

に検討する価値があると考えている。

### 結論

突発性難聴の治療においてテプレノンの有効性は示されなかった。エダラボンの有効性については引き続き検討が必要である。

### 健康危険情報

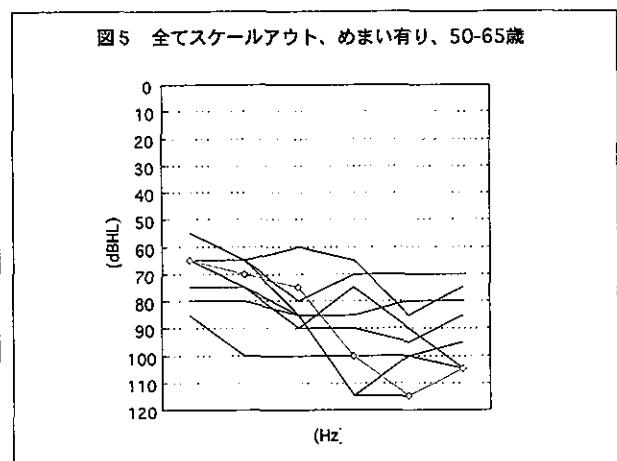
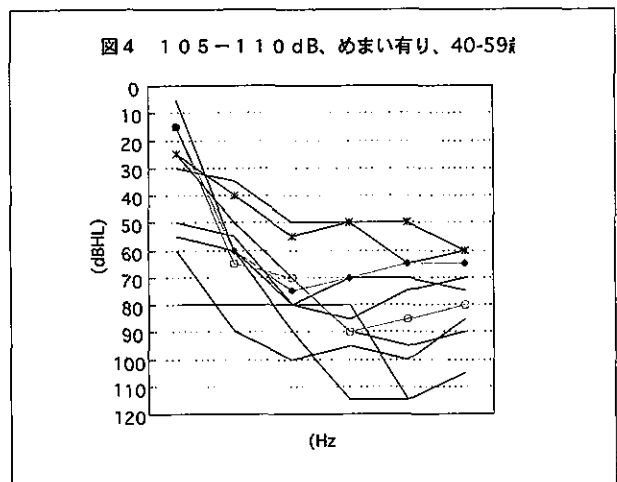
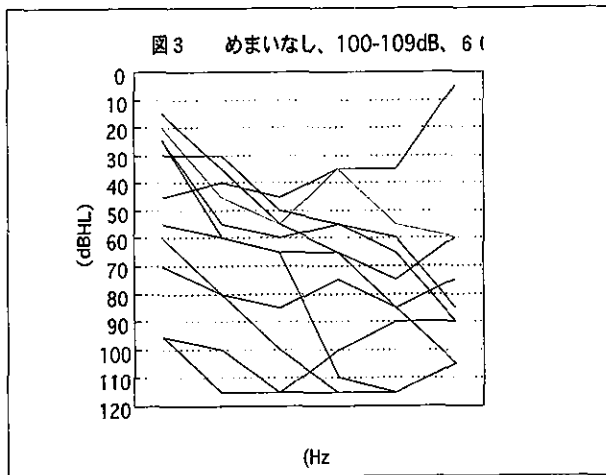
なし

### 研究発表

- 1. 論文発表   なし
- 2. 学会発表   なし

### 知的財産権の出願・登録状況

- 1. 特許取得   なし
- 2. 実用新案登録   なし
- 3. その他       なし



## Slow type 突発性難聴の臨床的検討

分担研究者 岡本牧人（北里大学耳鼻咽喉科）

共同研究者 橋本大門，佐野 肇，上條貴裕（北里大学耳鼻咽喉科），小野雄一（津久井日赤病院耳鼻咽喉科），新田光邦（大和市立病院耳鼻咽喉科）

### 研究要旨

発症後も聴力低下が進行する突発性難聴があり，これは Slow type 突発性難聴と呼ばれる。しかし，発症後も聴力低下が進行する疾患にはメニエール病や外リンパ瘻があり，いずれも発症早期の場合には Slow type 突発性難聴との鑑別に難渋することがある。今回の検討では Slow type 突発性難聴 34 例とメニエール病 38 例，外リンパ瘻 15 例を臨床的に比較した。その結果，いくつかの鑑別点を得ることができた。

### 目的

slow type 突発性難聴（以下，slow type）とメニエール病や外リンパ瘻との臨床像の違いから，発症早期における鑑別点を見いだすことを目的として検討を行った。

### 対象・方法

1993 年 6 月から 2004 年 6 月までに当院耳鼻咽喉科を受診し，難聴外来に登録された 4000 人の中から下記の条件を満たした症例を対象とした。

slow type は突発性難聴と診断された症例の中から下記の (1) から (5) の条件を満たした症例とした。突発性難聴の診断は厚生省研究班の定めた診断基準に従った。メニエール病，外リンパ瘻と診断された症例の中から下記の (1) から (3) の条件を満たした症例を slow type の比較対象とした。メニエール病と外リンパ瘻の診断は厚生省研究班の定めた診断

基準に従った。また，いわゆる蝸牛型メニエール病に相当する症例をメニエール病疑い例とした。

(1) 急激に発症し難聴の発症日が明らかな一側の感音性難聴で，当科の初診時が初回発症である症例。

(2) 健側に年齢不相応な難聴を認めない症例。

(3) 初診時から 1 か月以上，聴力の経過を観察することができた症例。

(4) 難聴の発症後，第 1～3 病日に当科を初診した症例。当科を初診する以前の他院での治療の有無は問わない。

(5) 初診時の純音聴力検査と比べ，第 20 病日までに 250Hz，500Hz，1kHz，2kHz，4kHz の 5 周波数平均聴力（以下，平均聴力）が 10dB 以上悪化した症例。

