



Fig. 1. Postauricular incision. A = posterior external ear canal; B = facial nerve; C = bulla; D = semicircular canals.

lateral wall (CLW;  $n = 5$ ). We used a retroauricular incision under general anesthesia with ketamine (100 mg/kg) and xylazine (9 mg/kg) for both approaches (Fig. 1). For the approach to the LSCC, the left lateral and posterior semicircular canals were exposed (Fig. 2a). The posterior semicircular canal is identified at the posterior edge of the temporal bone (Fig. 2b). The LSCC is located dorsal to the stylomastoid foramen. A small hole (about 180  $\mu\text{m}$  in diameter) was then made in each of the semicircular canals using a 26-gauge needle (Fig. 2c). A glass needle was inserted into the LSCC. The cell suspension (10  $\mu\text{l}$  containing  $1 \times 10^6$  cells per mouse) was slowly injected using an infusion pump (1  $\mu\text{l}/\text{min}$ ). Then, the holes in the semicircular canals were plugged with connective tissue and covered with an adhesive agent (5).

For the approach to the CLW, the otic bulla was exposed. The otic bulla is easily identified using the facial nerve. The bulla was then opened to expose the second turn of the cochlea. (Fig. 3a) The location of the stria vascularis was identified by pigmentation due to accumulated melanocytes (Fig. 3b). A small hole (about 180  $\mu\text{m}$  in diameter) was then made to access the scala media through the stria vascularis of the cochlear second turn (Fig. 3c). A glass needle was inserted into the scala media, and the cell suspension was slowly injected using an infusion pump (1  $\mu\text{l}/\text{min}$ ). Thereafter, the hole was plugged with connective tissue and covered with an adhesive agent.

#### Histological analysis

On day 14 after transplantation, the mice were deeply anesthetized with a lethal dose of ketamine and xylazine and were perfused intracardially with normal saline, followed by 4% paraformaldehyde in PBS. The left temporal bones were removed and immersed in the same fixative at 4°C for 4 h. After decalcification with 0.1 M EDTA for 24 h at 4°C, cryostat sections of the temporal bones were cut 10  $\mu\text{m}$  thick. Mid-modiolus sections from each animal were incubated with PBS containing 2  $\mu\text{g}/\text{ml}$  4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI; Molecular Probes, Eugene, OR, USA) for demonstration of nuclei. The specimens were then viewed with a Nikon ECLIPSE E600 fluorescence microscope (Nikon, Tokyo, Japan). Both EGFP- and DAPI-positive cells were defined as transplant-derived cells. The numbers of transplant-derived cells in the scala vestibuli, in the scala tympani, in the scala media and the total number in the cochlear second turn were counted. The average of four sections for each animal was defined as the number for that animal. Then, the ratio of transplant-derived cells at each site in the cochlea was calculated.

#### Evaluation of auditory function

To assess the surgical effects on auditory function, auditory brain stem responses (ABRs) were investigated. ABR measurements were performed preoperatively, and on days 3, 7 and 14 postoperatively, and



Fig. 2. Surgical approach to the semicircular canal. (a) Semicircular canal (arrowhead); (b) lateral semicircular canal (lsc) and posterior semicircular canal (psc); (c) glass needle (arrow).

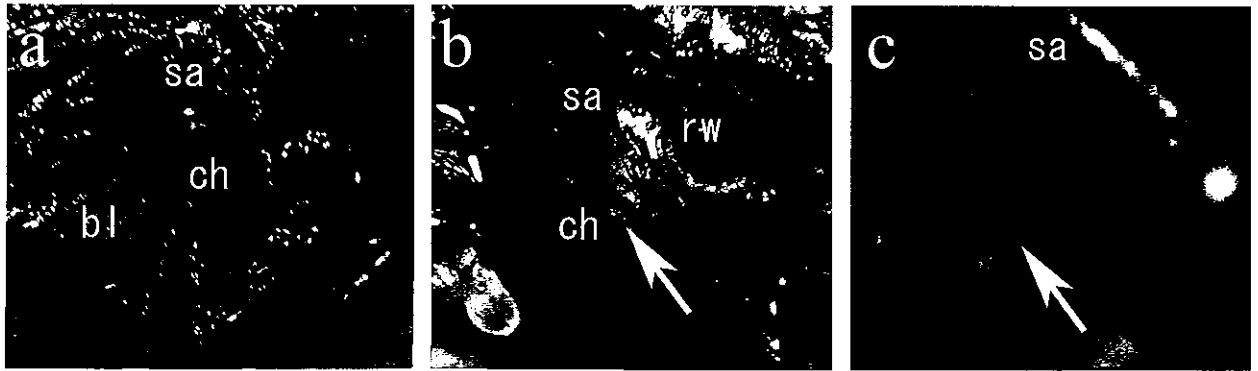


Fig. 3. Surgical approach to the cochlear lateral wall. (a), (b) Bulla (bl), cochlea (ch), stapedial artery (sa), round window (rw); (c) a small hole was made at the cochlear second turn (arrow).

ABR thresholds were determined. Animals were anesthetized with ketamine (100 mg/kg) and xylazine (9 mg/kg) by intraperitoneal injection and placed inside a sound-isolated booth. Generation of acoustic stimuli and subsequent recording of evoked potentials were performed using a PowerLab/4sp (ADInstruments, Castlehill, Australia). Acoustic stimuli, consisting of tone burst stimuli (0.1 ms  $\cos^2$  rise/fall and 1 ms plateau), were delivered monaurally through a speaker (ES1spc; BioResearch Center, Tokyo, Japan) connected to a funnel fitted into the external auditory meatus. To record bio-electrical potentials, subdermal stainless steel needle electrodes were inserted at the vertex (ground), ventrolateral to the measured ear (active) and contralateral to the measured ear (reference). Stimuli were calibrated against a 1/4" free-field mike (ACO-7016; ACO Pacific, Inc., Belmont, CA, USA) connected to an oscilloscope (DS-8812 DS-538; Iwatsu Electric, Japan) or a sound level meter (LA-5111; Ono Sokki, Tokyo, Japan). Responses between the vertex and mastoid subcutaneous electrodes were amplified with a digital amplifier (MA2; Tucker-Davis Technologies, Alachua, FL, USA). The threshold was

determined for frequencies of 10, 20 and 40 kHz from a set of responses at varying intensities with 5 dB intervals and electrical signals were averaged at 512 repetitions.

All experimental protocols were approved by the Animal Research Committee, Graduate School of Medicine, Kyoto University. Animal care was performed under the supervision of the Institute of Laboratory Animals, Graduate School of Medicine, Kyoto University.

## RESULTS

In this study, two procedures for cell transplantation into the inner ear, transplantation from the LSCC and from the CLW, were conducted. After transplantation from the LSCC, transplant-derived cells were identified at every turn of the cochlea in all experimental animals. The majority of transplant-derived cells were localized in the perilymphatic space (Fig. 4). The ratio of the scala vestibule was 62.0% (322 in 519 transplant-derived cells), that of the scala tympani was 37.6% (195 in 519), and that of the scala media was

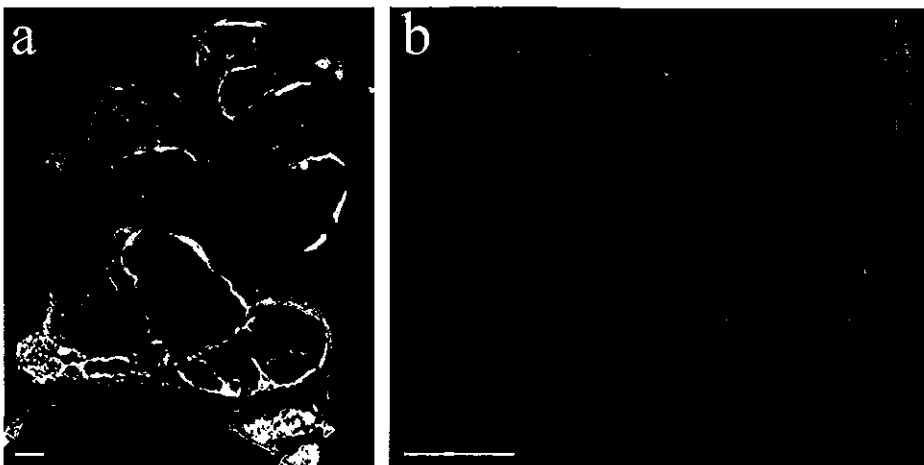
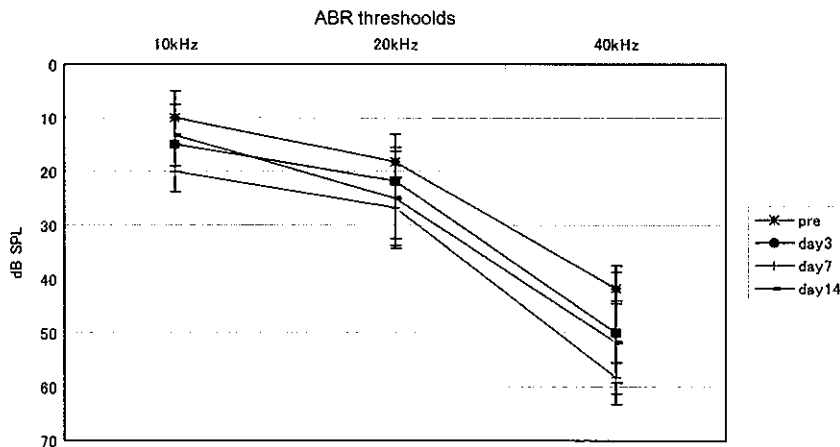


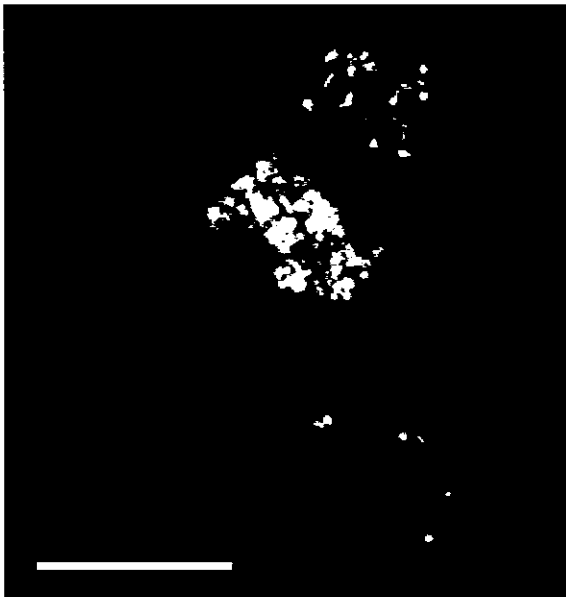
Fig. 4. Transplantation into the perilymphatic space. (a) Most of the transplanted cells were localized in the perilymphatic space. (b) Higher magnification of the second turn of the cochlea (scale bar represents 200  $\mu\text{m}$ ).



