

100/0830

厚生省特定疾患

急性高度難聴調査研究班
平成13年度研究業績報告書

平成14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	福 田 諭	北海道大学耳鼻咽喉科	助 教 授
	宇佐美 真 一	信州大学耳鼻咽喉科	教 授
	喜多村 健	東京医科歯科大学耳鼻咽喉科	教 授
	神 崎 仁	慶應大学耳鼻咽喉科	教 授
	中 島 務	名古屋大学耳鼻咽喉科	教 授
	東 野 哲 也	宮崎医科大学耳鼻咽喉科	助 教 授
	福 島 邦 博	岡山大学耳鼻咽喉科	助 手
	村 井 和 夫	岩手医科大学耳鼻咽喉科	教 授
	岡 本 牧 人	北里大学耳鼻咽喉科	教 授
	阪 上 雅 史	兵庫医科大学耳鼻咽喉科	教 授
	暁 清 文	愛媛大学耳鼻咽喉科	教 授
(事 務 局)	星 野 知 之	浜松医科大学耳鼻咽喉科 〒431-3192 静岡県浜松市半田山 1丁目20番1号 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	福田 諭 (北海道大)	
			宇佐見真一 (信州大)	
			喜多村 健 (東京医科歯科)	
			神崎 仁 (慶應大)	6
			中島 務 (名古屋大)	
			東野 哲也 (宮崎大)	
			福島 邦博 (岡山大)	
			村井 和夫 (岩手医大)	7
			岡本 牧人 (北里大)	
			阪上 雅史 (兵庫医大)	
			暁 清文 (愛媛大)	
IV	分担研究報告			
1.	インターネットによる遺伝性難聴情報の提供と研究支援		福島 邦博 (岡山大)	9
2.	アブミ骨固着症と NOG 遺伝子異常に関する検索		福島 邦博 (岡山大)	11
3.	難聴の原因遺伝子に関する研究		宇佐美真一 (信州大)	13
4.	当科における遺伝性難聴家系の検討		星野 知之 (浜松医大)	17
5.	常染色体優性遺伝性難聴 2 家系の検討		福島 邦博 (岡山大)	19
6.	関東地方の非症候群性遺伝性難聴の GJB2 遺伝子変異		喜多村 健 (東京医科歯科大)	21
7.	遺伝子変異を認めた BO 症候群の一例		喜多村 健 (東京医科歯科)	23
8.	当科における急性低音障害型感音難聴長期例の検討		阪上 雅史 (兵庫医大)	25
9.	当科における急性低音障害型感音難聴の検討		福田 諭 (北海道大)	27
10.	急性低音障害型感音難聴の全国疫学調査結果		村井 和夫 (岩手医大)	29
11.	急性低音障害型感音難聴 — 班員症例の解析 —		岡本 牧人 (北里大)	33
12.	急性低音障害型感音難聴の診断規準 (案)		星野 知之 (浜松医大)	37
13.	高度難聴症例の電気聴覚 — 陰性例の臨床的検討 —		東野 哲也 (宮崎大)	39
14.	急性一次ニューロン障害モデルにおける可逆性・非可逆性		東野 哲也 (宮崎医大)	43

15. 有毛細胞における神経伝達物質の自発的放出	東野 哲也 (宮崎医大) ……	45
16. 内耳奇形マウスの聴覚と内耳形態について	喜多村 健 (東京医科歯科大)	47
17. 光増感反応を用いたモルモット蝸牛外側壁の複数障害	星野 知之 (浜松医大) ……	49
18. 一過性虚血後の内耳有毛細胞の病態	暁 清文 (愛媛大) ……	51
19. 虚血性内耳障害に対する遺伝子治療	暁 清文 (愛媛大) ……	53
20. 音響外傷モルモットにおける Hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) の発現	神崎 仁 (慶応大) ……	55
21. 一過性音響外傷 (TTS) 動物モデルにおける蝸牛内転写因子 c-Fos の発現	神崎 仁 (慶応大) ……	57
22. 突発性難聴に対する単剤療法の効果 (最終報告)	神崎 仁 (慶応大) ……	59
23. 突発性難聴の治療成績の検討	岡本 牧人 (北里大) ……	63
24. 突発性難聴患者における内リンパ嚢の MRI での造影頻度	中島 務 (名古屋大) ……	67
25. 特発性両側性感音難聴の長期経過	中島 務 (名古屋大) ……	69
26. 人工内耳手術時に得られた外リンパにおけるヘルペス属ウイルス DNA の検出	中島 務 (名古屋大) ……	73
27. 外リンパ嚢の検討 — 特発性例の検討 —	阪上 雅史 (兵庫医大) ……	77
28. ムンプスウイルスによる難聴	福田 諭 (北海道大) ……	79
29. MMR ワクチン中止後のムンプス難聴	岡本 牧人 (北里大) ……	81
30. 原田病の聴覚的検討	福田 諭 (名古屋大) ……	85
31. 聴神経術後の対側耳の聴力	暁 清文 (愛媛大) ……	87
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

(浜松医科大学耳鼻咽喉科)

1) 研究目的

感音難聴の多くのものは原因が不明で治療法も確立していない。代表的な感音難聴である突発性難聴を中心に各種の感音難聴の発症機構、誘因、治療効果、疫学につき検討する。突発性難聴でも低音障害型のもは際立って特異な一群で、今期は特にこれを検討する。検査が容易となってきた遺伝子異常の検索がおこなって、遺伝子異常による感音難聴につき調べる。