今回の検討では聴力検査の時期を初診時（最初に聴力検査を行った時），最悪時（初診時から最終時までの聴力の中で，最も聴力が悪かった時），最終時（最後に聴力検査を行

った時)と分類した。また、最終時とそれ以前の純音聴力検査結果を比較し変化がなかった時に聴力が固定したと判断した。

## 結果

当院耳鼻咽喉科を受診し、難聴外来に登録された症例の中で条件の(1)～(3)を満たした急性一側性感音難聴は 683 例であった。この中で突発性難聴は 552 例であった。メニエール病は 38 例(疑い 24 例含む)、外リンパ瘻は 15 例(疑い 11 例含む)であった。突発性難聴の中で条件(4)と(5)を満たした slow type は 34 例であった。

## 結論

slow type 突発性難聴の臨床的な特徴は、発症の早期には谷型や高音急墜型の聴力型をとることが多く、難聴が進行すると一時的に水平型になる。そして難聴が改善すると最初の聴力型に一致するという傾向である。

メニエール病や外リンパ瘻との鑑別点として以下の 2 つを述べた。

1. 難聴が発症してから 10 日以内に難聴の進行が停止する。

2. 難聴は発症から 1 か月以内である程度回復し固定する傾向にある。

## 健康危険情報

なし

## 研究発表

### 1. 論文発表

橋本大門, 佐野 肇, 上條貴裕, 小野雄一, 新田光邦, 岡本牧人: Slow type 突発性難聴の臨床的検討。Audiology Japan48, 2005 (印刷中)

### 2. 学会発表

橋本大門, 佐野 肇, 上條貴裕, 小野雄一, 新田光邦, 岡本牧人: 突発性難聴 (slow type) の臨床的検討。第 49 回日本聴覚医学会, 2004 年 10 月 (福岡県)

## 突発性難聴の長期観察に関する研究

分担研究者 岡本牧人（北里大学耳鼻咽喉科）

共同研究者 上條 貴裕（北里大学医学部耳鼻咽喉科）

### 研究要旨

急性高度難聴に関する調査研究の一つのテーマである突発性難聴の聴力の変動を長期経過観察症例から探った。長期に観察していくと2割弱の症例で聴力の低下が認められた。

#### 研究目的

突発性難聴は発症からほぼ1～2カ月で聴力は固定し、聴力の変動は繰り返さないとされている。突発性難聴の長期経過観察によりそれを確かめる。

#### 研究方法

##### 対象

1972年から1999年までに北里大学病院耳鼻咽喉科を受診し突発性難聴と診断された患者のうち5年以上にわたり聴力の経過を追うことのできたものを対象とした。ただし発症から6カ月以内に変動をきたし、突発性難聴以外の診断に至ったものは除外した。

##### 方法

##### 1. 聴力レベルの変動の有無

250Hzから4kHzまで5周波数の平均で12dB以上の変化を変動とした。

##### 2. 聴力レベル変動群と非変動群の比較

男女比、発症年齢、平衡障害の有無、発症時の重症度、固定時の治療効果の判定、観察期間などの項目につき比較を行った。

##### 倫理面への配慮

今回の研究では個人を特定できるような情報

は出さないように配慮した。

#### 研究結果

・ 長期観察により突発性難聴から他の診断に変わったものは全169例中、15例(8.9%)あり、内訳はメニエール病6例、特発性両側性感音難聴9例であった。

・ 突発性難聴の聴力の変動例は153例中、28例(18.3%)あり、すべてが悪化で改善するものはなかった。

・ 健側より患側の方が有意に悪化するものが多かった。

・ 聴力変動群と非変動群の間で男女比、発症年齢、平衡障害の有無、発症時の重症度、治療効果の判定などの項目において有意差は認められなかった。観察期間において変動群の方が有意に経過年数の多い症例の割合が多かった。

#### 考察

変動の割合としては今までの他の報告と変わることはなかった。ただしその変動のおこる割合は患側の方が有意差をもって高かった。

これは今までの報告とは違う点である。変動

例群には観察期間の長い症例が多く認められ、突発性難聴も長期間みると悪化していくものもあるので長期観察が必要であると思われた。

#### 結論

突発性難聴でも悪化してくものがある。

#### 健康危険情報

なし

#### 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

第14回日本耳科学会総会

#### 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

## 突発性難聴と QOL

分担研究者：小川 郁（慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科）

研究協力者：佐藤美奈子、齋藤秀行、弓削 勇、岡本康秀、栗田昭宏（慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科）

### 研究要旨

突発性難聴（以下、SD）では聴力固定後、何らかの自覚症状が残り、通院治療が必要、または希望する症例も少なくない。聴力固定後の SD 症例に対して施行したアンケート調査と HHIA（Hearing Handicap Inventory for Adults）日本語版（以下、HHIA）の結果に基づき、SD 症例の QOL について調査し、SD の重症度分類との関係について検討した。その結果、固定時の grade が高いほど難聴・耳鳴の自覚を有する症例の割合が多かったが、固定時重症度 grade 2 および 3 では、HHIA スコアに差を認めなかった。SD 症例の QOL の評価は固定時聴力のみならず、自覚症状やその苦痛度、HHIA などによる心理的評価も必要であると考えられた。

### 研究目的

突発性難聴（以下、SD）では聴力固定後、難聴や耳鳴、耳閉塞感など何らかの自覚症状が残り、通院治療が必要、または治療を希望する症例も少なくない。本研究では、SD 症例の聴力固定後の QOL を検討する目的で、SD 症例に対して施行したアンケート調査と HHIA（Hearing Handicap Inventory for Adults）日本語版（以下、HHIA）の結果から判定した SD 症例の QOL と SD の重症度分類との関係について検討した。

### 研究方法

対象症例は発症後半年以上経過した陳旧性 SD 症例 83 例（発症後 2 年未満：20 例、2～10 年以下：58 例、10 年以上：5 例）であり、対象症例に対して、現在の自覚症状に関するアンケート調査と HHIA をおこなっ

た。これらの結果と本研究班作成の SD の重症度分類との関係を検討した。なお、HHIA は、様々な状況において聞こえなくて困るか、いらいらするかといった感情面の質問 13 問と、人間関係、公共の場において難聴が影響しているかといった社会面の質問 12 問で構成される質問紙で、各種聴覚検査では評価できない難聴患者の心理的評価が可能であると考えられている。