*Fig. 5.* Hearing level (ABR thresholds), preoperatively and 3, 7 and 14 days after injection from the lateral semicircular canal.

0.4% (2 in 519). Elevation of ABR thresholds was detected at every frequency (Fig. 5). Threshold shifts at 10 or 20 kHz ranged from 3.3 to 10.0 dB SPL. The largest threshold shift was found at the highest frequency, 40 kHz. Threshold shifts at 40 kHz ranged from 8.3 to 16.6 dB. Maximal elevation was observed on day 7 at every frequency. However, the threshold at every frequency on day 14 returned to that observed on day 3.

After transplantation from the CLW, transplant-derived cells were found at every turn of the cochlea in all experimental animals. Abundant transplant-derived cells were found in the scala media (Fig. 6). The ratio of the scala vestibule was 20.8% (94 in 451 transplant-derived cells), that of the scala tympani was 17.1% (77 in 451), and that of the scala media was 62.1% (280 in 451). Transplantation from the CLW



*Fig. 6.* Transplantation into the endolymphatic space (scale bar represents 200  $\mu$ m).

caused significant elevation of ABR thresholds. Threshold shifts over all frequencies ranged from 40.0 to 52.5 dB SPL. The largest threshold shift was found at the highest frequency, 40 kHz. Threshold shifts at 40 kHz ranged from 51.3 to 52.5 dB (Fig. 7). The threshold shift was about 50 dB across the test frequencies 3 days postoperatively, but there was no significant recovery of ABR thresholds observed at any frequency.

## DISCUSSION

In the present study, transplantation from the LSCC led to robust survival of transplanted neural stem cells in the cochlea, especially in the perilymphatic space of the cochlea. Over 90% of transplant-derived cells were located in the perilymphatic space. Transplants may settle in the perilymphatic space through the radial and longitudinal circulation of the perilymph within the scala tympani and scala vestibuli (Fig. 8). This approach only requires the opening of two small holes in the semicircular canals, resulting in negligible hearing loss. Additionally, access to the semicircular canals is very easy. Semicircular canal ducts can be identified by simply removing the temporal muscles. Moreover, this method does not require surgical procedures in the otic bulla. Therefore, the construction of the middle ear and cochlea remains intact, which may contribute to minimizing the loss of auditory function.

However, transplantation from the CLW induced considerable hearing loss, although an abundance of transplant-derived cells in the scala media was obtained. In contrast, few transplant-derived cells in the scala media were identified after transplantation from the LSCC. Therefore, transplantation from the CLW may be useful for intentional transplantation into the endolymphatic space. We consequently consider that transplantation from the CLW is useful for inner ear

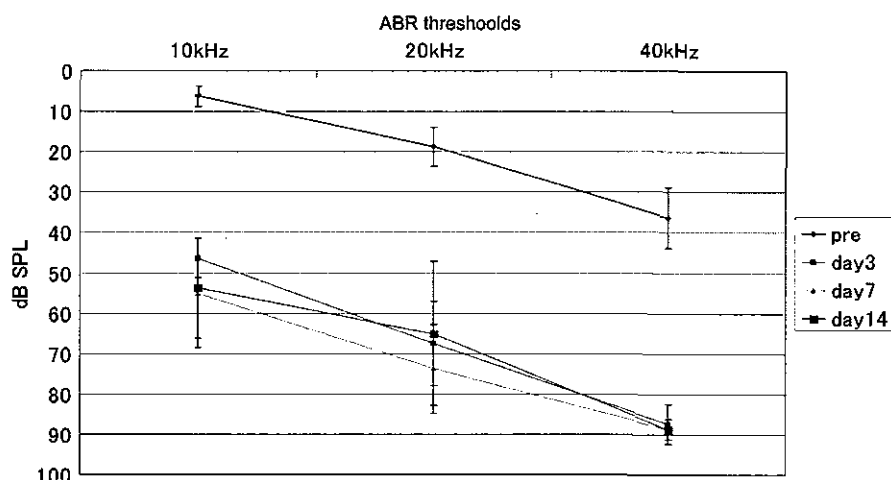


Fig. 7. Hearing level (ABR thresholds), preoperatively and 3, 7 and 14 days after injection from the cochlear second turn.



Fig. 8. Hypothetical circular route of neural stem cells. (ch = cochlea; lsc = lateral semicircular canal; psc = posterior semicircular canal; s = sacculus; u = utricles.)

research, but very difficult to utilize in clinical practice. In conclusion, we developed two different methods for cell transplantation into the mouse inner ear. These methods will be useful for experimental studies on the regeneration of inner ear tissues.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Science, Sports, Culture and Technology of Japan, and by a Grant-in-Aid for

Research on Sensory and Communicative Disorders from the Japanese Ministry of Health and Welfare.

REFERENCES

1. Jero J, Mhatre AN, Tseng CJ, et al. Cochlear gene delivery through an intact round window membrane in mouse. *Hum Gene Ther* 2001; 12: 539-48.
2. Pasic TR, Rubel EW. Rapid changes in cochlear nucleus cell size following blockade of auditory nerve electrical activity in gerbils. *J Comp Neurol* 1989; 283: 474-80.
3. Kingma GG, Miller JM, Myers MW. Chronic drug infusion into the scala tympani of the guinea pig cochlea. *J Neurosci Methods* 1992; 45: 127-34.
4. Iguchi F, Nakagawa T, Tateya I, et al. Trophic support of mouse inner ear by neural stem cell transplantation. *Neuroreport* 2003; 14: 77-80.
5. Nakagawa T, Kim TS, Murai N, et al. A novel technique for inducing local inner ear damage. *Hear Res* 2003; 176: 122-7.

Address for correspondence:  
 Takayuki Nakagawa, MD, PhD  
 Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery  
 Graduate School of Medicine  
 Kyoto University  
 Sakyo-ku  
 Kyoto 606-8507  
 Japan  
 Tel: +81 75 751 3346  
 Fax: +81 75 751 7225  
 E-mail: tnakagawa@ent.kuhp.kyoto-u.ac.jp

## Transplantation of Neural Stem Cells into the Modiolus of Mouse Cochleae Injured by Cisplatin

TETSUYA TAMURA<sup>1</sup>, TAKAYUKI NAKAGAWA<sup>1</sup>, FUKUICHIRO IGUCHI<sup>1</sup>, ICHIRO TATEYA<sup>1</sup>, TSUYOSHI ENDO<sup>1</sup>, TAE-SOO KIM<sup>1</sup>, YOUYI DONG<sup>3</sup>, TOMOKO KITA<sup>1,2</sup>, KEN KOJIMA<sup>1</sup>, YASUSHI NAITO<sup>1</sup>, KOICHI OMORI<sup>4</sup> and JUICHI ITO<sup>1</sup>

From the <sup>1</sup>Department of Otolaryngology–Head and Neck Surgery, <sup>2</sup>Horizontal Medical Research Organization, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Kyoto, Departments of <sup>3</sup>Physiology, Kagawa Medical University, Kagawa and <sup>4</sup>Otolaryngology, Fukushima Medical University, Fukushima, Japan

Tamura T, Nakagawa T, Iguchi F, Tateya I, Endo T, Kim T-S, Dong Y, Kita T, Kojima K, Naito Y, Omori K, Ito J. Transplantation of neural stem cells into the modiolus of mouse cochleae injured by cisplatin. *Acta Otolaryngol* 2004; Suppl. 551: 65–68.

This study aimed to examine the possibility of restoration of spiral ganglion neurons, which transmit sound stimulation to the brain, by transplantation of fetal neural stem cells (NSCs) into the modiolus of cochleae. Fetal mouse NSCs expressing green fluorescence were injected into the modiolus of cisplatin-treated cochleae of mice. The temporal bones were collected 14 days after transplantation, and provided histological examination. The cell fate of transplants was determined by immunohistochemistry for a neural or glial cell-marker. Histological analysis 2 weeks after transplantation revealed robust survival of transplant-derived cells in the modiolus of the cochlea. NSCs injected in the basal portion of cochleae migrated as far as the apical end of the modiolus. Grafted NSCs expressing a neural cell marker were identified, but the majority of grafted NSCs differentiated into glial cells. These findings suggest the possible use of NSCs in cell therapy for restoration of spiral ganglion neurons. However, further treatments are required to increase the number of NSC-derived neurons in the modiolus to realize functional recovery. *Key words:* cell therapy, neurosphere, regeneration, spiral ganglion neuron, stem cell.