2) 研究方法

難聴発症機構の解明には動物実験モデルを使用する。蝸牛循環障害ではモルモット蝸牛で光増感反応により限局する直径1mmの障害部をつくり形態と機能の変化をみる。よりヒト病態に近い多発性限局障害も検討する。内耳全体の一過性虚血の病態はスナネズミを使用して検討する。その他音響や薬物等による内耳変化を検討する。突発性難聴の新鮮例にステロイドを含む薬剤を投与し、治療効果をみる仕事は班員に封筒法で市販の6種の薬剤(ATP, betamethazone, hydrocortisone, beraprost sodium (PGI₂), alprostadil (PGE₁), amidotrizoate (Urografin))を割り付けて平成6年に開始、平成13年にまとめて報告する。低音障害型感音難聴については班員の症例を集積、病態を検討して診断基準を作成する。突発性難聴の誘因の調査はブルドコントロールを利用して生活習慣の調査を疫学班と共同でおこなった。なお疾患全体の動向をみる突発性難聴の全国調査は10年に1度これまで3回行ってきたが、第4回目の調査を平成13年に準備開始、14年に行う。平成8年度からスタートした遺伝子異常の検索は班員のいる全国で3箇所(信州大、東医歯大、岡山大)を拠点とし、ここに家系の情報と血液サンプルを送り、分析する。遺伝子異常で蝸牛に変化の起こる動物の検討も加える。

(倫理面への配慮)

突発性難聴の単剤による治験では患者に十分に説明し、同意がえられた場合のみ実施した。遺伝子異常の検索には平成8年に当研究班で説明及び同意書を作成し使用しているが、平成12年度に国や学会の倫理指針を参考にインフォームドコンセント改正案を作成し、これを各施設で利用している。実験動物についても各施設での指針に準じて行っている。

3) 研究結果及び考察

難聴発症機構では側壁の1個または2個の限局障害では突発性難聴に類似する可逆性の蝸牛内電位の変化を作りえた。外有毛細胞の消失の形態にも特徴的な変化があることが判明した。内耳全体の一過性虚血では内毛細胞が変性するが、低体温や薬物投与で保護作用を確認した。単剤治験は平成13年4月に登録を終了。最終的に評価対象者は322例(53.7%)となった。6剤間で有意な聴力の改善率の違いはみられなかった。しかし各施設への薬剤の振り分け方や、投与方法、単剤治療後の治療法が一定でなかったことなど、問題点があり、今後はさらにこれらに配慮した検討が必要と考えられる。

低音障害型感音難聴については班員の施設であつめた症例をもとに診断基準が作成でき、これを研究班の案として、公表した。突発性難聴の誘因の調査は平成8-10年にアンケート調査し平成13年に論文として公表した。西洋型の食事、1日2合以上の飲酒、睡眠不足などでリスクが高いことが分かった。現在聴力型別での調査を行っている。遺伝子異常の検索では、遺伝性難聴の家系を集積、解析し、そのなかからGJB2、DFNA16、PDS、EYA-1、ミトコンドリア遺伝子また本邦では初めてKCNQ4、COCH、TECTA 遺伝子の異常がみつけられた。さらに頻度が高く見られるGJB2、PDSの迅速診断システムの開発が行われた。ホームページ「遺伝性難聴ホームページ」を作成し、その管理、運営をおこなった。血管条や有毛細胞に遺伝性に変性をきたすラット、マウス

の病態を解析した。

4) 評価

1) 達成度について

単剤の治験が本年度で完了したこと、低音障害型感音難聴の診断基準案が出来たのは当初の目標を予定どおり完了したものである。難聴発症機構の解明はいまだしの感があるが、可逆性の変化を作り出せたのは大きな進歩である。疫学調査は難聴の原因解明のための別のアプローチであり、現在も進行中である。遺伝子異常の検索で異常の検出率はたかいが検査に時間がかかり、集まる試料から結果が報告されるまで、1年以上の時間がかかっている。成果は予想を上回っているが、検査が追い付かない状態である。ホームページによる広報活動は活用されていると考えている。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

難聴の発症機構は薬物中毒、感染、音響などさまざまなアプローチで研究されているが、本研究班では主に内耳の循環障害を中心に検討しており、その分野では新しい結果を世界に伝達している。世界的にみても研究はユニークなものである。遺伝子異常の検索は現在もっともホットな領域で、さまざまな成果が公表されているが、研究班での日本人での成績は諸外国とは違った遺伝子変異がみられる-たとえばGJB2遺伝子では235delCが我が国では多い-など新しい事実、国際的にも重要なことがわかってきた。これらを踏まえてよりの確な遺伝相談ができるものとする。単剤の治験結果は平成14年に論文として公表する予定であるが、突発性難聴には確立された治療法が未だないので、その結果の公表の社会的意義は大きい。

低音障害型感音難聴の診断基準はこれまで研究班が作成した諸診断基準が本邦ではひろく基準として使用されてきた実績から考え、これもじきに広く利用されるようになると考えられる。

3) 今後の展望について

感音難聴-特に突発性難聴-発症機構の解明はさらに続行する必要がある。感音難聴の遺伝子異常の検索はさらに迅速に行う必要がある。10年ごとに行ってきた突発性難聴全国調査は疾患の発症頻度の動向などをみるために必要であり、発症の増加が予想されるムンプス難聴を含めてすでに第一次のアンケートが主要な病院に送られた。

