に危険因子が異なる可能性があ  
ることが示唆された。

2) 重症度基準を，平成 10 年度，当研究班では，突  
発性難聴と特発性感音難聴につき作成した。この重  
症度基準が，今後有効に利用されるために，全国疫  
学調査結果をこの基準を用いて，初診時，固定時  
(最終時)別に検討し，推移，治療経過を知るのに有  
効であることを示した。

実験的研究として，マイクロクランプを用いてラ  
ット前下小脳動脈を繰り返し圧迫，開放するモデル  
を作成し，蝸牛血流の時間的変化，空間的分布につ  
き検討した。ラットでのレーザードップラー法によ  
る蝸牛血流の測定では，約 30% が，骨壁の血流成分  
であることがわかった。

### 急性高度難聴におけるウイルスの関与

福 田 諭  
北大耳鼻咽喉科

突発難聴で受診した 58 症例について，抗ムンプス  
IgM 抗体を retrospective に解析し，3 例「(5.2%)」  
が陽性という結果であった。ムンプス顕性・不顕性  
感染に伴う難聴の予防という立場から予防接種の重  
要性について強調した。

HHV-6 が近年，中枢神経系疾患の発症にも関連が  
あるとされる。そこで剖検例の三叉神経節 2 例 4 検  
体，蝸牛ラセン神経節 1 例 2 検体について PCR 法で  
HHV-6 DNA を検索したところ，三叉神経節の 1 検体  
において HHV-6 DNA が確認された。突発性難聴の  
新しい原因ウイルスとして，HHV-6 DNA が側頭骨内  
知覚神経節特にラセン神経節に潜伏感染するか否か  
更に検討していく。

通常検出されない唾液中 VZV DNA が突発難聴発  
症早期で検出された 1 症例に抗ウイルス剤を投与し，  
聴力回復を得た。内耳からの検体採取が不可能であ  
る以上，こうした症例には，抗ウイルス剤の投与も  
必要であると考えられる。

## 急性高度難聴の発現機序に関する研究

牧 嶋 和 見  
産業医大耳鼻咽喉科

音響曝露およびサリチル酸塩投与の前後において，  
CM-DP, CAP, EEOAE の測定を行う in vivo 実験の  
結果，NI-TTS の成因として蝸牛外有毛細胞における  
機械-電気変換の障害を確認した。頭部打撲外傷実  
験では，中枢伝導路病変を聴覚障害の成因と考えた。

血管条の免疫細胞化学的ならびに分子生物学的研  
究では，血管条におけるエンドセリンの欠如と毛細  
血管透過性亢進を，聴覚障害の成因と考えた。また，  
蝸牛血流動態における NO の関与を考えたと。

突発性難聴患者の治療において，高気圧酸素療法  
の有効性を確認し，この種の疾病における局所循環  
と酸素補給の重要性につき考えた。

### 突発性難聴の基礎と臨床

神 崎 仁  
慶應大耳鼻咽喉科

突発性難聴とステロイド依存性難聴における内耳  
病態を明らかにし，各々の診断，治療法を確立す  
るために，各疾患の病態に関する基礎的研究及び突  
発性難聴に対する治療効果及びその評価法などにつ  
いての臨床的研究を行った。臨床的には突発性難聴に  
おける PGE1 の治療効果を二重盲検比較試験によ  
り検討した。また，聾型突発性難聴の検討から，そ  
の予後因子を明らかにした。更に，突発性難聴の予後  
を予測するための重症度分類法を試作した。各疾患  
の病態としては主に内耳循環障害を取り上げ，光誘  
発血栓形成による内耳循環障害モデルを作成した。  
また，内耳循環障害における NPY の関与について検  
討した。外有毛細胞の Viability について検討し，更  
に，蝸牛遠心性神経系の情報伝達経路の解明のため，  
PLC の蝸牛内局在を検討した。蝸牛障害予防または  
修復に関与する増殖因子の蝸牛内局在についても検  
討した。ステロイド依存性難聴の病態解明のため，  
自己免疫モデル動物を用いて，ステロイドおよび柴  
苓湯の効果について検討した。