### INTRODUCTION

Hearing impairment is the most frequent disability of people in industrialized countries. The loss of spiral ganglion neurons (SGNs) is a major cause for profound hearing loss (1). SGNs are auditory primary neurons in Rosenthal's canal in the modiolus of the cochlea. Sound stimulation is adapted by auditory hair cells, converted into electronic stimulation in hair cells, and transmitted to SGNs. The survival of SGNs is therefore a critical issue for maintenance of hearing function, and for obtaining the clinical benefits of cochlear implants, which are implantable devices designed to stimulate SGNs electronically. Regeneration of SGNs has thus been an important issue for restoration of hearing because their regenerative activity is very limited (2). New experimental approaches including cell transplantation are, thus, being pursued to restore hearing (3–5).

The aim of this study was to examine the potential of cell transplantation for restoration of SGNs. Fetal neural stem cells (NSCs) that have the potential for differentiation into neurons (4–7) were used as donor cells, and adult mice affected by cisplatin, in which severe degeneration of SGNs is induced (8), were the recipient animals.

### MATERIALS AND METHODS

The Animal Research Committee, Graduate School of Medicine, Kyoto University approved all experimental protocols. Animal care was under the supervision of

the Institute of Laboratory Animals, Graduate School of Medicine, Kyoto University.

Fetal mouse NSCs expressing green fluorescence were used as transplants (4, 5). NSC spheres were obtained from the neuroepithelium of the dorsal telencephalon of embryos at embryonic day 11.5 of C57BL/6JTG14 (Act-EGFP) Obs-Y01 transgenic mice (9) using the neurosphere culture medium (10, 11). Secondary neurospheres, which exhibited expression of nestin, but no expression of neuron-specific class III beta-tubulin (TuJ1) or glial fibrillary acidic protein (GFAP), were collected, dissociated and suspended for transplantation at a density of  $1 \times 10^5$  cells/ $\mu$ l in the neurosphere culture medium. C57BL/6 mice at 6 weeks of age ( $n = 4$ ) were used as recipient animals. A cisplatin solution (2.5 mg/ml in physiological saline; Sigma, St Louis, MO, USA) was injected from the left posterior semicircular canal. The procedures used are described in detail elsewhere (12). In this model, about 60% of SGNs disappear at 14 days after cisplatin treatment (8). The left cochlea of recipient animals was exposed under anesthesia with an intraperitoneal injection of ketamine (100 mg/kg) and xylazine (9 mg/kg) 14 days after treatment of local application of cisplatin. The medium containing NSC aggregates (2  $\mu$ l) was then injected into the cochlea through the round window toward the direction of the cochlear modiolus using a Hamilton syringe and infusion pump. The round window membrane was then covered with connective tissue and adherent agents.

On day 14 after transplantation, the left cochlea of recipient animals was re-exposed after administration of lethal doses of ketamine and xylazine, and 4% paraformaldehyde in 0.01 M phosphate-buffered saline (PBS) at pH 7.4 was gently perfused into the perilymph from the round window. The animals were then sacrificed by cervical dislocation. The temporal bones were collected and immersed in the same fixative for 4 h at 4°C. Cryostat sections 10  $\mu$ m thick were made, and the mid-modiolus sections were used for histological analysis.

The cell fates of grafted NSCs were determined by immunohistochemistry for TuJ1, a marker for neurons, or GFAP, a marker of glial cells. Anti-TuJ1 rabbit polyclonal antibody (1:300; Covance Research Product, Berkeley, CA, USA) or anti-GFAP rabbit polyclonal antibody (1:200; Sigma) was used as the primary antibody, and Alexa Fluor 594-conjugated anti-rabbit or goat IgG (1:200; Molecular Probes, Eugene, OR, USA) was as the secondary antibody. Counterstaining with 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI; Molecular Probes) was performed for demonstration of nuclear chromatin. The specimens were viewed with a Nikon ECLIPSE E600 fluorescence microscope (Nikon, Tokyo, Japan).

The numbers of transplant-derived cells in the modiolus in one section and the ratios of positivity for each marker in transplant-derived cells were examined. Both EGFP- and DAPI-positive cells were defined as transplant-derived cells. The average of two sections for each animal was defined as the number for that animal. The ratio of positivity for each marker in transplant-derived cells in the modiolus was then calculated.

## RESULTS

We confirmed robust survival of the injected cells in cochleae of all experimental animals. NSC-derived cells were located in the modiolus of cochleae or scala tympani (Fig. 1A). NSC-derived cells injected into the basal part of the modiolus were also found in the apical end of the modiolus, indicating the migration activity of NSCs in the modiolus of cochleae. Some NSC-derived cells settled in spiral ganglions. The mean and standard deviation of numbers of NSC-derived cells in the modiolus was 190.5 and 60.8.

NSC-derived cells in the modiolus exhibited expression of TuJ1 (Fig. 1B–D) or GFAP (Fig. 1E–G). TuJ1-positive grafted cells were predominantly located in the osseous spiral lamina or spiral ganglion. Expression of TuJ1 was observed in about 10% of NSC-derived cells. Immunohistochemistry for TuJ1 also demonstrated an apparent decrease of SGNs. The majority of NSC-derived cells were positive for GFAP

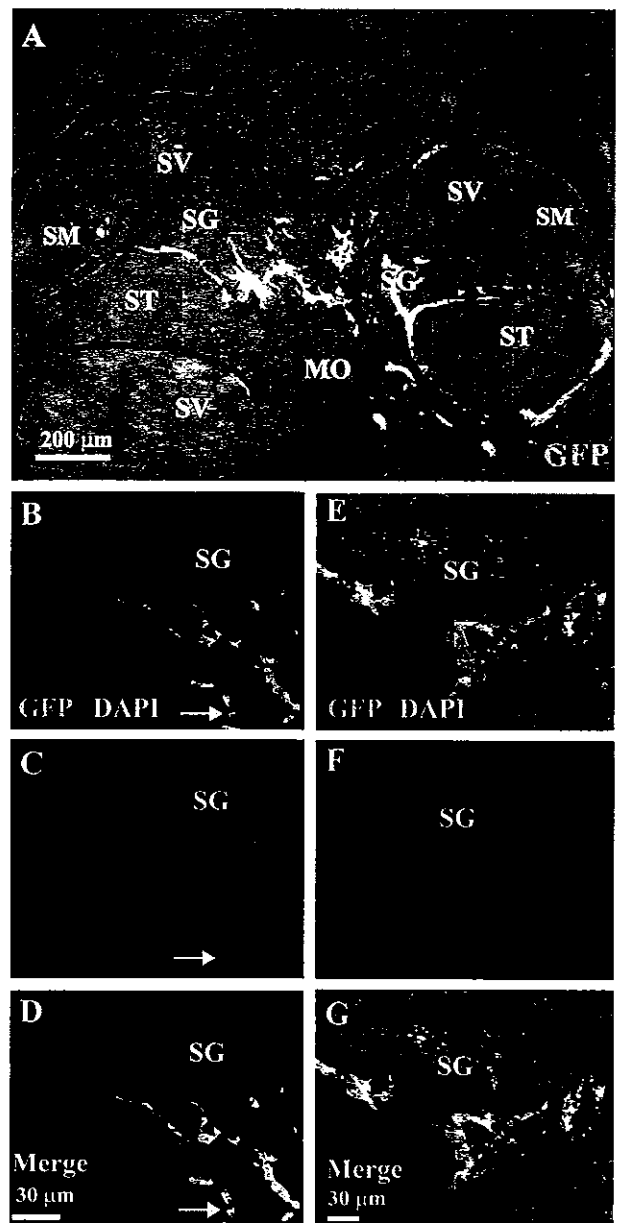


Fig. 1. Survival and differentiation of neural stem cells (NSCs) grafted into the modiolus of injured cochleae. (A) NSC-derived cells expressing green fluorescence protein (GFP) settled in the apical portion of the modiolus. (B–D) Immunohistochemistry for neuron-specific class III beta-tubulin (TuJ1; red) demonstrates that a few of the NSC-derived cells differentiated into neurons (arrows). (E–G) Expression of glial fibrillary acidic protein (GFAP; red) is frequently observed in NSC-derived cells. (SG = spiral ganglion; MO = modiolus; ST = scala tympani; SV = scala vestibuli; SM = scala media.) Scale bar represents 200  $\mu$ m (A) or 30  $\mu$ m (B–G).

(Fig. 1E–G). Expression of GFAP was observed in about 80% of NSC-derived cells. GFAP-positive grafted cells were found in the modiolus and spiral ganglion. Interestingly, TuJ1-positive grafted cells

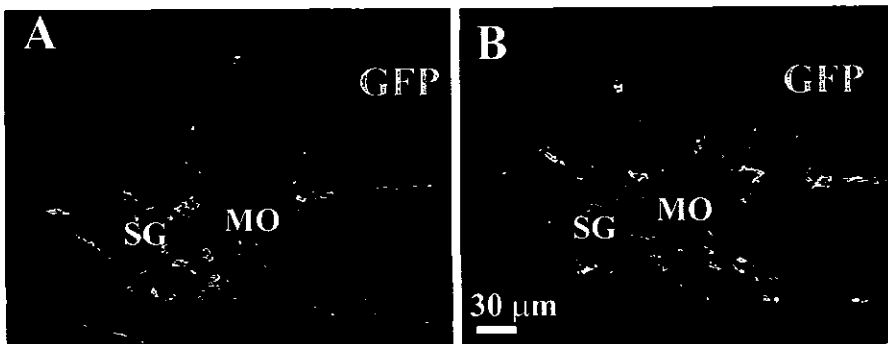


Fig. 2. Distribution of neuron-specific class III beta-tubulin (TuJ1)- or glial fibrillary acidic protein (GFAP)-positive grafted cells in the modiolus. TuJ1-positive grafted cells are positioned on the periphery of the mass of grafted cells (A), while GFAP-positive ones are central (B). (GFP = green fluorescence protein.) Scale bar represents 30  $\mu\text{m}$ .

were positioned on the periphery of grafted cells (Fig. 2A), while GFAP-positive grafted cells were mainly located in the center of grafted cells (Fig. 2B).