### 研究結果

アンケートを施行した 83 例の聴力固定後の自覚症状は、難聴 39 例（47.0%）、耳鳴 41 例（49.4%）、耳閉塞感 22 例（26.5%）、めまい 8 例（9.9%）であった。SD の重症度分類と自覚症状の関係は、固定時の grade が高いほど難聴または耳鳴の自覚を有する症例の割合が増加した。しかし、

耳閉塞感、めまいに関しては、固定時聴力の重症度との間に統計学的有意差を認めなかった。

陳旧性 SD における HHIA の平均スコアは 18.7 であり、既に調査した両側性難聴の平均スコア 44.8 の半分以下であった<sup>1)</sup>。罹患期間については、両側性難聴では罹患後 2～10 年が最も高かったのに対し、SD では逆に、2～10 年では低く、10 年を越えるものが最も高かった。

固定時聴力重症度では grade 4 の症例は少なかったが、grade 2 および 3 の症例のスコアに差はなかった (図 1)。一方、重症度分類で治療開始が 2 週以降の症例は HHIA の点数が高い傾向が認められ、治療開始の遅れは聴力予後が不良な上、後悔の念など心理的要因も加わり、陳旧性 SD 症例の QOL を低下させると考えられた。

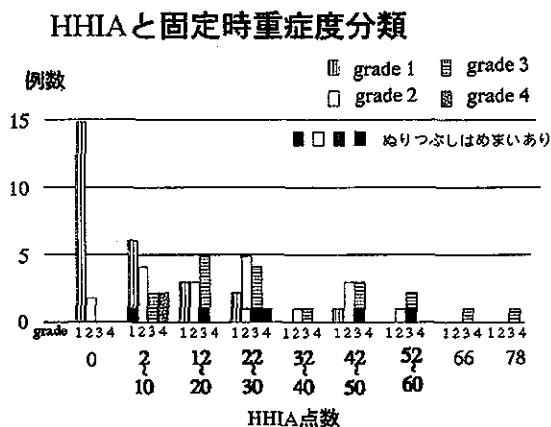


図 1. HHIA と固定時聴力重症度分類との関係

### 考察

SD における予後不良な症例では長期的にも難聴や耳鳴を訴えて医療機関を受診することが少なくないと考えられる。しかし、これ

らの症例における HHIA スコアは予想した程は高くなく、当然のことながら両側性難聴と比べて QOL は高いといえる。しかし、SD 罹患後 10 年を経過しても受診を継続している症例も少なくなく、このような症例は耳鳴などの症状で悩んでいるなど、何らかの心理的要因が関与している可能性も考えられる。それ以外の症例では、一般的には罹患後の時間経過とともに、HHIA の点数は低下していくのではないかと推察された。

固定時聴力重症度と HHIA との関係では当然ながら grade 1 では HHIA スコアは低く、grade 2、3 と難聴が高度になるのに従い、HHIA スコアも増加したが、grade 2 と 3 の症例のスコアに有意差がなかったことから、HHIA の結果は必ずしも固定時聴力のみの影響を受けるわけではないと考えられた。

### 結語

聴力固定後の SD 症例の QOL をアンケート調査と HHIA 結果に基づき評価し、SD の重症度分類との関係を検討した。

固定時の grade が高いほど難聴、耳鳴の自覚を有する症例の割合が多かったが、固定時聴力の重症度 grade 2 および 3 では、HHIA の点数に差を認めなかった。SD 症例の QOL の評価には固定時聴力のみならず、自覚症状やその苦痛度、HHIA などによる心理的評価も考慮する必要があると考えられた。

### 参考文献

- 1) 佐藤美奈子、小川 郁、井上泰宏、増田正次：HHIA (Hearing Handicap Inventory for

Adults) 日本語版を用いた聴覚障害の評価法  
に関する検討. 日耳鼻 107: 489-493, 2004.

2. 学会発表: 第105回日本耳鼻咽喉科学  
会

**健康危険情報:** なし

**知的財産権の出願・登録状況**

**研究発表**

1. 論文発表: 投稿予定

1. 特許取得: なし

2. 実用新案登録: なし

3. その他: なし



## ケースクロスオーバーデザインを取り入れた突発性難聴症例対照研究：最終報告

分担研究者 岩崎 聡 (浜松医科大学耳鼻咽喉科)  
共同研究者 中村美詠子、施 海龍、青木伸雄 (浜松医科大学衛生学)  
名倉三津佳 (浜松医科大学耳鼻咽喉科)  
浜松医科大学突発性難聴症例対照研究グループ\*

### 研究要旨

突発性難聴と生活習慣、循環器疾患リスクファクターの関連を検討するために、性、年齢（±5歳以内）を1：1でマッチした症例対照研究を実施した。最終的に、症例・対照47ペアが収集され、糖尿病がBMIとは独立した突発性難聴のリスクファクターであることが明らかにされた（OR=10.00、95% CI=1.28-78.11、BMI調整9.03、1.08-75.86）。

### 研究目的

突発性難聴と生活習慣、循環器疾患リスクファクターとの関連を症例対照研究により疫学的に検討する。

### 研究方法

平成15年度の報告書に記載したとおりであり、詳細は省略するが、症例は、突発性難聴（厚生省研究班診断基準：1973年の確実例）を新規発症したもの、対照は急性感染症状のない耳鼻科手術患者で、症例と性、年齢（±5歳以内）を1：1でマッチした者である。

オッズ比は1：1マッチの研究に用いられる、条件付ロジスティック回帰分析により求めた（SAS ver8.2）。

（倫理面への配慮）

平成14年度の報告書に記載したとおりである。

### 研究結果

平成14年1月より収集を開始し、平成16年3月までに、突発性難聴患者（症例）47人、耳鼻科手術患者（対照）47人の計47ペアが有効回答として報告された。47ペアの性別内訳は男性24ペア、女性23ペアであり、平均年齢は症例53.1±16.0歳（23-76歳）、対照53.2±16.8歳（19-80歳）であった。ケースとコントロールの特性を表1に示した。ケースのBMIは22.9±3.6、コントロールは21.5±3.6で、BMIはややケースで高い傾向が見られた（t検定、p=0.07）。また、血糖はケースで126±44mg/dl、コントロールは107±20mg/dlであり、ケースで有意に高かった（p=0.02）。

