

表 3 原因不明一側性難聴症例の結果

症例	年齢	性別	CMV DNA	固定時 聴力レベル (dB)	
				右	左
4	6	F	—	28	8
9	1	M	—	30*	50*
14	1	M	—	30*	Scale Out*
17	10	M	—	113	8
18	12	F	—	10	68
20	1	M	—	30*	60*
21	12	F	—	5	106
23	9	F	—	47	7
24	10	M	—	103	8
25	12	F	—	91	5
27	12	M	—	108	12
28	12	F	—	103	12
36	18	M	—	113	12
41	5	M	—	110	12
43	8M	M	—	Scale Out*	30*

* ABR

表 4 原因不明両側性難聴症例の結果

症例	年齢	性別	CMV DNA	固定時 聴力レベル (dB)	
				右	左
2	20	M	—	105	102
5	17	F	—	57	52
7	16	F	—	57	25
8	5M	F	—	Poor**	Poor**
10	2M	M	—	80	80
12	5	M	+	58	115
15	9	F	+	27	95
16	6	F	+	47	35
19	13	M	—	28	112
22	10	F	—	32	28
30	15	F	—	20	20***
35	13	F	—	110	110
38	10	M	—	45	45
39	12	M	—	28	30
42	2	F	—	Poor**	Poor**

* ABR ** DPOAE *** 両側 4kHz のみが 60dB

庭水管拡大症 6 例では CMV DNA は検出されなかったが、ペンドレッド遺伝子異常との関係も今後検討したい(今回 3 例では遺伝子異常は認めなかった)。原因不明両側性難聴 15 症例中 3 例で CMV DNA が検出

されたが、ガンシクロビル療法により先天性 CMV 感染による難聴の予後を改善するとの報告もあり、CMV DNA の検索、診断は原因不明の感音難聴の病態解明、治療に貢献するものと考えている。

抗ムンプス IgM 抗体の検討

分担研究者：福田 諭(北海道大学大学院医学研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科学分野)
共同研究者：千田 英二(北海道大学大学院医学研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科学分野)
共同研究者：小原 修幸(北海道大学大学院医学研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科学分野)
共同研究者：柏村 正明(北海道大学大学院医学研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科学分野)
共同研究者：武市 紀人(北海道大学大学院医学研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科学分野)
共同研究者：坂本 徹(北海道大学大学院医学研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科学分野)

研究要旨

当研究班が定めた「ムンプス難聴診断基準」(表-1)は1987年度案の後、約20年間にわたり変更・改訂なしで経過してきている。私どもは抗ムンプス IgM 抗体価測定の普及、測定技術の安定化などに伴い、抗ムンプス IgM 抗体陽性例を確実例にできないかという観点から診断基準改訂を検討した方が良いことを提唱してきた。しかし同抗体価について詳細な検討を行う中で、同抗体価のカットオフ値に若干の検討課題があることが明らかになり、それが解決した時点での改訂が望ましいと考えた。

一方2004年の最新データでのムンプスワクチンの供給量は50万人分と変化無く、ムンプスの流行も2004～2006年にかけて再び増加傾向を示し、難聴予防の立場から、あらためてムンプスウイルスによる難聴、予防接種の重要性についての啓蒙活動も必要であると考えられた。

表-1

ムンプス難聴診断基準(1987年度改訂)

1. 確実例

- (1) 耳下腺・顎下腺腫脹など臨床的に明らかなムンプス症例で、腫脹出現4日前より出現後18日以内に発症した急性高度感音難聴の症例
(この場合、必ずしも血清学的検査は必要ではない)。
- (2) 臨床的にはムンプスが明らかでない症例で、急性高度感音難聴発症直後から2～3週間後にかけて血清ムンプス抗体価が有意の上昇を示した症例。
注1:(1)においては、初めの腫脹側からの日をいう。
注2:(2)において有意とは、同時に、同一キットを用いて測定して4倍以上になったものをいう。
注3:難聴の程度は必ずしも高度でない症例もある。