## DISCUSSION

Previous studies have demonstrated that NSCs grafted into the inner ear survive in the cochlear cavity of newborn rats (3) and adult mice (4). In addition, it has been demonstrated that NSCs grafted into the cochlear cavity migrate into the modiolus and sensory epithelia of cochleae damaged by aminoglycosides (5). These findings suggest that NSCs can be a source of transplants for cell therapy of degenerative inner ear diseases. It has also been revealed that grafted NSCs surviving in the cochlear cavity differentiate into neural cells in normal inner ears (4) and in injured inner ears (5), suggesting that NSCs can be transplants for restoration of SGNs. We thus used NSCs as transplants for restoration of SGNs in this study. In previous studies on NSC transplantation into the inner ear, injection of NSCs into the cochlear duct (3, 5) or semicircular canal (4) was used as procedures for transplantation. However, no or few NSC-derived cells in the modiolus have been identified in these studies. We thus used a direct injection into the modiolus as a method for NSC transplantation to introduce NSCs into the modiolus.

The present findings demonstrate the robust survival of NSC-derived cells in the modiolus. In addition, NSCs injected in the basal portion of the modiolus settled in the apical end of the modiolus and osseous spiral lamina, indicating the high potential of NSCs for migration. The migration capacity of NSCs has also been reported in the spinal cord (13). Therefore, an injection of NSCs in the basal portion of the modiolus is an effective method for introduction of NSCs into the modiolus from the base to the apex.

Immunohistochemistry for TuJ1 and GFAP revealed the cell fate of grafted NSCs surviving in the

modiolus. NSC-derived cells differentiated into neurons in the modiolus, indicating that NSC transplantation into the modiolus may be utilized for restoration of SGNs. However, only 10% of NSC-derived cells differentiated into neurons, similarly to previous findings when NSCs are grafted into the fluid space of the inner ear (4, 5). On the other hand, it is noteworthy that TuJ1-positive grafted cells distributed on the periphery of the mass of grafted cells. SGNs are located between the modiolus and organ of Corti. Therefore, NCS-derived cells tend to differentiate into neurons in the near area corresponding to the known area of auditory nerves.

Functional recovery of SGNs requires more abundant neurons derived from transplants. Therefore, promotion of the activity of neural differentiation or increase of numbers of surviving NSC-derived cells was crucial for functional recovery of SGNs. Neurotrophins reportedly stimulate neural differentiation of NSCs (14). In addition, several neurotrophins have effects for promotion of neurite outgrowth from NSCs (15). Therefore, the supplement of neurotrophins may be a cue for the promotion of the survival of NSCs grafted in the inner ear and functional recovery. On the other hand, the microenvironments where NSCs settled influence the fate of grafted NSCs. Cytokines associated with inflammation influence the survival and differentiation of NSCs transplanted in the nervous system (16). The microenvironments of the cochlea also alter depending on the time after traumatic treatment (8). Optimization of the timing of transplantation of NSCs is hence required for increased numbers of NSC-derived neurons in the modiolus.

In conclusion, an injection of NSCs into the modiolus of injured cochleae results in robust survival of grafted NSCs in the modiolus. Grafted NSCs differentiate into neurons in the modiolus, although their number is limited. NSC is a possible candidate of cell therapy for restoration of SGNs.

## ACKNOWLEDGEMENTS

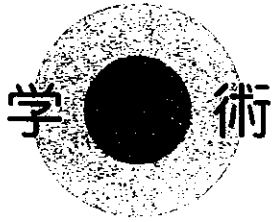
This study was supported by a Grant-in-Aid for the Regenerative Medicine Realization Project from the Ministry of Education, Science, Sports, Culture and Technology of Japan, and by a Grant-in-Aid for Research on Sensory and Communicative Disorders from the Japanese Ministry of Health and Welfare.

## REFERENCES

- Nelson EG, Hinojosa R. Aplasia of the cochlear nerve: a temporal bone study. *Otol Neurotol* 2001; 22: 790–5.
- Ruben RJ. Development of the inner ear of the mouse: a radioautographic study of terminal mitoses. *Acta Otolaryngol* 1967; Suppl. 220: 1–44.
- Ito J, Kojima K, Kawaguchi S. Survival of neural stem cells in the cochlea. *Acta Otolaryngol* 2001; 121: 140–2.
- Iguchi F, Nakagawa T, Tateya I, et al. Trophic support of mouse inner ear by neural stem cell transplantation. *Neuroreport* 2003; 14: 77–80.
- Tateya I, Nakagawa T, Iguchi F, et al. Fate of neural stem cells grafted into injured inner ears of mice. *Neuroreport* 2003 (in press).
- Lillien L, Raphael H. BMP and FGF regulate the development for EGF-responsive neural progenitor cells. *Development* 2000; 127: 4993–5005.
- Toda H, Takahashi J, Mizoguchi A, Koyano K, Hashimoto N. Neurons generated from adult rat hippocampal stem cells form functional glutamatergic and GABAergic synapses in vitro. *Exp Neurol* 2000; 165: 66–76.
- Lee JE, Nakagawa T, Kim TS, et al. A novel model for rapid induction of apoptosis in spiral ganglions of mice. *Laryngoscope* 2003; 113: 994–9.
- Ikawa M, Yamada S, Nakanishi T, Okabe M. 'Green mice' and their potential usage in biological research. *FEBS Lett* 1998; 430: 83–7.
- Reynolds BA, Weiss S. Clonal and population analyses demonstrate that an EGF-responsive mammalian embryonic CNS precursor is a stem cell. *Dev Biol* 1996; 175: 1–13.
- Nakamura Y, Sakakibara S, Miyata T, et al. The bHLH gene *Hes1* as a repressor of the neuronal commitment of CNS stem cells. *J Neurosci* 2000; 20: 283–93.
- Nakagawa T, Kim TS, Murai N, et al. A novel technique for inducing local inner ear damage. *Hear Res* 2003; 176: 122–7.
- Ogawa Y, Sawamoto K, Miyata T, et al. Transplantation of in vitro-expanded fetal neural progenitor cells results in neurogenesis and functional recovery after spinal cord contusion injury in adult rats. *J Neurosci Res* 2002; 69: 925–33.
- Ito H, Nakajima A, Nomoto H, Furukawa S. Neurotrophins facilitate neuronal differentiation of cultured neural stem cells via induction of mRNA expression of basic helix-loop-helix transcription factors *Mash1* and *Math1*. *J Neurosci Res* 2003; 71: 648–58.
- Shetty AK, Turner DA. Neurite outgrowth from progeny of epidermal growth factor-responsive hippocampal stem cells is significantly less robust than from fetal hippocampal cells following grafting onto organotypic hippocampal slice cultures: effect of brain-derived neurotrophic factor. *J Neurobiol* 1999; 38: 391–413.
- Nakashima K, Taga T. Mechanisms underlying cytokine-mediated cell-fate regulation in the nervous system. *Mol Neurobiol* 2002; 25: 233–44.

Author for correspondence:  
 Takayuki Nakagawa, MD, PhD  
 Department of Otolaryngology–Head and Neck Surgery  
 Graduate School of Medicine  
 Kyoto University  
 Kawaharacho 54, Shogoin  
 Sakyo-ku  
 606-8507 Kyoto  
 Japan  
 Tel: +81 75 751 3346  
 Fax: +81 75 751 7225  
 E-mail: tnkagawa@ent.kuhp.kyoto-u.ac.jp





## 福島県新生児聴覚検査事業の試行について

日耳鼻福島県地方部会乳幼児医療委員

村上 正文

福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科学講座教授

大森 孝一

数年来、産科または小児科の一部において、出産後の入院中に簡便に実施できる新生児聴力検査機器が普及してきている。これにより他覚的に聴力を測定することが可能となり、難聴の早期発見には画期的な医療機器の進歩といえる。福島県では一部の地域（郡山）ではあるが、検査費用の一部を補助する事業の試行が平成16年1月から始まり、今後、県北など範囲を拡大していく予定である。この事業については全国的に各都道府県で検討されているが、数多くのかつ多面的な問題を含んでいるため、特に耳鼻咽喉科学会並びに関連

学会では慎重に検討、準備するよう指摘している。本県では昨年、事業化試行のために産科医、小児科医、耳鼻咽喉科医、療育関係者、聾学校生徒の保護者、県のスタッフで福島県新生児聴覚検査事業検討会が設けられ事業の手引きを作成した。しかし、障害に関する問題として考えてゆくと、今まで以上に多くの関係者の考え方、立場を理解し、この事業だけに留まらない小児難聴全般への体制整備に発展させて行かなければならないことを痛感させられる。以下に、主に耳鼻咽喉科側から見たこの事業の基本的な意義、また問題点を