突発性難聴の発症や難聴型と生活習慣の関連についてさらに多数での検索をすることが必要で、現在進行中である。

5) 結論

3年の研究期間で難聴の発症機構については循環障害を中心にかなり解明がすすんだ。ウイルスの関与についての検討では大きな進歩はなかった。遺伝子異常の検索ではこれまで原因不明とされたものの多くが遺伝子異常で発症していることを明らかにした。日本人には欧米と異なる変異のあることがわかってきた。単剤の突発性難聴にたいする効果は現行の薬剤では特効薬的なものがないことを明らかにした。低音障害型感音難聴は独立の疾患群としてわけるべきであり、その診断基準案が作成できた。第4回目の突発性難聴全国調査の準備がととのい、すでに開始された。突発性難聴の難聴型別のさらに詳しい生活習慣調査を始めた。

Ⅱ 総括研究報告

総括研究報告

分科会長 星野知之

(浜松医科大学耳鼻咽喉科)

A. 目的

感音難聴の多くのものは原因が不明で治療法も確立していない。代表的な感音難聴である突発性難聴を中心として各種の感音難聴の発症機構、誘因、治療効果、疫学につき検討する。(A) 発症機構の解明は主として動物による内耳血流障害を中心に、さらに音響、薬物の効果などを検討する。突発性難聴の症例で、ウイルスの関与を検討する。(B) 治療効果の検討はすでに前期より始まっている突発性難聴の単剤による治療の結果を集計し、公表する。(C) 突発性難聴でも低音障害型のは際立って特異な一群で、班員の施設での症例を集計、検討し診断基準(案)を作成する。(D) 難聴関連遺伝子の検索は班員のいる3箇所の施設に症例と検体を集め、遺伝子異常の検索をすすめる。遺伝子異常による感音難聴の一般向けホームページを作成する。

B. 研究方法

難聴発症機構の解明には動物実験モデルを使用した。蝸牛循環障害の検討では光増感反応により限局する血管条障害をモルモットにつくり、形態は走査型電子顕微鏡で、機能の変化は蝸牛内電位でみた。2箇所の障害を作りよりヒト病態に近い病態を検討した。内耳全体の一過性虚血の病態はスナネズミの椎骨動脈閉塞で作成。グルタミン酸神経毒性によると考えられる感覚細胞の変性にたいする低体温、遺伝子治療の効果、グルタミン酸受容体拮抗剤の効果についても検討し、それらの内耳保護作用を検討した。グルタミン酸神経毒性は単離感覚細胞でも検討した。人工内耳手術時にヒト蝸牛での血流測定も試みた。Auditory neuropathyと関連したカイニン酸の局所投与、音響負荷時の転写因子活性の検討などを行った。ウイルス感染の検討では突発性難聴例でのムンプスIgM抗体、IgG抗体を測定し、不顕性感染につき検討した。臨床例での検討では特発性両側性感音難聴の長期経過について、また外リンパ瘻の病態についての報告がされた。

治療効果をみる仕事は、突発性難聴の新鮮例で、20歳以上、発症後2週以内の例で、ステロイドを含む市販の6種の薬剤(ATP, betamethazone, hydrocortisone, beraprost sodium (PGI₂), alprostadil (PGE₁), amidotrizoate (Urografin))を投与し、班員に封筒法で割り付けて600例を目標に平成6年に開始、平成13年4月に登録を終了、解析を行った。低音障害型感音難聴については班員の症例を集積して一側確実例271例の病態を検討すると共に、診断基準を作成した。平成8年度からスタートした遺伝子異常の検索は班員のいる全国で3箇所を拠点とし、ここに家系の情報と血液サンプルを送り、分析した。遺伝性難聴ホームページを開設し成果の公表を行った。Caポンプ変異、LacZ遺伝子挿入、転写因子ノックアウトマウスについても検討を加えた。

C. 研究結果

難聴発症機構の解明 蝸牛条限局障害では光増感反応により作られた2つの限局障害間でも感覚細胞の変性がおこり、より実際のヒト病態に近い変化を作成できた。障害間の蝸牛内電位は一過性の低下を示したが、2週間で回復した。内耳全体の一過性虚血では、限局障害と異なる内毛細胞の変性が見られた。グルタミン酸の神経毒性によると思われるこの変化が、低体温、遺伝子治療の効果、グルタミン酸受容体拮抗剤の投与で保護された。突発性難聴の新鮮例での単剤による治療効果は6剤間で有意な聴力の改善率の違いはみられなかった。低音障害型感音難聴については班員の症例を集積、病態を検討して診断基準(案)を作成した。浮動性めまいの有無と予後は関連しないが、1kHzの聴力閾値は聴力予後と関連した。平成8年度からスタートした遺伝子異常の検索ではGJB2、DFNA16、PDS、EYA-1、ミトコンドリア遺伝子また本邦では初めてKCNQ4、COCH、TECTA遺伝子の異常がみつけられた。さらに頻度が高く見られるGJB2、PDSの迅速診断システムの開発が行われた。なお突発性難聴の全国調査は10年に1度これまで3回行ってきたが、第4回目の調査を14年に行うべく平成

13年に準備を開始した。

D. 考 察

難聴の発症機構は薬物中毒、感染、音響などさまざまなアプローチで研究されているが、本研究班では主に内耳の循環障害を中心に検討しており、その分野では新しい結果を報告している。世界的にみても研究はユニークなものである。遺伝子異常の検索は現在もっともホットな領域で、さまざまな成果が公表されているが、研究班での日本人での成績は諸外国とは違った遺伝子変異がみられる—たとえばGJB2遺伝子では235delCが我が国では多い—など新しい事実、国際的にも重要なことがわかってきた。これらを踏まえてよりの確な遺伝相談ができるものとする。単剤の治験結果は平成14年に公表する予定であるが、突発性難聴には確立された治療法が未だないので、その結果の公表の社会的意義は大きい。今回の検討では有意な差は出なかったが、各施設への薬剤の振り分け方や、投与方法、単剤治療後の治療法が一定でなかったことなど、問題点があり、今後はさらにこれらに配慮した検討が必要と考えられる。低音障害型感音難聴の診断基準はこれまで研究班が作成した諸診断基準が本邦ではひろく基準として使用されてきた実績から考え、これもじきに広く利用されるようになると考えられる。