2. 準確実例

急性高度難聴発症後3ヶ月以内にムンプスIgM抗体が検出された症例。

3. 参考例

臨床的にムンプスによる難聴と考えられた症例

注1:家族・友人にムンプス罹患があった症例など。

注2:確実例(1)における日数と差のあった症例。

(厚生省特定疾患急性高度難聴調査研究班)

研究目的

ムンプス難聴診断基準は 1987 年度案があるが、約 20 年間変更・改訂なしで経過してきている。日常診療においてはムンプス疑い例などで抗ムンプス IgM 抗体価測定はルーチン検査となりつつある。こうした状況で、抗ムンプス IgM 陽性例をムンプス難聴診断基準の中で確実例にできないかという観点から改めて改訂を検討した。

研究方法

当科症例、内田報告例、デンカ生研(社内資料)などより、抗ムンプス IgM 抗体のカットオフ値、長期持続陽性例などにつき、検討を行った。

研究結果・考察

わが国における抗ムンプス IgM 抗体の測定は、厚生省特定疾患急性高度難聴調査研究班において国立予防衛生研究所の杉浦らによって開発・報告された。これは IgM

固相化プレートを用いた捕捉法(EIA)である。ムンプス中和抗体陰性である幼児 45 例の平均値+3 S.D.を cut off 値とし、最終的に抗体指数 1.2 以上を陽性としたもので、現在はコマーシャルベース(デンカ生研-SRL)で施行されている。しかし、今回の当科例の検討では図-1 に示す如く低値であるが 24 ヶ月持続陽性例もあることが明らかになった。内田報告例、デンカ生研(社内資料)なども検討した結果(図-1)、やはりカットオフ値に問題があり、特に 2.0 以下は慎重に対応すべきで、5.0 以下も注意を要するべきであると考えられた。現在デンカ生研では新たなキットを再検討中であり、来年には感度・特異度とも現在より優れたものになる予定とのことである。したがって診断基準改訂は、この結果と安定性の確認を待ってから行った方が良いと考えられた。

(図-1)

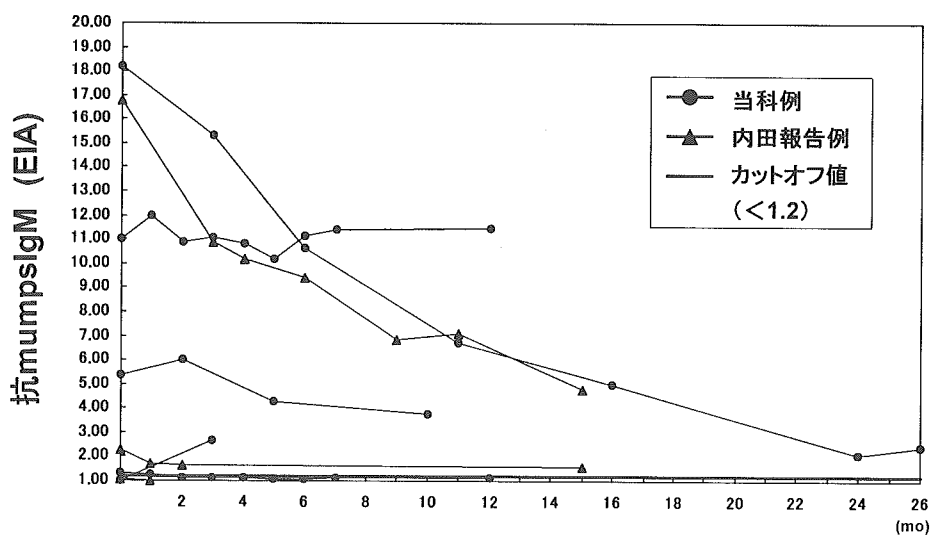


図-1 抗ムンプス IgM 抗体価の推移

考 察

前回、ムンプス難聴診断基準は 1987 年
以来の改訂の時期にきていると考えられ、
具体的には表-1 における確実例の(2) (ペ
ア血清による 2~3 週間後の診断)は除き、
準確実例(抗ムンプス IgM 抗体陽性)を確
実例の(2)に持っていても実地臨床上問
題は無いと考えて調査を行ってきた。しか
しながら今回の検討の結果、抗ムンプス
IgM 抗体価の測定において、特にカットオ
フ値における課題が明らかとなり、診断基
準改訂はこれを待ってから施行するのが望
ましいと考えられた。