書かせていただいた。

これまで、高度難聴児は周囲が気付く事が多く、比較的早期に発見される事は困難ではなかった。しかし、周囲で気付かれにくい中等度以下の難聴を発見する事は乳幼児の聴力を簡便に検査できる機器が無かったため困難であった。中等度の難聴でも言語発達に影響を与え、情緒障害などの原因になることが知られているが、就学時になって初めてそれらの障害の原因が難聴であったことが診断されるケースもある。3歳児健診などを中心にその発見に様々な工夫がなされてきたが確実な方法はなく、また言葉の発達遅滞に対する楽観視なども多く、なかなか発見率の向上は進まなかった。そんな中で今回の検査機器の普及は、早期発見、早期療育を可能にすると期待されている。

しかし、この検査を普及させて行くためには、各関係者が徹底して認識しなければならない注意点があり、また難聴児発見後の体制については今後整備して行かなければならないことも多い。福島県の事業計画では他覚的聴力検査(AABR)は出産入院中に実施されるが、一度の検査だけでは診断は確定できないため難聴の疑いがあった場合、その後再検査、精密検査と検査を進めていくことになる。その際、親に与える不安を最小限にしな

ければならないが、出産直後の母親の心理状態には計り知れない部分があり、慎重に対応したつもりでもパニックに陥ってしまう事がしばしば経験されている。これらのことを踏まえ、各地で様々かつ詳細な対応マニュアルが作製されている。直接検査に係わらない産科、小児科、耳鼻咽喉科標榜の一般診療所などにも、新生児聴覚検査に関しての相談や難聴を心配して受診する患者さんが増加すると見込まれ、的確な対応が求められる。その際、親へ過度の不安を与えないように説明するためには、出生時の検査だけでは診断できないこと、診断には以後発育を待ちながら再検査を進めていく必要があることが要点となる。

また、難聴児が発見された後の補聴器装用による学習などを指導する療育体制が整備されていなければこの検査は意味が無くなる。トラブルが無いように精密検査を実施し診断を確定してゆき保護者とともに療育を進めてゆくためには、経験豊富な小児難聴の専門医師とST(言語聴覚士)および専門施設が不可欠である。しかし、このような新生児を対象とした療育体制は全国的に見ても整っている所は少ない。本県では、現状で即対応可能な県中(郡山)地区から試行されることになったが、以後、県北、さらにいわき、会津と体制作りを進めることが急務である。

現実には検査はすでに各医療機関で個人的に実施されているわけであり、事業のあるなしにかかわらず、各地区で各関係者に対応の注意点などを再度啓蒙してゆきながら、行政を含んだ小児難聴に対するネットワーク作りを進めなければならないと考えている。小児難聴に関して幅広い各関係者とまとまった体制作りを考える事は決して容易な事ではなく、また、これまでに経験が少なく、その過程でさまざまな不備が生じるかもしれないが、関係者各位のご理解とご協力をお願いする次第である。

**補足：聴覚検査機器の種類について**

AABR（自動聴性脳幹反応検査）とOAE

（耳音響放射検査）がある。詳細は省略するが、前者は診断精度が優れているがまだ高価である。後者は比較的購入しやすい価格であるが、正常でも要検査と判定されることがやや多く、AABRに比較し診断精度が劣る。今回の事業では検査機器はAABRを使用することを条件としている。これは、前述したように保護者に不安をあたえる機会をなるべく少なくしたいと考え推奨している意味がある。しかし現実にはOAEを使用している機関も少なくない。できるだけ正確な結果が得られるための注意点などを周知されることが望まれる。そのための講習会なども企画してゆく予定ではあるが、今後、AABRが購入しやすい価格になり普及する事が期待される。



- 馬場陽子（福島県総合療育センター）、佐藤尚恵（公立藤田総合病院）、  
大森孝一（福島医大耳鼻咽喉科）

#### 【はじめに】

先天性サイトメガロ（CMV）感染症は既知の体内感染症の中で最も頻度が高く、本邦では全出生児の0.4%に発生すると報告されている。その5%は奇形などの重篤な症状を示し、難聴を合併する症例はおおよそ30%とされている。また、聴覚障害は進行することもあり、不顕性感染児の約8%では持続感染のために幼児期に進行性の感音難聴として発症することが解ってきている。しかし、本邦では難聴を伴う先天性サイトメガロウイルス感染症児の詳細な報告は少ない。そこで今回私たちは当科で経験した先天性サイトメガロウイルス感染症幼児の聴力と発達の経過を若干の文献的考察を加え報告する。

#### 【対象と方法】

平成5年7月から平成16年6月までの11年間に当センターを初診した先天性サイトメガロウイルス感染症と確定診断されている4症例を対象とした。現病歴および検査内容はカルテよりretrospectiveに調査した。定期的に聴力検査と発達についての評価を行いその経過をまとめた。

#### 【結果】

症例1 H4.10.16生女 診断：脳性麻痺 精神発達遅滞 両感音難聴

経過：33週 1982gにて出生。呼吸障害ありNICUに入院。生後25日に眼科検診にて網脈絡膜炎と診断されたため、血液尿検査を行ったところCMV特異IgM抗体陽性、尿中CMV検出され先天性CMV感染症と診断され、日令41～54にガンシクロピルの投与を受けた。生後9ヶ月から当センターで発達について経過観察されていたが、難聴には気づかれず、6歳5ヶ月にて普通小学校に入学した。入学後の学校検診で異常を指摘されたため他病院耳鼻咽喉科にて精査を受けたところABR右V波閾値50dB、左無反応、遊戯聴力検査にて右33.8dB（4分法）、左scale outであった。当科へは補聴器のfitting目的に紹介となり、6歳10ヶ月より補聴器の装用を開始した。定期的に聴力の経過観察を行っているが10歳9ヶ月時の検査で右37.5dBであり聴力の悪化は認めていない。発達については5歳8ヶ月時の田中ビネー式知能検査でIQ56と軽度から中等度の精神発達遅滞を認めている。

症例2 H10.2.9生女 診断：脳性麻痺 精神発達遅滞 遠視性乱視 内斜視

経過：胎生32週にIUGR指摘されていた。40週2050gにて出生、呼吸障害あり、NICUに入院した。入院時の頭部CTにて石灰化を認めた。血清ではCMV特異的IgM陰性であったが咽頭ぬぐい液からCMV分離検出され先天性CMV感染症と診断された。生後4ヶ月から当センターで発達について経過観察を受けている。難聴のスクリーニングのため7ヶ月時に他病院でABRを施行。V波閾値 右50dB、左60dBであったため難聴が疑われ当科紹介となった。同時期に行ったCORでは20dB（4分法）にて反応が見られ、経過観察となった。1歳0ヶ月時のCOR25dB、5歳4ヶ月時のCOR20dBにて反応があり、正常範囲の聴力であると思われ、聴力については経過観察中である。発達については3ヶ月時

の津守稲毛式発達検査でDQ11、その後も伸びず、現在6歳4ヶ月であるが定額していない。

症例3 H12. 10. 27生 女 診断：脳性麻痺 精神発達遅滞 てんかん 両感音難聴  
経過：在胎7ヶ月時にエコーにて水頭症と診断されていた。40週2504gにて出生。頭部CTにて脳室拡大、脳室周囲石灰化認められたため、先天性感染症の検索を行ったところCMV特異的IgM抗体は陰性であったが尿、血液よりCMV検出され先天性CMV感染症と診断された。難聴のスクリーニングのため8ヶ月時に他病院にてABR施行され105dB両側無反応、同時期のCORにて50~60dBの難聴が疑われた。家族の希望がありすぐに補聴器の装用を開始した。聴力の経過はてんかんのコントロールが不良であったことなどからCORによる平均聴力レベルは10ヶ月時77.5dB、1歳11ヶ月時67.5dB、2歳10ヶ月時52.5dBと受診時の状態によってばらつきがあるが悪化は見られなかった。補聴器の装用効果は認められ現在も補聴器は装用している。最重度精神運動発達遅滞であり2歳11ヶ月時の津守稲毛式発達検査でDQ7、3歳9ヶ月にて定額していない。

症例4 H4. 10. 16生 女

診断：脳性麻痺 精神発達遅滞 てんかん 両感音難聴 両視神経萎縮

経過：38週2940gにて出生 哺乳力不足、チアノーゼにてNICU入院。頭部CTにて脳萎縮、石灰化認められ、血清CMV特異的IgM陽性であることから先天性CMV感染症と診断された。里帰り出産であったため生後1ヶ月から地元療育施設にて経過観察を受けていた。難聴のスクリーニングのため生後8ヶ月時にABR施行され右無反応、左V波閾値80dBであった。同時期に行ったCORにて1kHz 65dB、4kHz 80dBであったため両感音難聴と診断された。1歳10ヶ月時福島県へ転居となり当センターにて経過観察訓練など受けるようになった。聴力は1歳10ヶ月COR1kHz 55dB、4kHz 60dB、2歳9ヶ月COR50~60dBであり難聴の進行は今のところ認められない。2歳9ヶ月になり保護者から補聴器の使用について相談があり試聴を開始したところである。発達は1歳10ヶ月時でDQ10である。

#### 【まとめ】

当科で経験した症例はすべて精神運動発達遅滞を伴っており、症例1を除き最重度の精神運動発達遅滞である。すべての症例が出生時に呼吸困難や哺乳力不足がありNICUに入院したため確定診断は新生児期に行われている。4例中3例に感音難聴を認めるが重度の精神運動発達遅滞を伴う症例2には難聴を認めなかった。4例とも当科受診後は聴力の悪化は認められなかったが、症例1では乳幼児期にABRやCORなどのスクリーニング的な検査が行われなかったため難聴の発見が遅れてしまった。また難聴が進行してから発見されたのか先天性であったのかは確定できない。症候性感染の30%に難聴を認めるとの報告があり、先天性難聴がなくても進行性の難聴を認める症例もあることから先天性CMV感染症児には乳児期のABRやCORによる難聴のスクリーニングは必ず必要である。難聴を認めた症例1, 3, 4は補聴器を装用している。症例3, 4は最重度の精神運動発達遅滞ではあるが、補聴器の装用により、呼びかけへの反応がよくなり、音楽やテレビも楽しむ様子が確認できた。このことから障害が重くても可能であれば補聴器の装用を行うべきと考える。

## 13トリソミー症候群の側頭骨病理 — 2 症例の報告と文献的考察 —

松井 隆道\*、大谷 巖\*\*、小川 洋\*、鈴木 聡明\*\*\*

\*福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科学教室

\*\*福島労災病院

\*\*\*公立藤田総合病院

### Temporal bone histopathology in trisomy 13

Takamichi Matsui\*, Iwao Ohtani\*\*, Hiroshi Ogawa\*, Chiaki Suzuki\*\*\*

\*Department of Otolaryngology, Fukushima Medical University

\*\*Fukushima Rosai Hospital

\*\*\*Public Fujita General Hospital

Trisomy 13 has multiple physical anomalies. The aural malformations are also various. To date, a review of the literature showed 18 reports of the histopathological changes affecting the temporal bone in patients with trisomy 13. In this report, histopathological findings of the temporal bone of a fetus with trisomy 13 are described.