E. 結 論

難聴の発症機構については循環障害を中心にかなり解明がすすんだが、薬物、音響などの検討も必要である。遺伝子異常の検索では、これまで原因不明とされた感音難聴の多くが遺伝子異常で発症していることが明らかになったと同時に、日本人には欧米人と異なる変異のあることが分かり、我が国独自の研究が必要である。単剤の突発性難聴にたいする効果は現行の薬剤では特効薬的なものないことを明らかにした。さらに聴力型別でのより詳しい効果の検討が必要である。低音障害型感音難聴は独立の疾患群として突発性難聴からわけるべきであり、その診断基準案が作成できて解析が進んだ。第4回目の突発性難聴全国調査の準備がととのった。今回はムンプス難聴の調査も含めている。突発性難聴の聴力型別でのさらに詳しい生活習慣調査を始めたが、発病予防の手掛かりが得られると思われる。

Ⅲ 分担研究報告抄録

重複する血管条障害の形態と機能

星野 知之
浜松医科大学耳鼻咽喉科

これまでモルモットで光増感反応により1個の蝸牛限局障害を作成し検討してきたが、本年は蝸牛第2回転に1mmの間隔をおいて直径約1mmの2つの側壁障害を作成し、障害間の感覚細胞の変性、蝸牛内電位(EP)を測定した。血管条障害が多発して認められるヒト病態に近い変化をみるためである。走査電顕下に内毛細胞には全く変化がなかったが、外毛細胞には変性消失がみられた。第2,3列での消失が1列より多かった。障害間のEPは一時的に電位低下がみられたが、2週間で回復した。聴力回復の見られる突発性難聴の臨床像に近い、機能回復を示す病態が多発障害でも見られた。臨床では家族性難聴家系を検討し、遺伝子異常の検索を行っているが、これ迄当科で検討した31家系68人の遺伝形式、聴力像、問題点をまとめて検討し報告した。

ムンプスウイルスによる難聴の研究

福田 諭
北海道大学大学院耳鼻咽喉科頭頸部外科

ムンプス難聴は急性高度難聴の原因の一つであるが、一方で突発難聴症例の中にムンプス不顕性感染によるものが存在するといわれている。突発難聴69症例における抗ムンプスIgM抗体陽性頻度ならびに同時に抗ムンプスIgG抗体陽性頻度を測定できた58例についてretrospectiveな検索を行った。抗ムンプスIgM抗体は陽性5例(7.2%)、偽陽性2例(2.9%)、陰性62例(89.9%)であった。抗ムンプスIgM抗体陰性の52例中抗ムンプスIgG抗体陰性が8例(15.3%)の頻度で存在し、これらの症例はムンプス感染、ムンプスワクチン接種いずれもなかったか、vaccine failureである可能性が考えられ、予防接種の重要性を改めて強調したい。

難聴の原因遺伝子に関する研究

宇佐美 真一
信州大学耳鼻咽喉科学教室

全国の施設から集積した難聴家系の遺伝子解析を行い原因遺伝子の検索を行った。本研究によっていくつかの難聴に関しての新しい疾患概念を提唱することができた。また日常診療で外来を受診する原因不明の感音難聴患者に難聴遺伝子が関与しているかを検討すると共に、遺伝子が関与している症例についてはその臨床的特徴を検討した。一連の解析の結果、日本人難聴患者にはPDS遺伝子、ミトコンドリア遺伝子(1555変異)、コネキシン26遺伝子の変異の頻度が多いことが確認された。また日本人家系で初めてKCNQ4遺伝子、COCH遺伝子、TECTA遺伝子による難聴家系が見出された。

ヒトならびに内耳奇形マウスにおける難聴遺伝子解析

喜多村 健
東京医科歯科大学耳鼻咽喉科

現在判明している難聴遺伝子の中で、最も高頻度に同定されるGJB2遺伝子変異の頻度を、関東地方に在住する110家系を対象に検討し、13家系(12%)において遺伝子変異を認めた。ホモ接合、複合ヘテロ接合、ヘテロ接合による遺伝子変異は、それぞれ1家系、3家系、9家系であり、変異の中では235delCが61%と最多であった。BO症候群と考えられる症例のEYA1遺伝子の変異の有無について遺伝子検索を行い、今まで報告されていた遺伝子変異の他に新たな遺伝子変異を同定した。この他に既知の多型変異を3個認めた。

常染色体優性遺伝形式の難聴モデルと考えられる内耳奇形Zfc-02マウスの行動異常と難聴について解析した。その結果、聴覚においては、ホモ接合体、ヘテロ接合体ともに難聴が認められ、その聴覚閾値はホモ接合体のほうがヘテロ接合体よりも高値であった。さらに、転写因子のノックアウトにより生じる新しい内耳奇形マウスを報告した。