結 論

ムンプス難聴診断基準は約 20 年改訂さ
れておらず、時期的には改訂も考慮にいれ
た検討が望ましいと考え検討を行った。し
かし、それには抗ムンプス IgM 抗体の正確
な検査の裏付けが必要であり、カットオフ
値を中心とした再検討が望まれる。診断基
準改訂は、この検討を待ってから施行する
のが望ましい。

参考文献

- 1) 福田 諭：ムンプス難聴. 耳喉頭頸
74 : 856-861, 2002
- 2) 福田 諭, 千田英二, 坂本 徹, 松村道
哉, 古田 康：ムンプス難聴診断基準に
ついて—第 2 報—. 厚生労働省難治性
疾患克服研究事業 急性高度難聴に関
する調査研究 平成 15 年度総括・分担
研究報告書 37-38, 2004
- 3) 福田 諭, 千田英二, 古田 康, 松村道
哉, 坂本 徹：非突発難聴者における抗
ムンプス IgM 抗体の検討. 厚生労働省
難治性疾患克服研究事業 急性高度難
聴に関する調査研究 平成 15 年度総
括・分担研究報告書 39-40, 2004
- 4) 福田 諭, 坂本 徹, 千田英二, 松村道
哉, 古田 康：非特異的経過を呈したム
ンプス難聴症例の検討. 厚生労働省難
治性疾患克服研究事業 急性高度難聴
に関する調査研究 平成 15 年度総括・
分担研究報告書 41-43, 2004
- 5) 内田真哉, 松波達也, 鈴木敏弘, 久 育
男：抗ムンプス IgM 抗体が持続陽性を
示した急性感音難聴の 1 例. *Audiol Jpn*
46 : 74-80, 2003
- 6) 内田真哉, 松波達也：抗ムンプス IgM
抗体が持続陽性を示した急性感音難聴
の 1 例. *Audiol Jpn* 44 : 511-512, 2001
- 7) 内田真哉, 松波達也, 鈴木敏弘, 村上匡
孝, 久 育男：抗ムンプス IgM 抗体陽
性の突発難聴. *Audiol Jpn* 43 : 419-420,
2000
- 8) 内田真哉, 松波達也, 鈴木敏弘, 久 育
男：ムンプス難聴新鮮例における抗ムン
プス IgM 抗体の持続. *Audiol Jpn* 45 :
395-396, 2002

健康危険情報

特になし

知的財産の出願・登録状況

なし

WFS1 遺伝子変異による難聴とその臨床像

分担研究者：宇佐美真一(信州大学医学部耳鼻咽喉科)

共同研究者：福岡 久邦(信州大学医学部耳鼻咽喉科)

共同研究者：工 穰(信州大学医学部耳鼻咽喉科)

共同研究者：神田 幸彦(神田耳鼻咽喉科 ent クリニック)

研究要旨

我々は従来より日本人難聴患者の遺伝子解析を行ってきた結果、SLC26A4 遺伝子、GJB2 遺伝子、ミトコンドリア遺伝子、EYA1 遺伝子、KCNQ4 遺伝子、TECTA 遺伝子など多数の難聴遺伝子が日本人難聴患者にも深く関与していることを報告してきた。今回低音障害型感音難聴を原因遺伝子として注目されている WFS1 遺伝子に関して日本人における変異を検討したところ低音障害型感音難聴を呈する 2 家系にそれぞれ変異が見出された。