## ジーンターゲットングによる高度難聴モデルマウスの樹立と解析

野田 哲生  
 (財) 聴研究会聴研究所細胞生物部  
 東北大学医学部分子遺伝学研究分野

POU 遺伝子ファミリーの Class IV に属する *Bm 3.1* は、ヒト先天性非症候群性難聴 *DNFA15* の原因遺伝子である。我々が標的遺伝子組換え法により作製したマウス *Bm 3.1* 欠失変異体は、生後 2 週目で運動に不協調性を示し、生後 5-6 週目で著しく運動過剰となった。組織学的解析の結果、*Bm3.1* 欠損マウスでは前庭および蝸牛の有毛細胞の最終分化に異常が認められたが、その表現型は、ヒトの場合の非症候群性難聴とは一致しなかった。一方、classIII の POU 転写因子である *Bm-4* は X 染色体に連鎖するヒト混合難聴 *DFN3* の原因遺伝子であり、我々は、*Bm-4* の欠失変異体を作成しその解析を行った。欠失変異体において、内リンパ静止電位 EP の低下と聴性脳幹反応の閾値上昇を認め、電顕的観察により蝸牛のラセン靱帯線維細胞に変性像を認めた。これらより、*Bm-4* は蝸牛線維細胞の機能維持を介して EP の形成機構に寄与することが明らかとなった。この変異マウスはヒト *DFN3* の発症機構解明に貢献することが期待される。

## 難聴家系を用いた遺伝子解析による難聴原因究明の試み

福島 邦博  
 岡山大耳鼻咽喉科

臨床症例を対象として、難聴の原因を研究する場合、難聴の原因の多様さと、各々の臨床症状類似性に起因する臨床的な分類の困難さは難聴の原因究明の試みを著しく阻害している。我々は、家系解析をその発端として原因となる遺伝子をまず同定し、さらにその病態生理を究明するという方向性に基づいて難聴研究を進めているので、この 3 年間の成果を報告する。第一に第 2 番染色体長腕に新たな難聴の原因遺伝子が存在することを同定し、*DFNA16* と命名した。この領域にはすでに多数のイオンチャンネルがマップされているため、現在これらを候補遺伝子として解析している。第二に、常染色体性劣性遺伝性難聴の遺伝子座の数を 57 と推定した。第三に、進行性難聴の原因でもある耳硬化症の遺伝子座を第 15 番染色体長腕に同定した。今後は *DFNA16* の遺伝子同定と平行して、すでに報告のある難聴の遺伝子異常検出の臨床的な応用についても検討していきたい。

## IV 分担研究報告

## Pooled control を用いた突発性難聴の症例対照研究 —聴力型別にみた検討—

分科会員	中 島 務 (名大耳鼻咽喉科)
分科会長	星 野 知之 (浜松医大耳鼻咽喉科)
分科会員	福 田 諭 (北大耳鼻咽喉科)
分科会員	宇佐美 真一 (弘前大耳鼻咽喉科)
分科会員	喜多村 健 (自治医大耳鼻咽喉科)
分科会員	神 崎 仁 (慶応大耳鼻咽喉科)
分科会員	牧 嶋 和見 (産業医大耳鼻咽喉科)
分科会員	東 野 哲也 (宮崎医大耳鼻咽喉科)
難病特別研究員	福 島 邦 博 (岡山大耳鼻咽喉科)
共同研究者	中 村 美詠子・青 木 伸 雄
	久 保 伸 朗 (浜松医大衛生学)
	横 山 徹 爾・田 中 平 三 (東京医科歯科大難治疾患研究所・疫学)
	森 岡 聖 次・橋 本 勉 (和歌山県立医大・公衆衛生学)
	川 村 孝・大 野 良 之 (名大医学部・予防医学)