急性高度難聴に関する基礎的、臨床的研究

神 崎 仁
慶應義塾大学耳鼻咽喉科

急性高度感音難聴疾患の診断法、治療法についての基礎的、臨床的検討を行った。突発性難聴に関しては、前年度より引き続き単剤治療効果に関する多施設臨床試験の集計を行い、最終データを解析した。急性低音障害型感音難聴の診断基準はいまだ確立されていないが、独自に考案した診断基準およびグレーディングを用いて、主にその予後との関係について検討した。急性高度感音難聴の予防法を検討するために、急性音響障害モデルを用いて内耳転写因子活性について検討した。TTS動物モデルの蝸牛コルチ器で、支持細胞核にc-Fosの発現を認めた。c-Fosは、酸化ストレスの結果、転写因子AP-1の構成蛋白として誘導されたものと推測された。聴覚障害の可逆性、支持細胞の堅牢性を考慮すると、AP-1が防御的機構に貢献するものと予想された。また、レドックス感受性遺伝子転写制御因子の一つである hypoxia-inducible factor (HIF-1) について急性音響外傷モルモットを用いて検討した。強音音響負荷を行ったモルモットにおいては、蝸牛感覚上皮内の外有毛細胞において明らかな HIF-1 発現の上昇がみとめられたことから、酸化ストレスに応答する種々の遺伝子発現を制御していると考えられた。内耳障害におけるレドックス制御機構およびこれらの転写制御のメカニズムを解明することは、急性感音難聴のメカニズムの解明および治療につながるものと考えられる。

感音難聴の長期経過と内耳血流、内耳液に関する研究

中 島 務
名古屋大学耳鼻咽喉科

特発性両側性感音難聴について1993年に受診した症例を対象に全国調査が行われている。今回、班員の施設においてその後の長期経過について調査を行った。聴力の悪化は、若い年齢層に強く、初診時40歳以上の症例では、難聴の進行は平均的には極めて遅くなっていた。今後、特発性両側性感音難聴のうち遺伝性の関与について全国調査から検討していく必要がある。

レーザードップラー法にて人工内耳手術時に内耳血流の測定を行った。ヒトでは内耳を包む骨が厚くプローブを骨にあてると骨血流成分を多量に拾うので、外リンパにプローブの先端を入れ、血流を測定した。血流が減少しているものとそうでないもの両者が認められた。人工内耳手術時、外リンパを採取してヘルペス属ウイルスのPCRによる検索を行った。サイトメガロウイルスが検出された症例があり、サイトメガロウイルス内耳感染と確認された。

高度難聴に伴う蝸牛神経障害の臨床的・実験的研究

東 野 哲 也
宮崎医科大学耳鼻咽喉科

両側高度難聴160例の電気聴覚検査成績を集計したところ、両側陰性例が3例(1.9%)あり、そのうち1例はMRIで脳表ヘモジデリン沈着症が判明したが、他の2例は特発性のauditory neuropathyの範疇に入る臨床像を呈していた。この病態の動物モデルとしてカイニン酸局所投与ラットを用いて、蝸牛の電気生理学的、形態学的変化を検討し、らせん神経節細胞の脱落程度が聴覚障害の可逆性・非可逆性を決めることを明らかにした。さらに、単離内毛細胞に負荷した蛍光色素(FM1-43)を指標とした実験系から、神経伝達物質(グルタミン酸)の自発的放出過程を証明した。グルタミン酸動態の調節機構やその破綻に基づく興奮毒性のプロセスはauditory neuropathyの難聴病態解明に手がかりを与えるものと考えられる。

急性高度難聴を示す遺伝性難聴疾患とその研究環境の改善

福 島 邦 博
岡山大学大学院医歯学総合研究耳鼻咽喉・頭頸部外科

急性感音難聴を来す疾患の中には遺伝性の背景を有するものも認められる。我々は、「遺伝性難聴ホームページ」を開設し、その研究成果の公表を行ってきたが、それに併せて1)研究初学者向けおよび一般向けのページを作成した。さらに、常染色体優性の遺伝性を示し、急性感音性難聴として発症する非症候群性遺伝性難聴家系について家系解析を行ってきた経過を報告し、併せてその過程で発見された伝音難聴症例についての遺伝子解析の結果を報告した。家族性伝音難聴家系3家系からはいずれもNOG遺伝子異常は発見されなかったが、指骨癒合を伴うアブミ骨固着症弧発例からは単一塩基置換が見つかり、NOG遺伝子転写を終了させるノンセンス変異であった。

急性低音障害型感音難聴の全国疫学調査結果

村井和夫
岩手医科大学耳鼻咽喉科

急性低音障害型感音難聴の新たな診断基準試案を作成し、全国12大学を対象として全国疫学調査を行った。一側性確実例は271例（男性84人、女性187人）で男女比は1:2と女性に多く、男性の平均年齢は37.4歳、女性の平均年齢は38.3歳で20~40歳代に好発することがわかった。発症時期は春~秋に多く冬季に少ない傾向が認められた。治癒・改善例は80.5%と突発性難聴に比べ予後良好であったが、突発性難聴と同様に初診時聴力障害の程度、治療開始までの期間、年齢と予後との相関が認められた。また1kHzの聴力障害が高度な例は少数であるが予後は不良であり、診断基準に1kHzの聴力レベルを規定する必要があると考えられた。一方、浮動性めまいの有無による難聴の程度や予後の差は認められなかったことから浮動性めまいを有する例は本疾患に含めても良いと思われる。

突発性難聴、急性低音障害型感音難聴、ムンプス難聴

岡本牧人
北里大学耳鼻咽喉科

突発性難聴の固定時聴力を検討した結果、従来の重症度分類をさらに、初診時聴力では90dBと100dBの間で、また、受診までの日数では第10病日以内と第11病日以降に層別分類する方がよいと結論した。この層別分類を利用することにより、施設間での成績の検討が行いやすいことを示した。

急性低音障害型感音難聴再発例を解析した。初発例に比べ1/3の頻度であり、平均年齢では43歳、再発までの期間は2.6年、2/3は聴力型が変化していた。急性低音障害型感音難聴の聴力予後判定規準は聴力型変化例には適用できないという問題が残っている。