研究目的

WFS1 遺伝子は 1998 年に報告された常染色体劣性遺伝形式をとる Wolfram 症候群 (DIDMOAD 症候群) の原因遺伝子で、2001 年には常染色体優性遺伝形式をとる非症候性難聴 (DFNA6/14/38) の原因遺伝子ともなっていることが報告されている。臨床的には低音部中心の障害であり、進行性とされている。耳鳴をとまなう報告はあるが、めまいはないとされる。今回我々は常染色体優性遺伝形式をとる日本人難聴家系における WFS1 遺伝子変異の有無を検討した。

研究方法

131 家系の常染色体優性遺伝形式を呈する非症候群生難聴患者を対象に、インフォームドコンセント後に採血を行い DNA を抽出した WFS1 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 8 個のエクソンからなる coding region 全長について直接シーケンス法により遺伝子変異を検索した。

(倫理面への配慮)

- ① 遺伝子診断、検査に際しては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

常染色体優性遺伝形式をとる日本人家系 2 家系に WFS1 の変異が同定された。2 家系とも低音障害型感音難聴を呈していた(図 1~4)。

考察

WFS1 遺伝子は 4p16.1 に位置し 8 個の

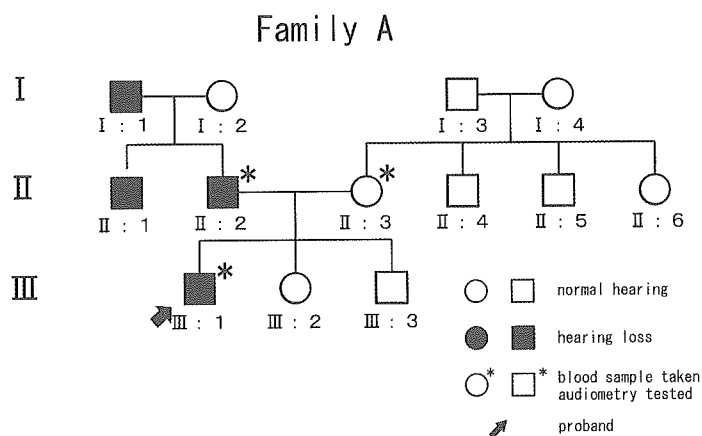


図 1 症例 1 の家系図

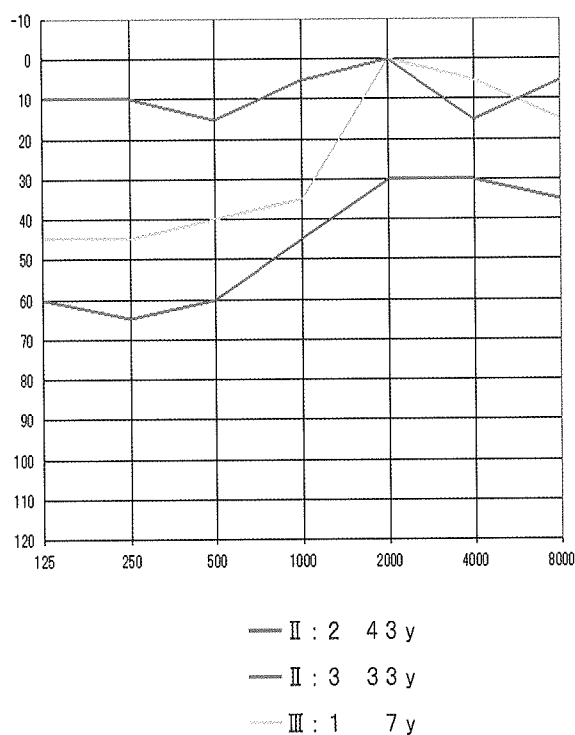


図 2 症例 1 家系の聴力像

exon から構成されている。塩基数は 890 であり wolframin とよばれるタンパクをつくる。細胞内では小胞体に膜タンパクというかたちで存在し、小胞体ストレス(タンパクの品質管理)に関与しているとされているが、明らかな機能についてはいまだ明らかになっていない。また、内耳においては