BMI、病歴のオッズ比を表2に示した。BMI18.5以上25未満を基準としたときのBMI25以上のオッズ比は、2.49（95%CI.77-8.03）、BMI

を連続変数としたときのオッズ比は 1.12 (0.98-1.27) であり、肥満は突発性難聴のリスクを高める傾向を示した。また病歴との関連では、糖尿病のオッズ比は 10.00 (1.28-78.11) と有意に高く、BMI を調整しても同様の傾向を示した (9.03、1.08-75.86)。狭心症はコントロールにおいて病歴を有する者がいなかったが、ケースでは 47 人中 4 人に病歴があった。

発症から 1 週間前、2 週間～1 か月前、2 か月～1 年前の各期間の生活習慣 (喫煙、飲酒、睡眠時間) のオッズ比を表 3 に示した。発症から 1 週間前の飲酒のオッズ比は有意に高かったが、これはケースにおける飲酒習慣の変化のためでなく、コントロールにおける飲酒者の減少によるものであった。

#### 考察

本研究では、糖尿病と突発性難聴の間に有意な、強い関連が観察された。この関連は BMI とは独立していた。また、採血時の条件はケースとコントロールで同一とは言えないものの、血液検査所見 (血糖値) の結果もこの関連を支持するものであった。また、狭心症と突発性難聴の関連も注目された。

一方、突発性難聴の発症に直前の生活習慣の変化が影響するという仮説は、本研究では支持されなかった。

#### 結論

糖尿病は、BMI とは独立した突発性難聴のリスクファクターであった。BMI も突発性難聴の発症リスクを高める傾向を示した。今後、

糖尿病、肥満、及び関連する微小血管動態、血液凝固・線溶系や血液レオロジー変化等と突発性難聴との関連について、さらに検討される必要があるだろう。

#### 健康危険情報

なし

#### 研究発表

1. Shi H, Nakamura M, Iwasaki S, Aoki N on behalf of the Shizuoka Sudden Deafness Research Group. Risk factors for Idiopathic Sudden Deafness: A case-control study in Shizuoka, Japan (論文準備中)

2. 学会発表  
なし

#### 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし  
2. 実用新案登録  
なし  
3. その他  
なし

浜松医科大学突発性難聴症例対照研究グループ\*

岡村純、伊東由幾、林泰広、姜洪仁、種田泉、川名弓美、林原能子、関敦郎、浜田登、森田祥、新村久美子、水田邦弘、釣田美奈子、中崎浩一、熊切健一、野口健治、宝積健、袴田桂、瀧澤義徳、山元理恵子、土屋智、久保田賢三、渡辺高弘、植田洋、細川誠二、黄永信

理、小田切恵三郎、伊藤光成、林理佐子、大 和谷崇（順不同）

表 1. ケースとコントロールの特性

	ヘア数	症例		対照		p 値	
		平均値	標準偏差	平均値	標準偏差		
年齢		47	53.1	16.0	53.2	16.8	1.00
BMI	kg/m <sup>2</sup>	43	22.9	3.6	21.5	3.5	0.07
総蛋白	g/dL	31	7.1	0.5	7.2	0.4	0.30
総コレステロール	mg/dL	15	214	38	200	43	0.35
中性脂肪	mg/dL	5	87	28	114	89	0.53
血糖	mg/dL	34	126	44	107	20	0.02
CRP	mg/dL	10	0.3	0.4	0.2	0.3	0.56
赤血球数	x10 <sup>4</sup> /μL	41	440	50	452	50	0.29
ヘモグロビン	g/dL	38	13.6	1.7	13.7	1.6	0.63
ヘマトクリット	%	39	40.9	4.6	41.4	4.5	0.64
白血球数	/μL	41	6988	2850	6154	2145	0.14
血小板	x10 <sup>4</sup> /μL	40	22.9	6.8	24.0	7.0	0.46
PT	sec	8	20.8	38.5	18.3	32.2	0.89
APTT	sec	8	19.0	14.7	20.5	14.9	0.84
フィブリノーゲン	mg/dL	11	325	129	294	73	0.50

表 2. BMI、病歴のオッズ比

	症例 n	対照 n	オッズ比	95% CI	BMI 調整 オッズ比	95% CI
BMI <18.5	12	6	0.98	0.32-2.98		
BMI ≥ 18.5 and < 25	28	31	1.00			
BMI ≥ 25	6	7	2.49	0.77-8.03		
(連続変数として)			1.12	0.98-1.27		
高血圧	17	10	2.75	0.88-8.64	2.01	0.60-6.75
高脂血症	5	5	1.00	0.29-3.45	1.01	0.24-4.25
糖尿病	11	2	10.00	1.28-78.11	9.03	1.08-75.86
狭心症	4	0	-		-	

表 3. 発症前の期間別にみた喫煙、飲酒、睡眠時間のオッズ比

	1 週間前				2 週間～1 か月前				2 か月～1 年前				
	症例 n	対照 n	オッズ比	95% CI	症例 n	対照 n	オッズ比	95% CI	症例 n	対照 n	オッズ比	95% CI	
喫煙	なし	35	34	1.00	-	35	34	1.00	-	35	34	1.00	-
	あり	12	9	1.14	0.41-3.15	12	12	0.89	0.34-2.30	12	12	0.89	0.34-2.30
飲酒	なし	30	39	1.00	-	31	35	1.00	-	31	30	1.00	-
	あり	17	8	4.00	1.13-14.17	16	12	2.00	0.60-6.64	16	17	0.86	0.29-2.55
睡眠時間	< 7	24	18	1.47	0.55-3.94	23	18	1.29	0.51-3.27	23	16	1.74	0.65-4.70
	≥ 7 and < 8	16	14	1.00	-	17	15	1.00	-	13	15	1.00	-
	≥ 8	7	14	0.49	0.16-1.47	6	13	0.33	0.09-1.25	10	14	0.84	0.26-2.74

## 内耳低体温誘導装置の開発

分担研究者 暁清文 (愛媛大耳鼻咽喉科)