The first case, 35 weeks male, had multiple malformations in the middle and inner ears. The inner ear presented Mondini type dysplasia.

The second case, 21 weeks female, had also Mondini type inner ear dysplasia. Disorders of two cases are regarded as viviparity eight weeks in embryology. Inner ear malformations of trisomy 13 is variously from mild to severe, and it seems to be difficult to classify.

Radiological evaluation of malformed classification in trisomy 13 will become useful in the future.

---

**Key words** : trisomy 13, temporal bone, histopathology, Mondini type dysplasia

---

#### はじめに

13トリソミー症候群は1960年にPatauら<sup>1)</sup>によつてはじめて報告された疾患で、高度かつ多彩な奇形、難聴、精神発達遅滞を特徴とする。本症候群の側頭骨病理所見は1965年にMottetら<sup>2)</sup>によつて報告されて以来、種々の形態異常が報告されている。欧米ではこれまで13例<sup>2)~10)</sup>の報告があり、本邦ではSaitoら<sup>11)</sup>、斎藤ら<sup>12)</sup>、Tomodaら<sup>13)</sup>、丸山ら<sup>14)</sup>、渡部ら<sup>15)</sup>が1例ずつの報告を行っている。今回われわれは2例の13トリソミー症候群症例の側頭骨病理を観察する機会を得たので、その詳細について報告し、併せてこれまでの国内外の18報告例について考察を加えた。

#### 症 例

1) 症例1 : 男児 在胎35週。

家族歴 : 特記すべき事なし。

現病歴 : 母35歳(3妊1産)の第二子。特に異常なく経過していたが、在胎35週に胎動消失し死産となった。体重は1780gであった。

剖検所見 : 外表奇形は口唇口蓋裂、耳介低位、鼻隆起低位、鼻腔無形成などの顔面の奇形を認めた。他に動脈管開存、心室中隔欠損、メッケル憩室の内臓異常、停留睾丸が認められた。染色体検査にて(47, XY, +13)の13トリソミー症候群と診断された。

側頭骨病理所見 :

右耳

外耳 : 耳介低位を認めたが、外耳道には異常は認めら

れなかった。

中耳：中耳腔はmesenchymal tissueで充満していた(図1)。ツチ骨、キヌタ骨の骨化は不完全で骨髓腔に造血が認められた。ツチ骨骨頭、キヌタ骨長脚の形態異常を認めた。アブミ骨は単脚で未発達、アブミ骨底板は前輪状靭帯の形成不全のため周囲骨胞と骨性固着していた。顔面神経は、膝部では鈍角に走行し、水平部では顔面神経管は消失し、神経は鼓室内に浮いていた。

内耳：蝸牛は短蝸牛(22.1mm)であり、蝸牛軸は低形成でラセン神経節細胞の数は少なかった(図2)。コルチ器は変性し観察に適さなかったが、蓋膜、血管条、ライスネル膜に明らかな形態異常は認めなかった。蝸牛小管は太く、前半規管、外側半規管の形成不全を認め、また内リンパ管は太く内リンパ囊へと移行していた。



図1 症例1、右耳

中耳腔はmesenchymal tissue(\*)で充満していた。ツチ骨(M)、キヌタ骨(I)の骨化は不完全で骨髓腔に造血が認められた。ツチ骨骨頭、キヌタ骨長脚の形態異常を認めた。

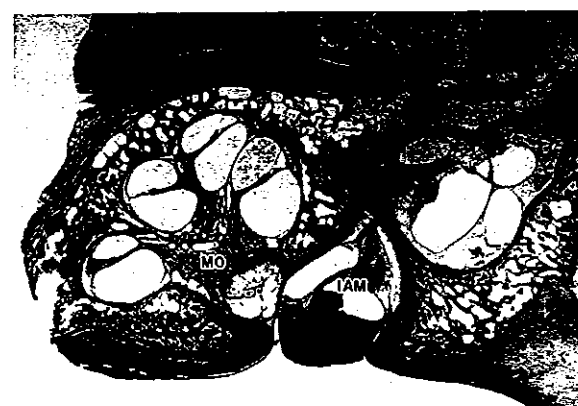


図2 症例1、右耳

蝸牛軸(MO)は低形成でラセン神経節細胞の数は少なかった。コルチ器には形態異常を認めなかった。IAM：内耳道

左耳

外耳：耳介低位を認めたが、外耳道には異常は認められなかった。

中耳：中耳腔はmesenchymal tissueで充満していた。ツチ骨、キヌタ骨の骨化は不完全で骨髓腔に造血が認められた。右耳と異なりアブミ骨に前・後脚を認めたが、後脚は太く底板の中央にあり、骨髓腔に造血が認められた(図3)。顔面神経は右耳と同様に膝部では鈍角走行し、水平部では鼓室内に浮いていた。

内耳：蝸牛は右耳と同様に短蝸牛で、蝸牛軸は低形成でラセン神経節細胞の数は少なかった。コルチ器は変性し観察に適さなかったが、蓋膜、血管条、ライスネル膜に明らかな形態異常は認めなかった。蝸牛小管は太く、前半規管、外側半規管にも形成不全を認めた。



図3 症例1、左耳

アブミ骨(S)は骨化が不完全で骨髓腔に造血を認めた。後脚が底板の中央に付着していた。顔面神経管は広く骨欠損していた(矢印)。

## 2) 症例2：女児 在胎21週。

家族歴：特記すべきことなし

現病歴：母26歳(妊娠歴なし)。在胎15週にbrain cystと羊水過少を指摘された。在胎21週で死産。体重は425gであった。

剖検所見：耳介低位、眼裂狭小、単一鼻腔、鼻孔閉鎖などの顔面奇形、多趾症(両足6趾)を認めた。また全前脳、無嗅脳、視交叉の形成不全、クモ膜嚢胞、胸腺低形成、動脈管開存症、心房中隔欠損、心室中隔欠損、肺動脈閉鎖、胃と脾臓の左横隔膜ヘルニア、腸管の回転異常、重複膈、双角子宮、単一臍帯動脈、両肺無気肺が認められた。染色体検査にて(47, XX, +13)13トリソミー症候群と診断された(図4)。

側頭骨病理所見：

右耳

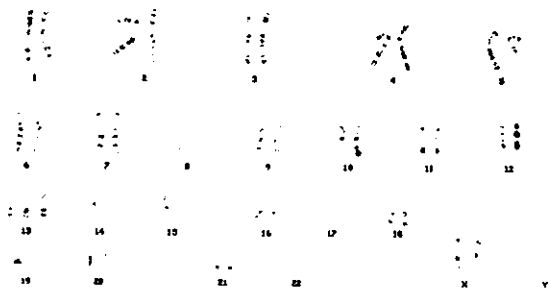


図4 症例2  
染色体 (47 XX + 13)

外耳：耳介低位を認めたが、外耳道には異常は認められなかった。

中耳：アブミ骨の脚は太く、骨化は不完全でアブミ骨動脈の残存を認めた。顔面神経は細く、膝部での走行は鈍角で膝神経節細胞の数は少なかった。顔面神経管は認められなかった。

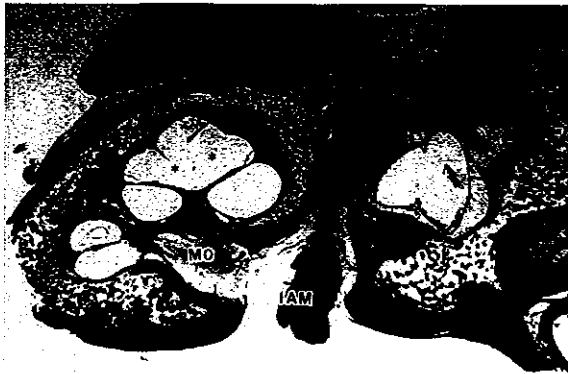


図5 症例2、右耳

蝸牛軸 (MO) の低形成を認め、蝸牛回転は2回転と短く、隔壁 (interscalar septum) は一部形成不全を認め (\*), またラセン神経節細胞の数は少なかった。IAM: 内耳道



図6 症例2、右耳  
蝸牛小管 (CA) は拡大していた。C: 蝸牛 PC: 後半規管

内耳：蝸牛軸の低形成を認め、蝸牛回転は2回転と短く、隔壁 (interscalar septum) は一部形成不全を認め (図5)、またラセン神経節細胞の数は少なかった。外側半規管は太く、内リンパ管の拡大と蝸牛小管の拡大が見られた (図6)。後半規管膨大部稜の低形成も認められ、典型的な Mondini 型奇形を示していた。