### 【はじめに】

難病の病態の解明、予防法の確立のため厚生省難病の疫学調査研究班は、プールドコントロールを作成し<sup>1)2)</sup>、これをもとに各難病の調査班は症例対照研究が行いやすくなった。対照を個別に求めても症例対照研究はできるが<sup>3)</sup>、適当な対照を得ることは、かなり難しいからである。急性高度難聴調査研究班も難病の疫学調査研究班と協力してこのプールドコントロールを利用する症例対照研究を行ってきた。<sup>4)</sup>  
5) 6) 7) 今年度は症例数を増やし聴力の型別に症例対照研究を試みた。

### 【方 法】

症例は平成8年10月より平成10年8月までの1年11か月間に当該疾患を新規発症し、急性高度難聴調査研究班班員の関連する施設を受診した男女であり、対照は難病の疫学調査研究班予防要因分科会により設定されたプールドコントロール(国民栄養調査に準拠した全国12ブロック、20～79歳の男女73861人)より選出された者である。生活習慣等に関する調査は、予防要因分科会の定めた自己記入式アンケート(「健康と生活習慣についての調査票」<sup>1)</sup>)を用いて実施した。また、オーディオグラム調査票により、初診時、及び固定又は最終時の聴力を把握した。各調査票は急性高度難聴調査研究班の各班員に配布

され、班員の所属する施設、及び関連施設を受診した患者、及びその主治医に記入を依頼した。健康と生活習慣についての調査票は268人より、オーディオグラム調査票は243人より回収された。268人から発症が平成8年9月以前であった36人、平成10年9月以降であった8人、発症時年齢が20歳未満であった12人、性、5歳年齢階級、居住地区をマッチした対照が得られなかった4人、オーディオグラム調査票が回収できなかった6人、初回の聴力検査の実施が発症15病日以上経過後であった35人、患側耳の特定ができなかった3人を除いた164人を本研究の分析対象とした。今回、聴力型の判定は、高音2周波数(4kHz, 8kHz)、低音2周波数(250Hz, 500Hz)の平均値を用い、その差の絶対値が20dBより小さいものを水平型、20dB以上であり低音障害がより大きいものを低音型、高音障害がより大きいものを高音型とした(表1)。各聴力型の特徴及び性、5歳年齢

表1 聴力型の分類方法

聴力型	
低音型	低音－高音 $\geq$ 20dB
水平型	低音－高音  $<$ 20dB
高音型	高音－低音 $\geq$ 20dB
低音= $(250\text{Hz聴力レベル}+500\text{Hz聴力レベル})/2$	
高音= $(4\text{kHz聴力レベル}+8\text{kHz聴力レベル})/2$	
*測定値がscale outと示されている場合、110dBの聴力レベルとみなして評価した	



表2 各聴力型の特徴

	低音型	水平型	高音型
症例			
人数	31	112	21
年齢	43.2±14.4	52.5±13.5	44.2±12.3
男性割合	58.1	50	42.9
聴力レベル (dB)			
250Hz	60.8±22.4	73.7±20.7	45.0±21.6
500Hz	66.1±17.9	80.8±20.8	50.2±26.4
1kHz	58.4±21.7	77.9±22.4	52.6±35.5
2kHz	51.3±20.8	76.6±23.6	62.1±33.5
4kHz	33.9±25.1	74.9±23.6	80.5±22.5
8kHz	32.4±22.6	77.5±19.7	86.7±15.5
対照			
人数	5061	14361	5488

階級, 居住地区をマッチした対照数は表2に示した通りである。

解析は性, 年齢階級, 居住地区を層別変数として調整し, 条件付きロジスティック回帰モデルにより, オッズ比(OR)とその95%信頼区間(CI)を求めた<sup>2)</sup>。食品・料理の摂取頻度は5段階で尋ねたが, 各食品, 料理によりその分布が全く異なるため, その分布を考慮して3段階に再編成し, 摂取頻度の最も少ない区分を基準とした。また, 日本茶は毎日飲む者が多かったため, 1日の飲用量を考慮して「毎日飲まない」「1日に1~3杯飲む」「1日に4杯以上」の3区分として検討した。