共同研究者 白馬伸洋・盛実 勲・藤田健介 (愛媛大学耳鼻咽喉科)

### 研究要旨

突発性難聴に対する内耳低体温療法の有用性を検討するために、内耳低体温誘導装置の開発を行った。内耳低体温誘導装置には、ペルチェ効果現象を応用した装置の試作品を作製した。またその装置をモルモットの耳後部に装着し 60 分間の冷却を行い、蝸牛温の経時的変化を測定した結果、冷却開始 10 分後より冷却プローベは  $17.4 \pm 2.5^{\circ}\text{C}$  の安定した温度でモルモット耳後部を冷却し得た。さらに蝸牛内に温度センサーを挿入することによって蝸牛温の経時的変化を測定した結果、60 分間の冷却により蝸牛温は  $3.25^{\circ}\text{C}$  低下することが確認された。以上の結果から、ペルチェ効果現象を応用した内耳低体温誘導装置は、内耳障害を軽減する内耳低体温を誘導することが可能であると結論した。

### 研究目的

突発性難聴に対する内耳低体温誘導装置の開発を目的に、異種金属間に電流を流すと吸熱・発熱が発生するペルチェ効果現象を応用した内耳低体温誘導装置の試作品を作製した。実際にモルモット耳後部にこの装置を固定し、60 分間の冷却を行った間の蝸牛温、鼓膜温、直腸温、冷却プローベ温の経時的変化を測定することによって、ペルチェ式内耳低体温誘導装置による蝸牛冷却効果についての確認を行うことを目的とした。

### 研究方法

(ペルチェ式内耳低体温誘導装置の開発)

異種金属間に電流を流すと吸熱・発熱が発生するペルチェ効果現象を応用するペルチェ式内耳低体温誘導装置の試作を行った。この装置は設定した電流量によって、安定した冷却効

果を与えることが可能となった。

(内耳低体温誘導装置による蝸牛温の低下効果)

モルモット耳後部にこの装置のプローベ部分を固定し、60 分間の冷却と、冷却終了後 60 分間の温度測定を行った。温度測定の部位としては、蝸牛内、鼓膜直前、直腸内、冷却プローベ表面に温度センサーを留置することにより、それぞれ温度の経時的変化を測定し、内耳温低下効果の検討を行った。蝸牛内への温度センサーの挿入法であるが、耳胞開放して正円窓から挿入し歯科用セメントで固定後、耳胞の閉鎖と皮膚縫合を行った。

### 倫理面への配慮

実験は十分な麻酔下に行い、断頭時も多量の麻酔薬を投与し苦痛を与えずに行った。

## 研究結果

(ペルチェ式内耳低体温誘導装置の開発)

内耳低体温誘導装置の調節電流を 3A に設定することにより、冷却開始 10 分後より冷却プローベは  $17.4 \pm 2.5^\circ\text{C}$  の安定した温度でモルモット耳後部の冷却を行えた。

(内耳低体温誘導装置による蝸牛温の低下効果)

60 分間の冷却と、冷却終了後 60 分間の温度測定を行った。温度測定の部位としては、蝸牛内、鼓膜直前、直腸内にプローベの留置を行った。結果、冷却前と比較し 60 分間の冷却により、蝸牛温は平均  $36.5^\circ\text{C}$  から  $33.2^\circ\text{C}$ 、鼓膜温は  $36.5^\circ\text{C}$  から  $34.8^\circ\text{C}$ 、直腸温は  $36.6^\circ\text{C}$  から  $35.5^\circ\text{C}$  へ低下を認めた。(図 1)

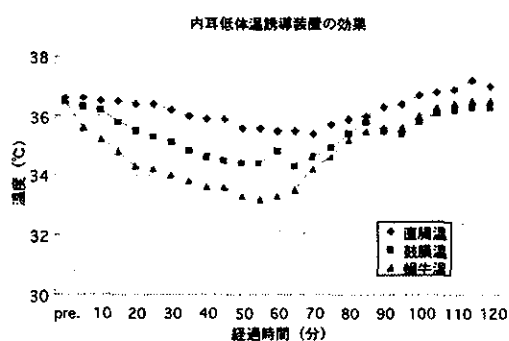


図 1、内耳低体温誘導装置の効果

以上の結果から、内耳低体温誘導装置をモルモット耳後部に固定し 60 分間の冷却を行うことで、直腸温には影響することなく十分に蝸牛を冷却し、内耳障害を軽減するのに必要とされる低体温の効果を誘導することが可能であると結論した。

## 考察

脳科学分野ではすでに脳梗塞の防御法とし

て、脳虚血障害後に脳温を下げることにより、エネルギー代謝や酸素消費量を減少させ、有害な活性酸素の発生を抑制することによって脳組織障害が軽減することが確認されている。我々は神経細胞障害に対する低体温療法の保護効果に着目し、これまでの基礎研究において低体温が内耳においてもアポトーシス防御効果を示すことを実証している。低体温は障害時に発生する活性酸素や NOS など DNA 障害物質の合成を阻害し、二次的に拡大する組織障害範囲を縮小する効果がある<sup>(1)~(3)</sup>。今回我々は突発性難聴の新しい治療法を開発する目的で、内耳低体温誘導装置の開発を行った。

内耳低体温誘導装置の原理として今回は異種金属間に電流を流すと吸熱・発熱が発生するペルチェ効果を応用する方法を提案したが、この方式ではフロンを使用することなく安定した温度での冷却が可能である。また専用のプローベを用いることによって患側耳のみの冷却が簡便にでき、日常生活を送りながら効率的に内耳冷却することからそのメリットは大きいと思われる。さらに電流調節により一定の冷却効果が得られることから、過剰に冷却を行うことなく安全性も高いと考えられる。

冷却による実際の蝸牛温の変化については、蝸牛温の基礎データが必要であるが動物用のプローベを耳後部に密着させることにより、60 分間の冷却にて蝸牛温は  $3.3^\circ\text{C}$  低下することが確認された。通常、脳内における低体温治療として  $2\sim 5^\circ\text{C}$  下げれば十分な神経細胞抑制効果があることが報告されている<sup>(1)~(3)</sup>。ことより、今回の装置により内耳においても