発生初期より発現が認められており、聴覚形成に重要な役割を担っていると考えられているが、頂回転、基底回転での発現の差は無いとされている。

低音障害型感音難聴を生じるとされる WFS1 遺伝子変異はこれまで 21 家系で 16 種類の変異が報告されている。我が国にお

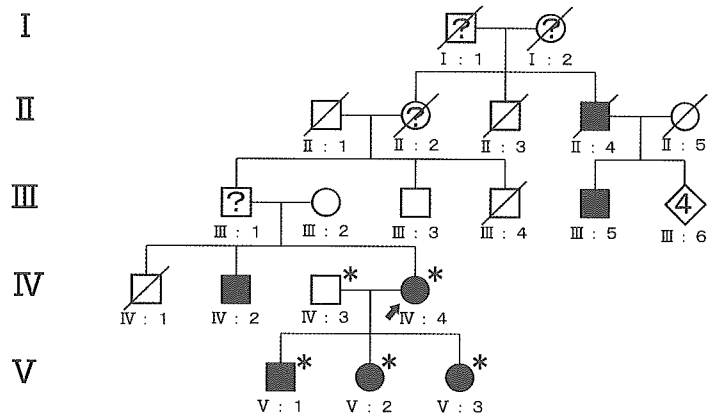


図3 症例2の家系図

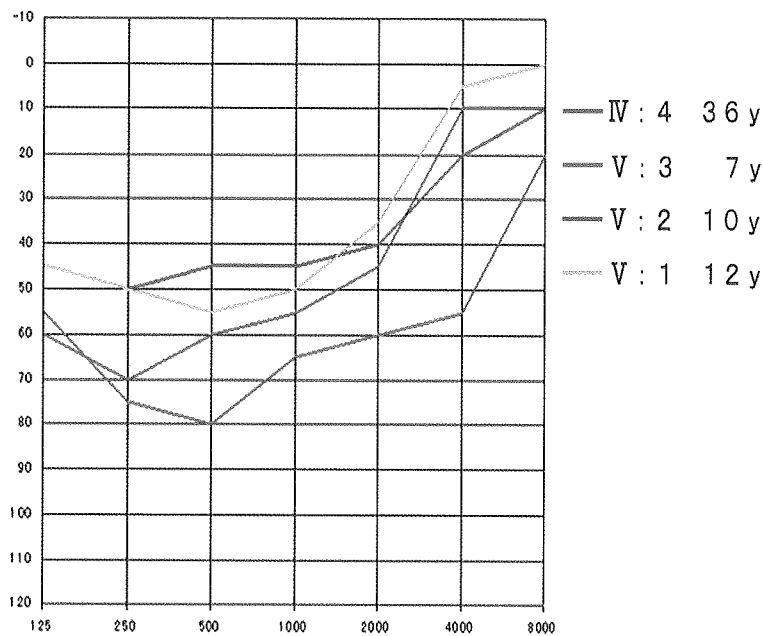


図4 症例2家系の聴力像

いては2家系の報告があるのみである。当教室で変異が同定された2家系のうち1家系目はA716Tのミスセンス変異を認めた。この変異はBespalovaらの報告にあるオランダ人家系とアイルランド人家系およびYoungらの報告にあるカナダ人家系の変異と全く同じであった。これらの共通先祖の存在の可能性は考えにくくこの家系で見つかったA716Tはhot spotである可能性が

高いと考える。

2家系目はE864Kのミスセンス変異を認めた。この変異はこれまで報告されておらず、新しい変異と考える。

WFS1遺伝子変異による難聴は進行性とされており、定期的に聴力検査を行い経過観察を行うことが重要である。過去報告されたものの中には9歳時ですでに高度の難聴を認める例や、本症例のように7歳時で中