## 【結 果】

各回答選択肢のオッズ比とその95%信頼区間を表3に示した。低音型は, 「運動週3時間以上」, 「朝食を食べない」, 「牛肉」「豚肉」「牛乳」「ヨーグルト」「チーズ」「ほうれん草, しゅんぎく等の葉が青い野菜」「トマト」の摂取でオッズ比が高かった。水平型では, 「睡眠7時間未満」, 「運動週1~2時間以上」, 「牛肉」「牛乳」「ヨーグルト」「チーズ」「バター」「マーガリン」「ほうれん草, しゅんぎく等の葉が青い野菜」「トマト」「天然果汁」「他の果物」の摂取でオッズ比が高く, 「日本茶」「鶏肉」「レバー」「かまぼこ」「干魚, 塩魚」「白菜」「山菜」「漬け物」「ミカン類」「菓子類」の摂取でオッズ比が低かった。高音型では「日本茶」「レバー」の摂取でオッズ比が低く, 「天然果汁」の摂取でオッズ比が高かった。

## 【考 察】

突発性難聴の症例対象研究としては, 対照を症例(患者)と血縁関係がなく年齢差が5歳以内で同性の人から患者自身に選んでもらう方法<sup>3)</sup>, プールドコ

ントロールを利用する方法などが報告されている。<sup>4)</sup>  
5) 6) 7) 睡眠時間の減少, 疲労, 朝食を摂らないなど食生活を含めた都市型のライフスタイルが突発性難聴発症の危険因子となることが報告されてきた。

今回の研究では, プールドコントロールを利用してオーゾグラムの型別に危険因子について検討した。全体的には, 今までの報告とほぼ同様な結果であったが, オーゾグラムの型別に検討した場合, 危険因子が低音障害型と高音障害型とで異なる可能性が示唆された。突発性難聴の原因は未だ不明であり, オーゾグラムの型別に原因が異なる可能性もあり, 今後症例数を増やしてさらに検討していく必要がある。

今回のオーゾグラムの型別分類で, 高音障害型は, もともと高音部に難聴があった症例が一部含まれている。この点, 加齢による高音部難聴との関連も検討しなければならない。加齢による難聴の危険因子についても報告が積み重ねられてきており, 疫学的検討は病態の解明だけでなく, 社会における難聴の予防及び対策に重要なことと考える。

## 【参考文献】

- 1) 難病の疫学調査研究班予防要因分科会(編): POOLED CONTROLを用いた症例-対照研究. 実施マニュアル(改訂第2版) 1-28., 1995
- 2) 横山徹爾, 田中平三, 川村孝, 他: 症例対照研究の解析—Pooled controlを用いて—. 厚生省特定疾患難病の疫学調査研究班 平成7年度研究業績集 123-127, 1996
- 3) Nakashima T, Tanabe T, Yanagita N, Wakai K, Ohno Y: Risk factors for sudden deafness; a case-control study *Auris Nasus Larynx* 24: 265-270, 1997
- 4) 柳田則之, 中島務, 河村孝, 大野良之, 岡本牧人, 設楽哲也: プールドコントロールを用いた突発性難聴の疫学的研究. 厚生省特定疾患急性高度難聴調査研究班 平成7年度研究業績報告書.p211-213, 1996
- 5) 川村 孝, 中島務, 柳田則之, 設楽哲也, 横山徹爾, 田中平三, 森岡聖次, 橋本 勉; 突発性難聴の症例-対照研究. 厚生省特定疾患難病の疫学調査研究班 平成7年度研究業績報告書.p186-190, 1996
- 6) 青木伸雄, 中村美詠子, 川村孝, 大野良之, 柳田則之, 中島務, 星野知之, 岡本牧人, 横山徹爾, 田中平三, 森岡聖次, 橋本 勉; pooled controlを用いた突発性難聴に関する患者・対照研究. 厚生省特定疾患に関する疫学研究班 平成8年度研究業績集.p53-57, 1997
- 7) 中島務, 星野知之, 喜多村健, 東野哲也, 福田論,