細胞障害抑制効果があることが推察される。

今後は、ヒト用のプローブを用いて、実際ヒトにおいてはどれほど低温を誘導可能であるかを、鼓膜温の測定を進めながら確認していく予定である。

## 結論

ペルチェ方式を用いて温度調節が可能な内耳低温誘導装置の開発を行った。冷却装置によるモルモット側頭部の冷却により、平均3.3℃の蝸牛温低下が認められた。冷却装置の停止により、60分以内に蝸牛温は負荷前値となった。今回の研究により、ペルチェ式内耳低温誘導装置の有用性が示唆された。

## 参考文献

- 1) Si Q, Nakamura Y, Kataoka K. : Hypothermic suppression of microglial activation in culture: inhibition of cell proliferation and production of nitric oxide and superoxide. Neuroscience. 1997 Nov;81(1):223-9
- 2) Zhu C, Wang X, Cheng X, Qiu L, Xu F, Simbruner G, Blomgren K. : Post-ischemic hypothermia-induced tissue protection and diminished apoptosis after neonatal cerebral hypoxia \_ ischemia. Brain Res. 2004 Jan 16;996(1):67-75.
- 3) Deng H, Han HS, Cheng D, Sun GH, Yenari MA.: Mild hypothermia inhibits inflammation after experimental stroke and

brain inflammation. Stroke. 2003 Oct;34(10):2495-501. Epub 2003 Sep 11

## 研究発表

〈論文発表〉

1. Isao Morizane, Nobuhiro Hakuba , Yoshitaka Shimizu, Yusuke Shinomori, Kensuke Fujita, \*Tadashi Yoshida, Masachika Shudou, Kiyofumi Gyo:Transient cochlear ischemia and its effects on the stria vascularis. Neuroreport. 2005. (*in press*)
2. Yoshitaka Shimizu, Nobuhiro Hakuba, Jun Hyodo, Masafumi Taniguchi, Kiyofumi Gyo:Kanamycin ototoxicity in glutamate transporter knockout mice. Neuroscience letter. 2005. (*in press*)

〈学会発表〉

未発表

## 知的所有権の取得状況

〈特許取得〉

なし

〈実用新案登録〉

なし

〈その他〉

なし

# 一過性内耳虚血が血管条に及ぼす影響

分担研究者 暁 清文 (愛媛大学医学部耳鼻咽喉科学教室)

共同研究者 盛実 勲・白馬伸洋・藤田健介 (愛媛大学医学部耳鼻咽喉科学教室)

## 研究要旨

一過性内耳虚血の血管条に及ぼす影響について実験動物モデルを用いて検討した。スナネズミに一過性内耳虚血を惹起し、その後、血管条の機能を反映するとされる EP (endocochlear resting potential: 内リンパ直流電位) を測定したところ、虚血後 1、4 日目では低下したが、7 日目には正常電位に戻った。免疫組織学的検討では、Na-K ATPase は血管条において、Connexin26 はラセン靭帯において虚血後 1、4 日目に染色が低下したが、7 日後には回復した。透過型電子顕微鏡による血管条の観察では虚血後 1 日目に細胞間隙の拡大、辺縁細胞の空胞変性を認めたが、7 日目には回復した。以上の結果より一過性虚血による血管条障害は可逆的であり、その障害の機序には蝸牛外側壁の K recycling system が関与していると結論した。

## 研究目的

血管条は内リンパの高カリウム濃度維持と EP 産生にかかわる重要な組織<sup>1)</sup> であり、その産生には蝸牛外側壁の K recycling system が重要な役割を果たしていると考えられている。これまで虚血が血管条に及ぼす急性期の影響についてはいくつかの研究<sup>2)</sup> がなされてきたが、長期的な影響については長期生存が可能な実験モデルの作成が困難なことからほとんど検討がなされていなかった。そこで我々はこれまで報告してきた、長期生存が可能な一過性内耳虚血モデル<sup>3,4)</sup> を用い、内耳虚血が血管条に及ぼす長期の影響について検討を行った。

## 研究方法

ハロセン吸入麻酔下に仰臥位にて頸部横切開を施行して両側の椎骨動脈を露出し、血流

を 15 分間遮断、再開通することにより一過性内耳虚血を負荷した。虚血負荷後 1 日目、4 日目、7 日目に電気生理学的検討及び組織学的検討を行った。

### 1) 電気生理学的検討

#### EP の測定

コントロール群 (n=22)、虚血後 1 日目 (n=10)、4 日目 (n=10)、7 日目 (n=10) の 4 群に分類して EP の測定を行った。耳後切開を行って中耳骨胞を開放した後、顕微鏡下に蝸牛基底回転側壁に小孔を作成した。この小孔より 150mM の塩化カリウム溶液を充填したガラス毛細管電極を中央階に向けて刺入し、EP の電位を測定した。

### 2) 組織学的検討

#### 免疫染色

4%パラホルムアルデヒドにて経心灌流固定を行い、10%EDTA で 2 週間脱灰後、パラ

フィンに包埋した。これを厚さ 7 $\mu$ m に切断して標本を作成し、以下の染色を行い顕微鏡下に観察した。1次抗体には、Na-K ATPase (内リンパの恒常性を保つため、カリウムイオンの能動輸送に重要な役割を担うイオン輸送体)、Connexin26 (血管条やラセン靱帯における gap junction を構成する膜蛋白) を用い、それぞれビオチン増感 ABC 法<sup>5)</sup> による免疫染色を行った。

#### 透過型電子顕微鏡

致死量の塩酸ケタミンを腹腔内投与し動物を屠殺後、蝸牛を摘出し、前庭窓、蝸牛窓を開窓し蝸牛頂回転に設けた小孔より速やかに 2.5% グルタルアルデヒドにて局所灌流固定を行った。同固定液にて 4°C 24 時間浸漬固定後、実体顕微鏡下に蝸牛骨壁をはずし、2% オスミウム酸にて後固定を行った。上昇エタノール系列にて脱水、エポン包埋し、酢酸ウランとクエン酸鉛による二重染色を施し、透過型電子顕微鏡 (日立 H800) にて血管条の観察を行った。