ムンプス難聴は1993年のMMRワクチン中止後、増加傾向にあり、両側高度難聴例も出現した。死亡例も同様の傾向にあり、安全なワクチンによる集団接種の早期再開が望まれる。

外リンパ瘻と急性低音障害型感音難聴の検討

阪上雅史
兵庫医科大学耳鼻咽喉科

外リンパ瘻は急性感音難聴を引き起こすが、手術適応があるなど特異的な疾患である。特に特発性ものは突発性難聴との鑑別が困難である。外リンパ瘻確実例(18例)のうち28%(5例)は特発性であった。この5例を検討すると、外リンパ瘻を疑ったきっかけは、pop音、流水音耳鳴、既知の前庭性疾患では説明できない頭位眼振の存在であった。また外リンパの漏出部位として解剖学的な異常部位からのものが多かった。

また急性低音障害型感音難聴は予後良好な疾患と考えられていた。しかし当科での1年以上経過観察した32耳を検討すると頻回に再発する例、メニエール病に移行する例など多様な経過たどるものがあった。再発例、メニエール病への移行例は長期観察で増加し、最終観察時の治癒率は62.8%と、長期予後は必ずしも良好とはいえない。長期経過観察が必要である。

虚血性内耳障害の病態と治療に関する研究

暁清文
愛媛大耳鼻咽喉科

本研究ではスナネズミの両側椎骨動脈の血流を一過性に遮断、再開通することによって長期間生存可能である一過性の内耳虚血モデルを作成し、虚血性内耳障害の病態をグルタミン酸神経毒性の観点から詳細に検討した結果、一過性内耳虚血後に蝸牛コルチ器の内毛細胞において遅発性細胞死が起こることが明らかとなった。

さらに虚血性内耳障害に対する新たな治療法確立のため、虚血後の内毛細胞遅発性障害に対する、1) 低体温療法の効果、2) アデノウイルスを用いた神経栄養因子の一つであるG-DNFを蝸牛内に発現させる遺伝子治療の効果、3) グルタミン酸受容体拮抗剤の効果、について検討を行った。

急性感音性難聴の原因の一つとして内耳虚血が考えられており、以上の方法は虚血病変を治療するための有効な治療法として期待できるものと考えられた。

IV 分担研究報告

インターネットによる遺伝性難聴研究情報の提供

分担研究者 福 島 邦 博 (岡山大学大学院 医歯学総合研究科 耳鼻咽喉・頭頸部外科)

共同研究者 笠 井 紀 夫・前 田 幸 英

藤 本 並 樹

西 崎 和 則 (岡山大学大学院 医歯学総合研究科 耳鼻咽喉・頭頸部外科)

喜多村 健 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 認知行動医学系)

専攻システム神経医学講座 聴平衡覚応答調節学分野)

【研究要旨】

インターネット上の遺伝性難聴ホームページを更新し、それに併せて1)研究初学者向けおよび一般向けのページを作成し、従来研究班で得られた情報の公開と一般化を行った。

【研究目的】

先天性高度難聴は約1000人の新生児につき一人から2人の割合で発生する比較的頻度の高い先天性障害の一つであり、そのうちの約半数には遺伝性的原因があると考えられている。こうした難聴に対する研究は近年急速に進歩しており、それらをまとめる形で本研究班の当初(平成8年度)1)に遺伝性難聴ホームページとしてその内容を公開した。その後、研究の進歩とともに新たな知見が積み重ねられ、また当初は研究者向けのホームページとしてスタートしたものの、実際には患者からの直接の問い合わせの頻度も増加してきたため、従来開いていたページを拡張する形で一般向けホームページを作成・公開した。

【研究方法】

IBM社製ホームページビルダーを用いてHTML言語によるホームページを作成した。「遺伝性難聴ホームページ」そのもののコンテンツは、The Hereditary Hearing loss Homepage²⁾ から、制作者の許可を得て引用・邦訳した。さらに、本研究班で得られたデータの一部を準用する形で「これから研究を始める方に」として現在までに判明している遺伝子異常についての総説を (<http://www.okayama-u.ac.jp/user/med/oto/hhhjpn/hhhsb1.html>) 掲載した。また一般向けの情報公開用のコンテンツとして、「非専門科のための解説」(東京医科歯科大学喜多村健教授著) (<http://www.okayama-u.ac.jp/user/med/oto/hhhjpn/hhhsb2.html>) を掲載した。さらに「遺伝子解析研究

に付随する倫理問題等に対応するための指針」の概要を <http://www.okayama-u.ac.jp/user/med/oto/hhhjpn/hhhsb3.html> に掲載し、これと同時にこの指針に準拠する形として、「難聴研究のための遺伝子検査の説明および同意書(新案)」を <http://www.okayama-u.ac.jp/user/med/oto/hhhjpn/hhhsb4.html> に掲載した。

3)

【倫理面への配慮】

個人情報を用いるものではないため、特に倫理面の配慮は必要としない。

【研究結果】

岡山大学のサーバーでの運用であるために、アクセスカウンターなどが用いられない。このため、正確な利用者の人数は不明であるが、多くの利用者からの感想や実際の遺伝相談・難聴相談についてのメールが寄せられた。また、学会等に際してこのHPの内容に関する問い合わせを受けることも多く、こうしたインターネット上の情報が広く活用されていた。