牧島和見, 福島邦博, 青木伸雄, 中村美詠子; 突発性難聴の症例対照研究 (平成9年度) — pooled

control を用いて—厚生省特定疾患急性高度難聴調査研究班 平成9年度研究業績報告書.p29-32,1998

表3 各質問項目選択肢のオッズ比

質問項目	選択肢	低育型		水平型		高育型	
		OR	95%CI	OR	95%CI	OR	95%CI
<b>睡眠</b>							
睡眠時間	7時間未満	1.59	0.66-3.84	1.81	1.14-2.87	0.75	0.23-2.48
	7～8時間未満	1.00		1.00		1.00	
	8時間以上	0.16	0.41-3.28	0.94	0.56-1.59	0.97	0.32-2.98
	+1時間あたり	0.80	0.55-1.15	0.81	0.68-0.97	0.85	0.53-1.36
<b>運動・飲酒・喫煙</b>							
運動時間（/週）	ほとんどなし	1.00		1.00		1.00	
	1～2時間	1.97	0.79-4.92	1.79	1.10-2.91	1.01	0.33-3.11
	3時間以上	3.50	1.20-10.20	2.19	1.29-3.70	1.16	0.24-5.57
歩行時間（/日）	ほとんどなし	1.00		1.00		1.00	
	30分～1時間	1.44	0.37-5.55	1.21	0.55-2.67	∞	
アルコール飲料	1時間～	1.31	0.35-4.92	1.10	0.51-2.39	∞	
	飲まなかった	1.00		1.00		1.00	
	やめた	0.00	0.00-∞	1.56	0.53-4.57	0.00	0.00-∞
タバコ	飲んでいた	0.75	0.32-1.77	1.55	0.97-2.46	1.48	0.54-4.10
	吸わなかった	1.00		1.00		1.00	
	やめた	2.35	0.83-6.64	0.61	0.33-1.12	0.40	0.10-1.56
喫煙	吸っていた	1.14	0.23-5.82	0.97	0.51-1.85	0.80	0.16-3.91
	吸ってない	1.00		1.00		1.00	
<b>食行動</b>							
朝食	食べる	1.00		1.00		1.00	
	食べない	3.61	1.30-10.01	1.72	0.84-3.54	2.79	0.74-10.60
<b>食品・料理摂取状況</b>							
コーヒー	月1～2杯以下	1.00		1.00		1.00	
	週1～4杯程度	0.85	0.27-2.63	0.96	0.52-1.76	1.19	0.30-4.69
	ほぼ毎日	1.12	0.42-3.03	1.89	0.15-3.12	1.46	0.43-4.89
日本茶	毎日飲まない	1.00		1.00		1.00	
	毎日1-3杯	0.94	0.33-2.65	0.85	0.50-1.44	0.51	0.17-1.59
	毎日4杯以上	0.69	0.22-2.20	0.44	0.25-0.80	0.16	0.03-0.79
牛肉	月1～2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1～2回	2.87	1.28-6.44	3.90	2.53-6.03	2.23	0.80-6.20
	週3～4回以上	3.85	1.08-13.76	1.90	0.82-4.40	1.11	0.12-10.38
豚肉	月1～2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1～2回	2.97	1.07-8.23	0.98	0.64-1.49	0.76	0.29-2.00