等度の難聴を認める例もあり、カウンセリング時にはこのことについても留意する必要があると考える。通常軽度の難聴症例には経過観察のみとする場合が多いが、中等度以上の難聴症例には補聴器が用いられる。

結 論

今回の結果により WFS1 遺伝子変異は日本人の難聴患者の原因遺伝子の1つであり、とくに低音障害型感音難聴の原因遺伝子として重要であることが明らかとなった。

研究発表

1. 論文発表
未
2. 学会発表
未

知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

前庭水管拡大を呈した *SIX1* 変異

分担研究者：喜多村 健(東京医科歯科大学耳鼻咽喉科)

協同研究者：伊藤 卓(東京医科歯科大学耳鼻咽喉科)

協同研究者：野口 佳裕(東京医科歯科大学耳鼻咽喉科)

協同研究者：八島 隆敏(東京医科歯科大学耳鼻咽喉科)

研究要旨

前庭水管拡大を合併する難聴者の中で、*SLC26A4* 変異を認めなかった 5 例を対象として、*SIX1* 変異の有無を検討した。その結果、常染色体優性遺伝性難聴を示す 21 歳女性に既知の変異 (Y129C) を認めた。

研究目的

前庭水管拡大(enlargement of vestibular aqueduct : EVA)は、内リンパ嚢と前庭水管の拡大を特徴とする最も頻度の高い内耳奇形である。EVA を伴う遺伝性難聴には DFNB4、Pendred 症候群、BO/BOR 症候群などがあるが、EVA との関係が示されている難聴遺伝子として *SLC26A4*、*EYA1* が挙げられる。*SLC26A4* は EVA の代表的な原因遺伝子であり、EVA を合併する DFNB4/Pendred 症候群例の約 72% に *SLC26A4* 変異を認めるとされている¹⁾。一方、*EYA1* と *SIX1* は BO/BOR 症候群の原因遺伝子であるが^{2,3)}、近年の我々の BO 症候群に関する研究成果として、*EYA1* のみならず *SIX1* も EVA の原因となりうることが判明した。本研究の目的は、EVA を合併する非症候群性遺伝性難聴例において *SIX1* 変異を検索することである。

研究方法

全血から DNA を抽出した。*SIX1* の 2 つの

エキソンを PCR 法で増幅し、直接シーケンス法により塩基配列を同定した。

(倫理面への配慮)

全例において文書による同意を得た。

研究結果

対象は 5 例で、あらかじめ *SLC26A4* 変異がないことを確認した。そのうち 1 例に *SIX1* 変異を認めた。本症例は 21 歳女性で、主訴は幼少時からの両難聴であった。常染色体優性遺伝形式の難聴の家族歴があり(図 1)、めまいの訴えはなかった。オーディオグラム(図 2)では、両側中等度難聴を示し、低音域に軽度の気骨導差を認めた。ティン

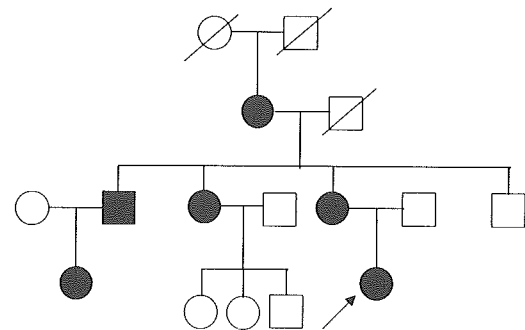


図 1 *SIX1* 変異例の家系図

パノグラムは両 A 型で、アブミ骨筋反射は両側とも正常反応であった。語音弁別検査は両側 100% であり、DPOAE では両 DP レベルがノイズレベルまで低下していた。ENG では自発眼振、注視眼振は認めなかったが、頭位変換にて左向き水平性の眼振を認めた。温度眼振検査では、両側正常反応であった。CT・MRI では右前庭水管の拡大を認めたが、他の内耳・中耳に明らかな奇形は認めなかった。遺伝子変異は *SIX1* のエクソン 1 内にある 386 位のアデニンがグアニンへ塩基転移しており (図 3)、コード