#### 統計学的検討

統計学的評価は analysis of variance (ANOVA) を用いて行い、EP の各群間の有意差検定には Scheffe の多重比較法を用いた。

#### 倫理面への配慮

実験は十分な麻酔下に行い、断頭時も多量の麻酔薬を投与し苦痛を与えずに行った。

#### 研究結果

#### 1) 電気生理学的検討

EP の経時的变化を図 1 に示した。コントロール群の EP は約 75.1mV であったが、虚血後 1 日目には約 59.8mV、4 日目には約 62.1mV と有意な電位低下を認めた。しかし、虚血後 7 日目には約 76.0mV と虚血前の電位に回復した (図 1)。

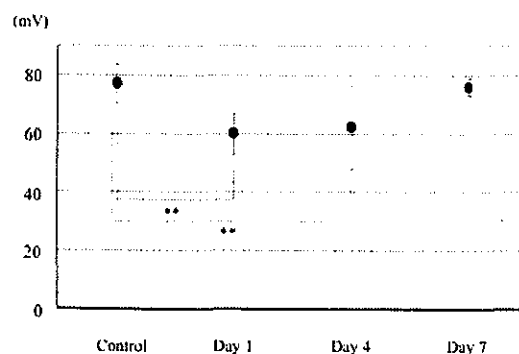


図 1. EP の電位変化 (\*\* $P < 0.01$ )

図中の垂直線は標準偏差を示す。

#### 2) 組織学的検討

##### 免疫染色

Na-K ATPase は血管条において虚血後 1 日目、4 日目に染色の低下を認めたが、7 日目にはコントロール群とほぼ同様のレベルにまで回復していた。Connexin26 も同様に、ラセン靱帯において虚血後 1 日目、4 日目に著明な染色の低下を認めたが、虚血後 7 日目には虚血前と同程度にまで染色は回復した。

##### 透過型電子顕微鏡

血管条において虚血後 1 日目に著明な細胞間隙の拡大と辺縁細胞に空胞形成を認めた。虚血後 4 日目には 1 日目と比べ、空胞変性は残るものの細胞間隙は縮小していた。7 日目には細胞間隙は完全に消失し、その形態は虚血前とほぼ同様であった (図 2)。



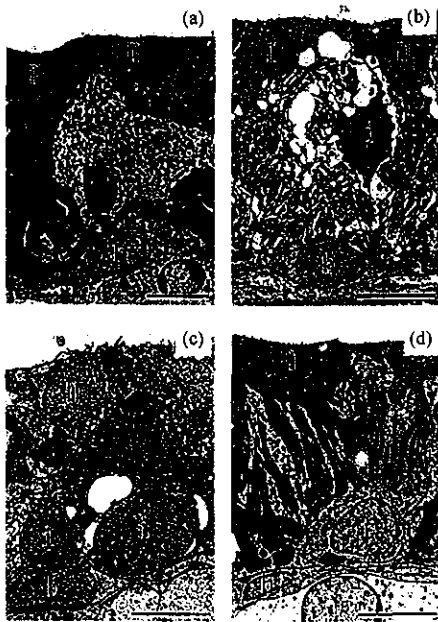


図2. 透過型電子顕微鏡

(a)コントロール、(b)虚血後1日目、(c)虚血後4日目、(d)虚血後7日目 Scale bar = 5  $\mu$ m.  
b = basal cell; i = intermediate cell; m = marginal cell;  
fc = type I fibrocyte.

### 考察

虚血と血管条との関連については EP を指標とし様々な検討がなされてきたが、これまでの報告<sup>2)</sup>では虚血後数時間までの検討しかなされておらず長期的な影響は不明であった。今回、長期生存が可能な一過性内耳虚血モデルを用いることにより虚血後長期の血管条の変化を検討した。その結果、虚血後1、4日目に EP の低下がみられ、免疫染色では Na-K ATPase および Connexin26 の染色低下を認めた。これは血管条やラセン靭帯など K イオンの輸送経路に関与する部位が障害された結果、EP が低下したものと推察された。また透過

型電子顕微鏡による観察で虚血後1、4日目に細胞間隙の拡大、空胞変性を認めたことは、辺縁細胞の基底膜側に存在する Na-K pump が障害され、細胞間隙の K イオンが辺縁細胞にくみ上げられなくなったためではないかと推察された。一方、EP の回復を認めた虚血後7日目には、血管条においては Na-K ATPase 染色の回復、ラセン靭帯の線維細胞においては connexin26 染色の回復を認め、電子顕微鏡による観察でも細胞間隙の消失を認めることより、カリウムイオンの輸送が改善され、EP が回復したと推察された。

### 結論

一過性内耳虚血による血管条障害は可逆的であり、その過程に蝸牛外側壁の K recycling system が関与していると結論した。

### [参考文献]

- 1) 竹内俊二： 血管条の組織構築と機能メカニズム. *Audiology Japan* 45: 271-277 頁 2002.
- 2) Kusakari J, Kambayashi J, Kobayashi T, et al: Reversibility of the endocochlear potential after transient anoxia. *Tohoku J. Exp. Med* 131: 1-5 1980.
- 3) Hakuba N, Gyo K, Yanagihara N, et al: Efflux of glutamate into the perilymph of the cochlea following transient ischemia in the gerbil. *Neurosci Lett* 230 : 69-71 1997.
- 4) Hakuba N, Koga K, Shudou M, et al: Hearing loss and glutamate efflux in the perilymph following transient hindbrain

ischemia in gerbils. J Comp Neurol 418 :  
217-226 2000.

- 5) Adans JC: Biotin amplification of biotin  
and horseradish peroxidase signals in  
histochemical stains. J Histochem  
Cytochem 40: 1457-1463 1992.