外耳：耳介低位を認めたが、外耳道には異常は認められなかった。

中耳：右耳と同様にアブミ骨の脚は太く骨化は不完全であった。顔面神経は細く、膝部での走行は鈍角で膝神経節細胞の数は少なかった (図7)。顔面神経管は認められなかった。

内耳：右耳と同様に蝸牛軸の低形成を認め、蝸牛回転は2回転 (18.8mm) であった。前半規管の膨大部側の欠損、外側半規管の形成不全、総脚の拡大、内リンパ洞

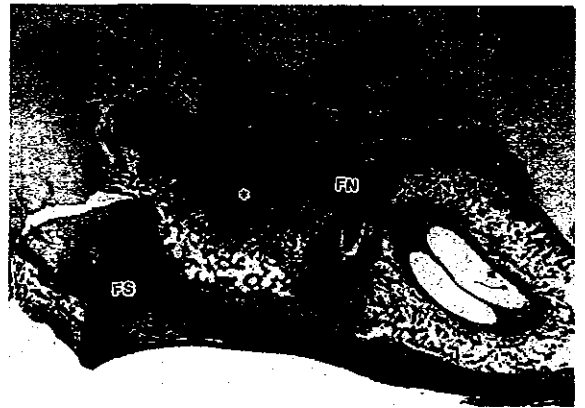


図7 症例2、左耳

顔面神経 (FN) は細く膝部での走行は鈍角で膝神経節細胞の数は少なかった。前半規管の膨大部側 (\*) が欠損していた。FS: 弓状下窩



図8 症例2、左耳

右耳と同様に蝸牛軸 (MO) の低形成を認め、蝸牛回転は2回転であった。外側半規管 (LC) の形成不全、内リンパ洞 (ED) の拡大が認められた。

U: 卵形嚢 S: 球形嚢



の拡大が認められた(図8)。卵形囊斑の形態異常を認めた。右耳同様にMondini型の奇形であった。

考 察

13トリソミー症候群の側頭骨病理に関しては、中耳・内耳に高度かつ多彩な奇形が認められた報告からほとんど奇形が認められない報告まで見られる。今回の自験例2例を含む過去の報告例20例の側頭骨病理所見について、中耳、内耳奇形の有無を20項目(耳介、外耳道、鼓膜、ツチ骨・キヌタ骨、アブミ骨、顔面神経、蝸牛、蝸牛小管、蝸牛軸、コルチ器、蓋膜、ライスネル膜、血管条、球形囊、卵形囊、前半規管、外側半規管、後半規管、内リンパ管、前庭神経)に分けて表1にまとめた。20項目の内、Mottetら<sup>2)</sup>、Kelemenら<sup>3)</sup>が報告した2例の側頭骨には異常を認めなかったが、その他の18例の側頭骨には2項目に異常が認められたものから、12項目に異常が認められたものまであり、20例の平均では6.3項目に異常が認められた。20項目の内、最も多く認められた異常部位は蝸牛12例、蝸牛小管12例であり、次いで、アブミ骨11例、顔面神経11例、外側半規管9例、蝸牛軸8例、血管条8例、球形囊8例の順であった。また骨迷路・膜迷路に形成不全を示すMondini型奇形を

合併しやすい症候群としてトリソミー症候群があげられているが、今回の13トリソミー症候群20例においても15例にMondini型奇形が認められた。

Sandoら<sup>10)</sup>は、13トリソミー症候群の主要病変として、1. 三半規管、特に水平半規管の形成不全、2. utriculo-endolymphatic valveの欠損あるいは形成不全、3. 顔面神経の発達不全、4. 異常に太い蝸牛小管の4所見をあげ、これらの所見の内1つはいずれの症例にも見られたと述べている。今回の症例を加えた20症例の検討においても、全く所見を認めなかったのは2例にすぎず、残り18例には、Sandoら<sup>10)</sup>が指摘している主病変のうち1項目は認められた。

また発生学的には半規管は胎生6~8週にかけて形成される。はじめに前半規管が形成され、ついで後半規管・外側半規管が形成される。顔面神経については、体幹は胎生6週頃に完成し、内耳道部・水平部・垂直部は胎生8週頃に形成されるが、成人に見られる膝部の鋭角走行が完成するのは胎生18週頃である。これらの病理所見からSandoら<sup>10)</sup>は、13トリソミーにおいては6~10週の時期に何らかの内耳発達障害が起ることを推測している。自験例2例においても、胎生8週頃に正常の発育が障害されたものと考えられた。

表1 13trisomy症例のまとめ

症例	報告者	報告年	性別	年齢(在胎)	外 耳		中 耳			内 耳										異常所見数					
					耳 介	外 道	鼓 膜	ツチ骨・キヌタ骨	アブミ骨	顔面神経	蝸牛小管	蝸牛軸	コルチ器	蓋膜	ライスネル膜	血管条	球形囊	卵形囊	外側半規管		前半規管	後半規管	内リンパ管	前庭神経	
1	Mottetら	1965	F	1カ月	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	0	
2	Kosら	1966	F	25日	×	×	×	×	×	×	×	×	×	○	○	○	○	○	×	×	×	×	×	×	5
3	Kosら	1966	M	3カ月	×	×	×	×	×	×	○	○	○	×	×	○	○	○	×	×	×	×	×	×	6
4	Kelemenら	1968	M	7.5カ月	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	0	
5	Manigliaら	1970	M	6.5カ月	×	×	×	×	×	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	○	2
6	Blackら	1971	M	8日	×	×	×	×	○	○	○	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	○	○	7
7	Bergstromら	1972	F	4日	×	○	×	×	○	×	○	×	×	×	×	○	×	○	○	○	×	○	×	○	8
8	Sandoら	1972	M	45日	×	○	×	×	○	○	○	○	×	×	×	○	○	×	×	×	×	×	×	○	9
9	Lindsayら	1973	?	4カ月	×	×	×	×	×	×	○	○	×	○	○	×	○	○	×	×	×	×	×	×	7
10	Saitoら	1974	F	4日	○	○	○	×	○	○	×	×	×	×	○	×	○	×	×	×	×	×	×	×	8
11	Sandoら	1975	M	24日	×	×	×	×	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	○	×	○	×	×	3
12	Sandoら	1975	F	16日	×	×	×	×	○	○	○	×	×	×	×	○	×	×	○	○	○	×	×	×	8
13	Sandoら	1975	F	21日	×	×	×	×	○	○	○	×	×	×	×	×	○	×	○	×	×	×	×	×	5
14	Sandoら	1975	F	41日	×	×	×	×	○	○	○	×	×	×	×	×	○	○	×	×	×	×	×	×	5
15	斎藤ら	1977	F	3.5カ月	×	×	×	×	×	×	○	×	×	○	○	×	○	○	×	×	×	×	○	×	6
16	Tomodora	1983	F	(20週)	×	×	×	×	○	○	○	×	○	○	○	×	×	○	×	○	○	×	○	○	11
17	丸山ら	1990	F	8日	○	○	×	○	○	○	○	○	×	×	×	×	×	×	○	×	×	×	○	×	10
18	渡部ら	1993	F	(25週)	×	×	×	×	○	○	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	4
19	本症例1	1998	M	(35週)	○	×	×	○	○	○	○	○	×	×	×	×	○	×	○	×	×	×	×	×	10
20	本症例2	1998	F	(21週)	○	×	×	×	○	○	○	○	×	×	×	×	○	○	○	○	○	○	○	×	12
出現症例数					4	4	1	2	11	11	12	12	8	4	5	3	8	8	5	9	4	5	6	4	

今回の検討からも、13トリソミー症候群における側頭骨病理所見は多彩な像を示し、一定の共通した病態を示していない。内耳奇形についての病理組織学的分類にはOrmerodの分類<sup>16)</sup>やSchuknechtの分類<sup>17)</sup>があるが、13トリソミー症候群においては一定の病態を示しておらず、Schuknechtの分類における染色体異常による形成異常の一つとして分類されるのが理解しやすいものと思われた。また内耳奇形について特に蝸牛の形成不全は、軽度のものから高度のものまでMondini奇形として報告されているが、Jacklerら<sup>18)</sup>は画像上の所見から内耳奇形の細分類を行っている。今後、CTやMRIの画像の進歩に伴い、病理組織学的所見と関連した画像による分類が臨床上有益なものとなると思われる。

### まとめ

当科で経験した2例の13トリソミー症候群の側頭骨病理所見について報告した。2例ともMondini型の奇形を認めた。発生学的には2例とも胎生に8週頃に正常な発育が障害されたものと考えられた。併せてこれまでに国内外で報告された18例を加えた20例について考察した。