【考 察】

ホームページでの告知が実際の研究活動に与えた影響としては、遺伝性難聴家系の構成員からの研究協力の申し出があった点である。実際の連鎖解析を行い得る程度の規模の家系からの申し出はまだないが、1)2家系の大規模な常染色体優性遺伝性難聴家系からの研究協力の申し出があり、また2)複数の弧発例からの問い合わせがあった。これらの事実からも、こうしたホームページを用いた研究内容の告知が、難聴に対する遺伝子研究の意義を広めることに役立っていることが推定される。

また、遺伝性難聴ホームページの公開は、遺伝相談も含めた遺伝情報を患者に提供することに役立つ

ている。過去 5 年間に 12 件の遺伝相談の依頼があり、適切な専門医を紹介したり、再発危険率など必要な情報を提供したりすることに役立っている。難聴の遺伝相談は、その高い頻度故に、しばしば要求される分野ではあるが、しばしば「遺伝性」の問題だけでなく、「難聴」自体の管理についても情報が必要となるので、難聴の専門家がこうした相談を受け付けることの重要性が経験できた。

[結 論]

インターネットを用いた情報公開を進めるために本研究班での特に遺伝性難聴に関連した成果についてホームページを作成し、一般に広く情報公開を行った。

[参考文献]

- 1) 福島邦博 喜多村健 西崎和則 笠井紀夫 菅

田研一 植木靖好 玉川雄也 阿部聡子 宇佐美真一 難聴研究におけるインターネットの活用について 平成 8 年度厚生省特定疾患急性高度難聴調査研究班研究業績報告書

- 2) The Hereditary Hearing loss Homepage [<http://www.uia.ac.be/dnalab/hhh/>]
- 3) 遺伝性難聴ホームページ [<http://www.okayama-u.ac.jp/user/med/oto/oto/HHihome.htm>]

[研究発表]

〈論文発表〉

なし

〈学会発表〉

なし

[知的所有権の取得状況]

なし

アブミ骨固着症と NOG 遺伝子異常に関する検索

分担研究員 福 島 邦 博 (岡山大学大学院 医歯学総合研究科 耳鼻咽喉・頭頸部外科)

共同研究者 笠 井 紀 夫・前 田 幸 英
藤 本 並 樹
西 崎 和 則 (岡山大学大学院 医歯学総合研究科 耳鼻咽喉・頭頸部外科)

【研究要旨】

これまでに耳硬化症の責任遺伝子として、OTSC1 及び OTSC2 が報告されている (1, 2)。今回我々は、アブミ骨固着症あるいは耳硬化症と診断された家族性伝音難聴家系の構成者および弧発例に対して、NOG 遺伝子異常の有無を検索した。

家族性伝音難聴家系3家系からはいずれも NOG 遺伝子異常は発見されなかったが、指骨癒合を伴うアブミ骨固着症弧発例からは単一塩基置換が見つかり、NOG 遺伝子転写を終了させるノンセンス変異であった。この異常が本症例に特異的なアブミ骨固着および指骨癒合の原因である可能性が高いと考えられた。

【研究目的】

耳硬化症あるいはアブミ骨固着症は、伝音あるいは混合難聴を来す疾患である。しばしば家族性に発症することが知られており、中には他に指骨癒合などの合併奇形をとまなう例も散見される。その原因となる遺伝子異常を検索することにより、異常の頻度を求め、分子生物学的な異常の発生機序を明らかにし、また将来的に遺伝子診断や遺伝カウンセリングに役立つ事を目的とする。

【研究方法】

家族性の耳硬化症あるいはアブミ骨固着症を示す3家系および家族歴のない弧発例1例を対象とした。文書により説明・同意を得た家系構成者より採血を行い、これより Genomic DNA を抽出した。NOG 遺伝子の翻訳領域を十分カバーするようなプライマー対を設定し、その PCR 産物をもちいて直接シーケンス法により塩基配列を解析した。これまでに報告されている塩基配列及び正常対照者の解析結果と比較し、異常の有無を検索した。

【対象症例】

家系 1：3 世代にわたる手指・足趾の合指症、Broad

thumb、遠視とアブミ骨固着症、優性遺伝形式
家系 2：2 世代にわたる指骨癒合 (5th) 及びアブミ骨固着症、優性遺伝形式
家系 3：4 世代にわたる Broad toes、Short fingers (4th and 5th)、遠視及び伝音難聴、優性遺伝形式
弧発例：指骨癒合 (5th)、遠視及びアブミ骨固着症、家族歴なし。

【倫理面への配慮】

患者サンプルは実験計画の患者への説明と同意に基づいて採取された。

【考 察】

分泌性ポリペプチドである Noggin タンパク質は、NOG 遺伝子にコードされており、TGFβ-FMs (BMP4 など) と結合し、それらを不活化させる。これにより骨化が抑制され、関節が形成される。NOG 遺伝子異常によりこの骨化抑制作用に異常を来し、骨癒合を起こすことが知られている (3, 4, 5, 6)。

これまでの報告では、指骨癒合を伴う家族性伝音難聴症例から NOG 遺伝子内に常染色体優性遺伝形式を示す複数の変異が発見されており、いずれも種を超えて保存されているアミノ酸を変異させる (3, 6)。しかしながら今回我々が発見したような停止コドン変異は報告がなく、NOG 遺伝子がやはり関節形成に重要な役割を果たしていることを大きく裏付けるものである。

Noggin タンパク質は分泌されるとダイマーを形成したのち TGFβ-FMs と結合すると考えられている (4, 5)。遺伝子異常により生成された異常 Noggin タンパク質は、ダイマー形成障害あるいは TGFβ-FMs との結合障害を起こし、関節の形成障害へとつながると考えられる (5, 6)。これまでの報告では NOG 遺伝子異常はその 3' 末端側 50 塩基程度の領域に集中して見つかっており (3, 6)、今回我々が発見したノンセンス変異もそのすぐ上流に存在していることから、