ン 129 で、チロシンからシステインへのミスセンス変異 (Y129C) を認めた。

考 察

EVA を呈する難聴者の中には *SIX1* 変異によるものが含まれていることが確認された。今回の *SIX1* 変異例では、先天性耳瘻孔を認めることから BO 症候群の範疇に含まれると考えられた。

Y129C は、Ruf らが同定したアングロサクソン系オーストラリア人家系³⁾、我々が同定した日本人家系⁴⁾と同じ既知の変異であった。Ruf らが報告した 32 人の BO 症候群家系では、全員が難聴を呈し、8 人が鰓原性奇形を、3 人が鼻涙管狭窄を合併していた。また腎奇形を合併したものはなかった。また、Y129C 変異例では難聴が感音難聴を示すことが多く、難聴以外の合併奇形の比率が低いことから、*SIX1* 変異例が非症候群性難聴として診断されている可能性が考えられた。

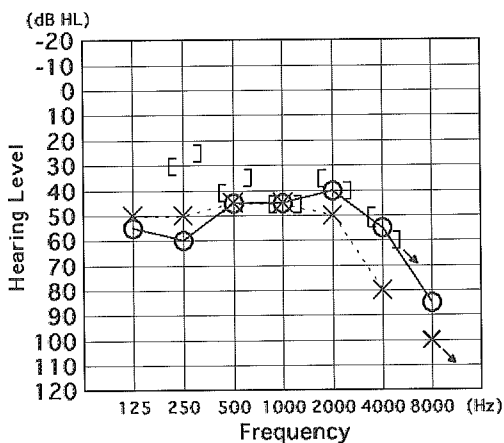


図 2 *SIX1* 変異例のオーディオグラム

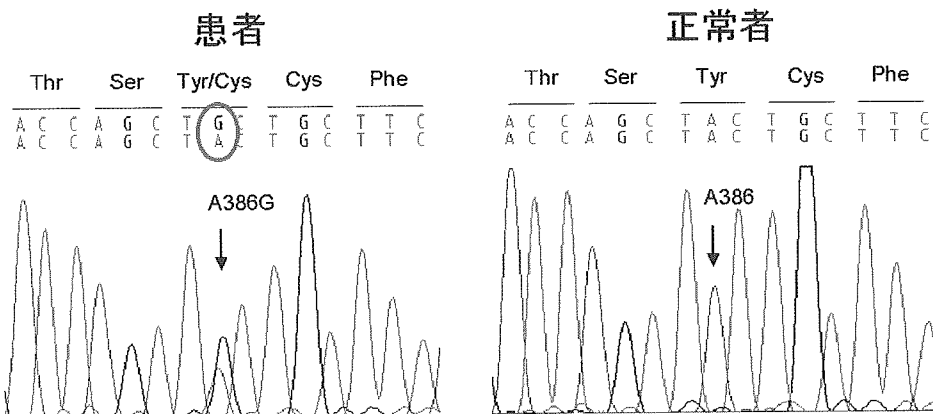


図 3 *SIX1* のエクソン 1 内にある 386 番目のアデニンがグアニンへ塩基転移

参考文献

- 1) Pryor SP, Madeo AC, Reynolds JC, et al : SLC26A4/PDS genotype-phenotype correlation in hearing loss with enlargement of the vestibular aqueduct (EVA) : evidence that Pendred syndrome and non-syndromic EVA are distinct clinical and genetic entities. *J Med Genet* 42 : 159-165, 2005
- 2) Yashima T, Noguchi Y, Ishikawa K, et al : Mutation of the EYA1 gene in patients with Branchio-oto syndrome. *Acta Otolaryngol* 123 : 279-282, 2003
- 3) Ruf RG, Xu PX, Silvius D, Otto EA, et al : SIX1 mutations cause branchio-oto-renal syndrome by disruption of EYA1-SIX1-DNA complexes. *Proc Natl Acad Sci USA* 101 : 8090-8095, 2004
- 4) Ito T, Noguchi Y, Yashima T, et al : SIX1 mutation associated with enlargement of the vestibular aqueduct in a patient with Branchio-Oto syndrome. *Laryngoscope*, in press.