本論文の要旨は第99回日本耳鼻咽喉科学会総会（1998年5月、札幌）にて発表した。

### 参考文献

- 1) Patau K, Smith DW, Therman E, et al : Multiple congenital anomaly caused by an extra autosome. *Lancet* 1 : 790-793, 1960.
- 2) Mottet NK, Jensen H : The anomalous embryonic development associated with trisomy 13-15. *Am J Clin Pathol* 43 : 334-347, 1965.
- 3) Kelemen G, Hoofst C, Kluyskenes P : The inner ear in autosomal trisomy. *Pract Otorhinolaryngol* 30 : 251-258, 1968.
- 4) Kos AO, Schuknecht HF, Singer JD : Temporal bone studies in 13-15 and 18 trisomy syndromes. *Arch Otolaryngol.* 83 : 439-445, 1966.
- 5) Maniglia AJ, Wolff D, Herques AJ : Congenital deafness in 13-15 trisomy syndrome. *Arch Otolaryngol.* 92 : 181-188, 1970.
- 6) Black FO, Sando I, Wagner JA, Hemenway WG : Middle and inner ear abnormalities. 13-15 (D1) trisomy. *Arch Otolaryngol.* 93 : 615-619, 1971.
- 7) Bergstrom L, Hemenway WG, Sando I : Pathological changes in congenital deafness. *Laryngoscope* 82 : 1777-1792, 1972.
- 8) Sando I, Baker B, Black FO, et al : Persistence of stapedial artery in trisomy 13-15 syndrome. *Arch Otolaryngol* 96 : 441-447, 1972.
- 9) Lindsay JR : Profound childhood deafness. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 82 Suppl 5 : 7-121, 1973.
- 10) Sando I, Leiberman A, Bergstrom L, et al : Temporal bone histopathological findings in trisomy 13 syndrome. *Ann Otol Rhino Laryngol* 84 Suppl 21 : 3-20, 1975.
- 11) Saito H, Okano Y, Furuta M, et al : Temporal bone findings in trisomy D. *Arch Otolaryngol* 100 : 386-389, 1974.
- 12) 斎藤龍介、園部紀子、松村元良、小倉義郎、依田忠雄、他 : 13-15 (D) trisomy症候群における側頭骨病理所見. *耳喉* 49 : 953-960, 1977.
- 13) Tomoda K, Shea JJ, Shenefelt RE, et al : Temporal bone findings in trisomy 13 with cyclopia. *Arch Otolaryngol* 109 : 553-558, 1983.
- 14) 丸山敬史、加我君孝、児玉章、目黒英典 : 13trisomy症候群の側頭骨病理組織所見. *耳喉頭頸* 62 : 659-663, 1990.
- 15) 渡部浩伸、相川通、鈴木聡明、佐久間仁、堀弘樹 : 13トリソミー症候群の側頭骨病理組織所見. *耳鼻臨床 補冊* 83 : 40-44, 1995.
- 16) Ormerod FC : The pathology of congenital deafness. *J Laryngol Otol* 74 : 919-950, 1960.
- 17) Schuknecht HF : Developmental defects. *Pathology of the ear*, 2nd edition, Schuknecht HF (ed), pp115-189, Lea & Febiger, Pennsylvania, 1993.
- 18) Jackler RK, Luxford WM, House WF : Congenital malformations of the inner ear : A classification based on embryogenesis. *Laryngoscope* 97 (Supple 40) : 2-14, 1987.

論文受付 15年12月22日  
論文受理 16年3月4日

別刷請求先 : 〒960-1247 福島市光が丘1  
福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科学教室 松井 隆道

## 第18番染色体短腕欠損症候群症例の側頭骨病理

大谷 巖\*、馬場 陽子\*\*, \*\*\*\*、鈴木 聡明\*\*\*, \*\*\*\*、桑畑 直史\*\*\*\*、大森 孝一\*\*\*\*

\*福島労災病院

\*\*福島県心身障害児総合療育センター

\*\*\*公立藤田総合病院

\*\*\*\*福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科学教室

### Temporal bone histopathology in 18p- syndrome

Iwao Ohtani \*, Yohko Baba \*\*, \*\*\*\*, Chiaki Suzuki \*\*\*, \*\*\*\*,

Naofumi Kuwahata \*\*\*\*, Koichi Omori \*\*\*\*

\* Fukushima Rosai Hospital

\*\* Fukushima Rehabilitation Center for Disabled Children

\*\*\* Public Fujita General Hospital

\*\*\*\* Department of Otolaryngology, Fukushima Medical University

The 18p- syndrome which is caused by partial or total deletion of the short arm of chromosome 18 presents multiple clinical features ranging from severe malformations in compatible with life, to mild physical abnormalities.

There has been no report describing the temporal bone histopathology in the 18p- syndrome. This case is the first reported temporal bone histopathology in the 18p- syndrome.

The female stillborn infant delivered at 25 weeks' gestation was applicable to the severe form of this syndrome. The histopathologic findings demonstrated relatively mild malformation of the ossicles, facial nerve and cochlea. Because of mild aural anomalies in the severe form of 18p- syndrome, and because of few clinical reports involving deafness, the possibility of severe aural anomalies or profound deafness associated with 18p- syndrome seems to be slight, though this conclusion needs further investigation on cases of this syndrome.

**Key words** : 18p- syndrome, temporal bone, histopathology, malformation

### はじめに

第18番染色体短腕欠損症候群（18p-症候群）は、第18番染色体の短腕の一部ないし全てが欠損して生ずる症候群であり、染色体異常症の中ではよく知られた症候群の1つである。1963年にGrouchyらにより初めて記載されて以来150例以上が報告されているといわれている<sup>1)</sup>。18p-症候群には、生命予後の悪い全前脳症などの重篤なものから、生命予後が比較的良く、軽度の奇形や精神的身体的発達遅滞の見られるものまである<sup>2)</sup>。

18p-症候群の聴力に関しては、数症例の聴力検査施行例の報告<sup>1), 3), 4)</sup>があるにすぎず、側頭骨病理に関しては未だその報告はない。本報告は18p-症候群の側頭骨

病理組織学的所見を観察した最初の症例であり、主に中耳および内耳に形態異常がみられたので報告する。

### 症 例

症 例：在胎25週の女児

家族歴：特記すべきことなし

現病歴：母35歳（1妊1産）の第2子。在胎24週時に超音波診断検査で身体発育遅滞、単眼症、胎児水腫を認め、分娩誘発されたが死産であった。

剖検所見：外表所見では、単眼症、象鼻、耳介低位が認められた。主な解剖所見として、全前脳症、単脳室、嗅神経・視神経・動眼神経・滑車神経欠如、心室中隔欠

損、肺動脈弁閉鎖、などが認められた。染色体分析で第18番染色体短腕欠損症候群—46, XX, 18p- (66.7%), 46, XX, -18, +i (18q) (33.3%) —と診断された(図1)。両側頭骨は娩出後4.5時間後に採取され、Heidenhain-Susa液にて48時間固定後、型の如くCelloidinを包埋し、25 $\mu$ の水平断連続切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して検鏡した。右耳については、耳小骨と顔面神経を、ラトック社製の三次元構築システムを用いて3次元構築した。また蝸牛の長さは、graphic cochlear reconstruction法<sup>5)</sup>により計測した。

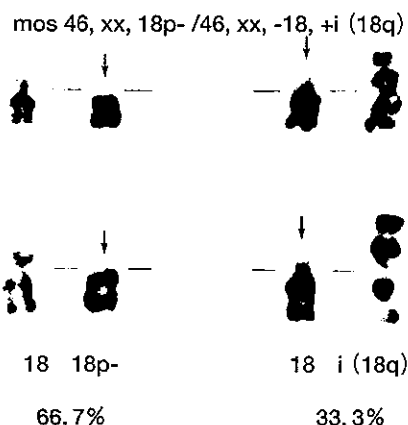


図1 染色体

第18番染色体短腕が欠損している(矢印)。46, XX, 18p- (66.7%), 46, XX, -18, +i (18q) (33.3%)

### 側頭骨病理所見

右耳：鼓室および乳突洞には間葉組織が残存していた。耳小骨は、化骨が完了しておらず、ツチ骨は前突起が長く(図2)、アブミ骨は後脚が太く底板が小さい(図3)などの形態異常を認めた。

顔面神経は細く、膝神経節細胞は減少しており、形成不全を認めた。また顔面神経膝部の角度は鈍角であり、水平部から垂直部で顔面神経管が完全に欠損し、神経は間葉組織の中を走行していた(図3)。

内耳では、蝸牛は2回転で(図2)、その長さは17.29mmであった。コルチ器、血管条、ラセン神経節細胞には異常はみられず(図4)、球形嚢、卵形嚢も正常であった。耳小骨および顔面神経のコンピュータ3次元構築像を図5に示した。

左耳：右耳とほぼ同様の形態を示しており、耳小骨、顔面神経、蝸牛(長さ14.53mm)に、右耳とほぼ同様の異常がみられた。



図2 右耳

上鼓室は間葉組織で充満しており、ツチ骨(M)前突起が長い(矢印)。蝸牛は2回転で短蝸牛を示している。卵形嚢斑(U)には異常を認めない。枠に囲まれた部位を図4に示す。



図3 右耳

アブミ骨後脚は太く、底板は狭い。顔面神経(FN)は細く、神経管壁は完全に欠損している。

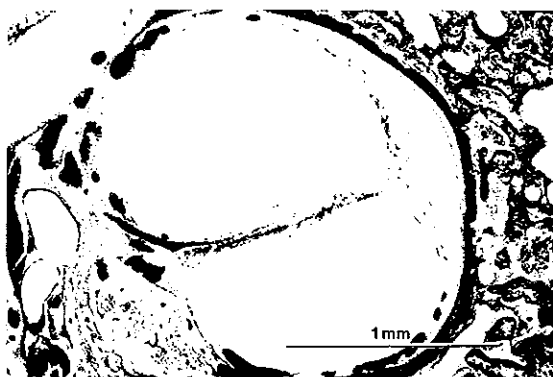


図4 右耳基底回転

内・外リンパ腔には析出物を認めるが、コルチ器、血管条、ライスネル膜、ラセン神経節細胞には異常を認めない。

### 考察

18p-症候群には、全前脳症を合併した重篤のものから比較的生存予後の良い軽症のものまでみられるが<sup>2)</sup>、18p-症候群の聴力に関しては、これまで数例にその記載があるにすぎない。このうち、難聴の認められた症例