特に3'末端側にダイマー形成あるいはTGFβ-FMsとの結合に重要な役割を果たすモチーフが含まれている可能性が示唆された。

[結 論]

指骨癒合を合併するアブミ骨固着症例の原因の一つとしてNOG遺伝子異常があることが確認された。一方耳硬化症あるいはアブミ骨固着症のみを示す家族例における同遺伝子異常は、今回検索した限りでは認められなかった。

[参考文献]

- 1) Tomek MS et al: Localization of a gene for otosclerosis to chromosome 15q25-q26. *Hum Mol Genet* 2:285-90, 1998.
- 2) Van Den Bogaert K et al: A second gene for otosclerosis, OTSC2, maps to chromosome 7q34-36. *Am J Hum Genet* 68:495-500, 2001.
- 3) Gong Y et al: Heterozygous mutations in the gene encoding noggin affect human joint morphogenesis. *Nat*

Genet 21:302-304, 1999.

- 4) Valenzuela DM et al: Identification of mammalian Noggin and its expression in the adult nervous system. *J Neuroscience* 9:6077-6084, 1995.
- 5) Brunet LJ et al: Noggin, cartilage morphogenesis, and joint formation in the mammalian skeleton. *Science* 280:1455-1457, 1998.
- 6) Marcelino J et al: Human disease-causing NOG missense mutations: Effects on noggin secretion, dimer formation, and bone morphogenetic protein binding. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:11353-11538, 2001.

[研究発表]

〈論文発表〉

なし

〈学会発表〉

なし

[知的所有権の取得状況]

特になし。

難聴の原因遺伝子に関する研究

分担研究員 宇佐美 真 一 (信州大学耳鼻咽喉科)

共同研究者 塚 本 耕 二・大 塚 明 弘
弓 削 勇・浅 村 賢 二 (信州大学耳鼻咽喉科)
阿 部 聡 子・秋 田 二 朗
南 場 淳 司 (弘前大学耳鼻咽喉科)

【研究要旨】

全国の施設から集積した難聴家系の遺伝子解析を行い原因遺伝子の検索を行った。本研究によっていくつかの難聴に関しての新しい疾患概念を提唱することができた。また日常診療で外来を受診する原因不明の感音難聴患者に難聴遺伝子が関与しているかを検討すると共に、遺伝子が関与している症例についてはその臨床的特徴を検討した。一連の解析の結果、日本人難聴患者にはPDS遺伝子、ミトコンドリア遺伝子(1555変異)、コネキシン26遺伝子の変異の頻度が多いことが確認された。また日本人家系で初めてKCNQ4遺伝子、COCH遺伝子、TECTA遺伝子による難聴家系が見出された。

【研究目的】

ここ数年の分子遺伝学のめざましい発展により、すでにいくつかの遺伝性難聴の原因遺伝子が特定され始めている。またこれらの難聴の原因遺伝子は日常診療で訪れる難聴患者にも深く関与していることが次第に明らかになってきた。今後、これらの遺伝子解析の成果を最終目的である日常臨床にフィードバックしていくために、1)さらなる原因遺伝子の同定、2)遺伝子型と臨床型(表現型)との比較検討、3)簡便なスクリーニング検査の確立を行っていく必要がある。

【研究方法】

(1) 難聴の原因遺伝子の同定

ここ数年間に報告された難聴の原因遺伝子が外来を受診する難聴患者に見い出されるか否かに関して検討した。PDS遺伝子、ミトコンドリア遺伝子、コネキシン(Cx)26遺伝子、コネキシン(Cx)31遺伝子、ミオシンVIIa遺伝子、KCNQ4遺伝子、COCH遺伝子、TECTA遺伝子の変異を検討した。各遺伝子のエクソンの部分を特異的なプライマーにより増幅し、

Heteroduplex法または直接シーケンスすることによって遺伝子変異を検索した。

(2) 遺伝子型と臨床型(表現型)との比較検討

同一遺伝子が異なる臨床型をとることが知られている。遺伝子解析によって明らかになった原因遺伝子の変異とその結果によって現われる表現型との比較検討を行った。

(3) 簡便なスクリーニング検査の確立

新しい変異解析装置「WAVE」を用いた解析法や新しいテクノロジーであるDANチップを用いた変異解析を試みた。

【倫理面への配慮】

(1) 遺伝子診断、検査に際しては厚生省の指針にしたがった同意書を作成し研究対象者のインフォームドコンセントを得ている。

(2) 当該研究課題に関しては学内(信州大学医学部)の倫理委員会で承認されている。

【研究結果】

(1) 前庭水管の拡大を伴った難聴:

「前庭水管の拡大を伴った非症候群性難聴」家系に対しマイクロサテライト多型解析による連鎖解析を行い原因遺伝子座位の決定を試みたところ、7番染色体長腕(7q31)に原因遺伝子座がこの領域に存在することが明らかとなった(Abe et al.,1999)。この領域は難聴と甲状腺腫を伴うPendred症候群の原因遺伝子(PDS)の存在部位と同じ領域であることより、PDS遺伝子の変異の有無について検討した結果、患者の中にいくつかの新しいPDS遺伝子変異が同定された(Usami et al.,1999)。従って両疾患群は今後「PDS遺伝子の変異が引き起こす同一の疾患群」として診断、加療されるべきだと考えられた。本研究にて検討したPendred症候群の89%、「前庭水管の拡大を伴った非症候群性難聴」の58%にPDS遺伝子変異が同定さ