	週3～4回以上	2.90	0.79-10.71	0.57	0.27-1.20	0.22	0.03-1.87
ハム	月1～2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1～2回	0.67	0.28-1.61	1.19	0.76-1.87	1.21	0.46-3.19
	週3～4回以上	0.86	0.25-2.96	0.85	0.41-1.78	0.56	0.07-4.64
鶏肉	月1～2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1～2回	0.88	0.38-2.01	0.65	0.42-0.99	0.45	0.16-1.24
	週3～4回以上	1.07	0.34-3.37	0.69	0.38-1.25	0.40	0.08-1.96
レバー	食べない	1.00		1.00		1.00	
	月1～2回	0.56	0.24-1.34	0.56	0.36-0.87	0.29	0.09-0.93
	週1～2回以上	0.78	0.21-2.87	0.48	0.23-1.03	0.00	0.00-∞
卵	月1～2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1～4回	1.80	0.37-8.78	1.37	0.64-2.93	0.81	0.18-3.71
	ほぼ毎日	0.85	0.16-4.49	0.87	0.39-1.94	0.48	0.09-2.54
牛乳	月1～2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1～4回	3.67	1.15-11.69	1.4	0.80-2.44	1.87	0.46-7.69
	ほぼ毎日	2.42	0.75-7.74	1.81	1.09-3.02	2.91	0.78-10.85
ヨーグルト	食べない	1.00		1.00		1.00	
	月1～2回	2.79	0.97-7.98	1.12	0.64-1.96	4.82	0.92-25.33
	週1～2回以上	4.08	1.56-10.70	1.83	1.14-2.93	5.09	1.00-26.02
チーズ	食べない	1.00		1.00		1.00	
	月1～2回	2.51	1.01-6.20	1.35	0.85-2.14	1.16	0.38-3.54
	週1～2回以上	2.63	0.94-7.37	1.93	1.15-3.23	2.23	0.72-6.89
バター	食べない	1.00		1.00		1.00	
	月1～2回	1.75	0.72-4.28	1.24	0.77-1.99	0.57	0.15-2.21
	週1～2回以上	2.01	0.78-5.17	1.77	1.08-2.90	0.83	0.83-5.98
マーガリン	食べない	1.00		1.00		1.00	
	月1～2回	1.38	0.51-3.80	1.19	0.70-2.03	0.89	0.25-3.14
	週1～2回以上	1.92	0.75-4.90	1.71	1.07-2.73	1.11	0.37-3.36
フライ、 てんぷら類	月1～2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1～2回	0.57	0.26-1.26	1.31	0.83-2.06	0.64	0.23-1.84
揚げ物	週3～4回以上	0.13	0.02-1.01	0.76	0.40-1.46	0.62	0.16-2.45