Masachika Shudou, Kiyofumi Gyo :  
Transient cochlear ischemia and its  
effects on the stria vascularis.  
Neuroreport. 2005. (in press)

〈学会発表〉

第14回 日本耳科学会 2004

## 研究発表

〈論文発表〉

1. 盛実勲、白馬伸洋、谷口昌史、前谷俊樹、  
清水義貴、暁清文：蝸牛神経複合活動電  
位ならびに蝸牛内直流電位に及ぼすグル  
タミン酸アゴニストの影響：Audiology  
Jpn 46 262-267, 2003.
2. Isao Morizane, Nobuhiro Hakuba ,  
Yoshitaka Shimizu, Yusuke Shinomori,  
Kensuke Fujita, \*Tadashi Yoshida,

知的所有権の取得状況

〈特許取得〉

なし

〈実用新案登録〉

なし

〈その他〉

なし

# 一過性内耳虚血によるラセン神経節細胞障害に対する Ginsenoside Rb1 の効果

分担研究者 暁 清文 (愛媛大学医学部耳鼻咽喉科学教室)

共同研究者 藤田健介・白馬伸洋・盛実 勲 (愛媛大学医学部耳鼻咽喉科学教室)

## 研究要旨

一過性内耳虚血のラセン神経節に対する障害について実験動物モデルを用いて検討した。両側椎骨動脈血流遮断による一過性内耳虚血を負荷し、虚血後 7 日目における基底回転のラセン神経節細胞数を測定したところ、細胞数は 29.8%減少していた。一方、虚血 1 時間後に神経保護作用のある Ginsenoside Rb1 を投与したところ、虚血後 7 日目においてラセン神経節細胞の減少細胞割合は 9.6%であり、有意にラセン神経節の障害を抑制していた。

## 研究目的

感音性難聴の原因として、我々は内耳虚血が難聴発症の最も重要な背景因子であると推察している。我々はこれまでにスナネズミを用い、一過性内耳虚血障害について研究を行った結果、虚血後 7 日以内に、ラセン神経節細胞において進行性の神経細胞脱落が生じていることを報告している<sup>1)</sup>。今回さらに一過性内耳虚血によるラセン神経節細胞障害に対する Ginsenoside Rb1 の保護効果について検討するため、スナネズミ一過性内耳虚血モデルを用いて、虚血後に Ginsenoside Rb1 を静脈内投与し、虚血 7 日目までのラセン神経節細胞数の変化の定量を行った。

## 研究方法

(虚血モデルの作製)

実験動物として体重 60~80g のスナネズミを使用した。全身麻酔下に頸部皮膚切開後、両側の椎骨動脈を剥離した。4-0 絹糸を椎骨

動脈に掛けて滑車に吊るし、その端に 5g の重りを負荷し血流遮断を行った。15 分間の血流遮断後、絹糸を外し手術顕微鏡下に両側椎骨動脈の血流再開通を確認し、閉創した。実験中は人工呼吸器にて呼吸管理を行い、体温は温熱灯により 36~37℃に保った。

(ラセン神経節細胞数のカウント)

虚血前および虚血再開通後 1、4、7 日目に 4%PFA にて経心灌流固定後、断頭し蝸牛骨胞を摘出した。さらに局所灌流固定を行い EDTA で 2 週間脱灰した後、パラフィン包埋し、厚さ 6 μm の切片を作成した。作成した切片から 4 枚おきに取り出した 10 枚の切片に Hematoxylin-Eosin 染色を行い、さらに無作為に 6 枚を選び基底回転における単位面積 (10000 μm<sup>2</sup>) あたりのラセン神経節細胞数について検討した。

(Ginsenoside Rb1 投与群の検討)

内耳虚血1時間後に Ginsenoside Rb1 50\_g を生理食塩水 200\_l に溶解し大腿静脈より静脈内投与した。虚血後1, 4, 7日目に、実験1と同様の方法でラセン神経節細胞数のカウントを行った。

### 統計学的検討

統計学的評価は analysis of variance (ANOVA) を用いて行い、各群間の有意差検定には Scheffe の多重比較法を用いた。

### 倫理面への配慮

実験は十分な麻酔下に行い、断頭時も多量の麻酔薬を投与し苦痛を与えずに行った。

### 研究結果

(ラセン神経節細胞数のカウント)

虚血前のラセン神経節細胞数は単位面積あたり 28.2 個であった。虚血1日目では有意な差を認めなかった (27.1 個) が、虚血4日目には 24.4 個、7日目には 19.8 個と有意な減少を認めた。

(Ginsenoside Rb1 の効果)

Ginsenoside Rb1 投与群の基底回転では、ラセン神経節細胞は虚血1日目では 10000\_l に 27.5 個認めた。虚血4日目には 25.8 個、7日目には 25.5 個とラセン神経節細胞の障害を抑制していた。

### 考察

これまでの報告からアミノグリコシド系の抗生剤や抗癌剤による内耳障害では、まず有毛細胞が障害された後、二次的にラセン神経

節細胞が障害されると報告されている<sup>2)</sup>。今回、虚血後のラセン神経節細胞数の変化を定量した結果、虚血性内耳障害では虚血後の内毛細胞での脱落割合と、ラセン神経節細胞数の減少割合がほぼ同等であり、経時的にも同時期に障害が進行している。これは虚血によるラセン神経節細胞障害では、二次的な障害以外に、ラセン神経節細胞が直接障害されている可能性が示唆された。

また Ginsenoside Rb1 の内耳虚血障害に対する影響について検討を行い、内耳虚血後に Ginsenoside Rb1 を投与することにより、ラセン神経節細胞数の減少が有意に抑制されていた。海馬においては Ginsenoside Rb1 が一過性脳虚血後の神経変性を抑制することが知られており<sup>3)</sup>、内耳虚血障害後のラセン神経節細胞障害についても保護作用があることが示唆された。

### 結論

Ginsenoside Rb1 の一過性内耳虚血後における静脈内投与により、虚血7日目に基底回転で有意に減少していたラセン神経節障害は抑制された。以上のことより内耳虚血障害後のラセン神経節細胞障害に対する Ginsenoside Rb1 の神経保護効果が示唆された。

(参考文献)

1) Koga K, Hakuba N et al : Transient cochlear ischemia causes delayed cell death in the organ of Corti: an experimental s