表3 (続き)

質問項目	選択肢	低畜型		水平型		高畜型	
		OR	95%CI	OR	95%CI	OR	95%CI
野菜炒め	月1~2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1~2回	1.93	0.75-4.98	1.04	0.63-1.70	0.70	0.24-2.01
	週3~4回以上	0.77	0.21-2.80	0.63	0.35-1.13	0.52	0.14-1.98
鮮魚	月1~2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1~2回	0.84	0.33-2.12	1.14	0.61-2.13	1.99	0.44-8.96
	週3~4回以上	0.39	0.13-1.16	0.97	0.51-1.84	0.94	0.18-5.02
かまぼこ	食べない	1.00		1.00		1.00	
	月1~2回	1.01	0.39-2.59	0.43	0.27-0.70	2.15	0.46-10.02
	週1~2回以上	0.41	0.14-1.23	0.32	0.19-0.53	1.02	0.19-5.42
干魚・塩魚	月1~2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1~2回	0.70	0.31-1.55	0.55	0.36-0.85	1.41	0.52-3.84
	週3~4回以上	0.31	0.09-1.13	0.37	0.21-0.65	0.59	0.15-2.36
ほうれん草、 しゅんぎく等 葉が青い野菜	月1~2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1~2回	6.42	0.82-50.48	1.66	0.84-3.27	1.26	0.39-4.11
	週3~4回以上	11.31	1.39-91.73	2.13	1.09-4.19	0.84	0.22-3.19
ニンジン、 カボチャ	月1~2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1~2回	1.22	0.42-3.53	1.31	0.73-2.34	1.02	0.29-3.64
	週3~4回以上	1.54	0.52-4.51	1.27	0.71-2.27	0.65	0.17-2.52
トマト	月1~2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1~2回	3.32	1.29-8.51	2.06	1.24-3.42	0.65	0.20-2.07
	週3~4回以上	2.02	0.66-6.16	1.90	1.09-3.32	0.59	0.17-2.05
キャベツ、 レタス	月1~2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1~2回	∞		1.58	0.73-3.40	1.20	0.26-5.61
	週3~4回以上	∞		1.65	0.77-3.51	0.61	0.12-3.07
白菜	月1~2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1~2回	1.35	0.51-3.54	1.05	0.65-1.68	1.47	0.46-4.68
	週3~4回以上	0.93	0.29-3.01	0.56	0.32-0.99	0.53	0.12-2.33
山菜	食べない	1.00		1.00		1.00	
	月1~2回	0.59	0.25-1.40	0.58	0.37-0.89	0.55	0.20-1.53
	週1~2回以上	0.57	0.19-1.70	0.25	0.12-0.51	0.33	0.07-1.62
きのこ類	月1~2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1~2回	1.35	0.57-3.20	1.27	0.79-2.05	0.57	0.18-1.76
	週3~4回以上	1.18	0.40-3.45	1.26	0.75-2.13	0.97	0.28-3.42
いも類	月1~2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1~2回	1.86	0.72-4.80	1.03	0.63-1.69	0.64	0.21-1.92
	週3~4回以上	0.50	0.12-2.02	0.98	0.57-1.68	0.59	0.17-2.02
海藻	月1~2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1~2回	2.91	0.83-10.27	1.03	0.57-1.84	1.10	0.30-4.00
	週3~4回以上	1.24	0.32-4.82	0.79	0.44-1.41	0.60	0.17-2.09
漬物	月1~2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1~4回	0.51	0.23-1.13	1.24	0.73-2.10	2.45	0.53-11.42
	ほぼ毎日	0.04	0.01-0.18	0.47	0.27-0.84	1.32	0.26-6.54
佃煮類	月1~2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1~2回	1.96	0.91-4.23	1.10	0.71-1.71	0.74	0.25-2.21
	週3~4回以上	0.57	0.13-2.58	0.68	0.36-1.28	1.53	0.47-5.03
煮豆	食べない	1.00		1.00		1.00	
	月1~2回	1.88	0.47-7.53	1.15	0.66-1.99	0.73	0.20-2.69
	週1~2回以上	3.76	0.95-14.93	0.65	0.35-1.20	0.79	0.20-3.14
豆腐	月1~2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1~2回	2.71	0.68-10.74	1.46	0.66-3.23	1.96	0.45-8.58
	週3~4回以上	0.93	0.23-3.76	0.78	0.36-1.70	0.25	0.05-1.20
ミカン類	月1~2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1~2回	0.97	0.39-2.46	0.59	0.36-0.96	0.83	0.30-2.32
	週3~4回以上	0.45	0.15-1.33	0.53	0.33-0.86	0.28	0.08-1.01
天然果汁 (夏だけ)	月1~2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1~2回	1.07	0.42-2.75	1.74	1.04-2.90	3.45	1.05-11.34
	週3~4回以上	0.95	0.34-2.68	2.15	1.30-3.55	3.48	1.01-11.98
他の果物 (一年通して)	月1~2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1~2回	1.03	0.30-3.56	1.85	0.97-3.52	6.09	0.76-49.06
	週3~4回以上	1.77	0.59-5.28	1.88	1.01-3.51	4.37	0.55-34.95
菓子類	月1~2回以下	1.00		1.00		1.00	
	週1~2回	1.56	0.66-3.67	0.80	0.51-1.27	1.88	0.61-5.75
	週3~4回以上	0.41	0.14-1.17	0.35	0.21-0.59	0.36	0.10-1.38

オッズ比は条件付きロジスティック回帰モデルで、性・5歳階級年齢・居住地区を調整。