3D FLAIR MRI による内耳出血の診断

分担研究者：中島 務(名古屋大学耳鼻咽喉科)

共同研究者：杉浦 真(名古屋大学耳鼻咽喉科)

共同研究者：小島佐和子(名古屋大学耳鼻咽喉科)

共同研究者：寺西 正明(名古屋大学耳鼻咽喉科)

共同研究者：長縄 慎二(名古屋大学放射線科)

研究要旨

3 dimensional fluid-attenuated inversion recovery (3D FLAIR)による MRI は、旧来の MRI では、描出できなかった程度の内耳出血を描出できることがわかった。症例は、SLE をもつ 40 歳男性で抗カルジオリピン抗体陽性。両側難聴悪化後、従来の方法による MRI で異常はみつけられなかったが、3D FLAIR MRI にて両側内耳に出血を認めた。3D FLAIR では、内耳液の高タンパクや出血が高感度に描出できる。突発性難聴例でも 3D FLAIR で内耳に病変が描出される症例がみつかってきており、3D FLAIR MRI は、内耳循環の病態検索に極めて有効な手段になりうる。

研究目的

急性感音難聴症例において fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) MRI の有効性を検討する。

研究方法

近年、FLAIR は、脳 MRI におけるルーチンプロトコールの一つになってきている。これにより T1 や T2 強調 MRI では検出することができないような微細な出血や高蛋白質が検出できる。我々はすでに 2 次元 FLAIR 画像に比べ、3 次元 FLAIR 画像 (3D-FLAIR) のほうが、脳脊髄液に関係したアーチファクトが少ないことを報告し、内耳の微小な出血や高蛋白質を検出するべく急性感音難聴症例に 3D-FLAIR を施行しているが、内耳出血症例について検討する。

症 例

40 歳男性。本症例は、33 歳時、抗カルジオリピン抗体陽性の SLE に罹患した。平成 13 年 1 月 3 日回転性めまいを伴う右難聴、右耳鳴生じ、他院にて、右中等度感音難聴(山型)を指摘された。また、同時に血小板減少、血清補体価低下、抗 DNA 抗体高値と SLE の悪化を認められ、同院入院となる。入院中、難聴発症前に内服していたプレドニゾロン(PSL)30mg/日から、60mg/日へ増量した。その後、高気圧酸素療法を施行するも聴力変化なく、平成 17 年 4 月 11 日当科紹介受診となる。初診時、純音聴力検査にて 3 分法で右 50dB、左 12dB で、右感音難聴(山型)を認め、当院 1 回目の入院となる。ABR にて右 90dB で V 波閾値を認めた。語音明瞭度は右耳 50dB で



図1 症例の3D FLAIR MRI。 Co：蝸牛 VE：前庭
矢印のように両内耳に高信号を認める。

25%、左耳 40dB で 100%であった。自記オーディオメトリーは右 Jerger IV型、左 I型であった。DPOAE は両耳とも反応良好であった。FLAIR ではない MRI 施行し異常を認めなかった。PSL 60mg から 30mg/日へ漸減するも、聴力改善認めず退院となる。平成 17 年 10 月 15 日めまいの伴わない左難聴、左耳鳴生じ、10 月 18 日当科受診し純音聴力検査にて 3 分法で右 68dB、左 37dB であった。左難聴進行し同年 10 月 21 日に左 65dB まで聴力低下したため当院 2 回目の入院となる。語音明瞭度は右耳 100dB で 15%、左耳 100dB で 55%であった。SISI テストでは右耳 1kHz で 100%、左耳 1kHz で 95%であった。カロリックは両耳とも半規管麻痺を認めた。DPOAE では、前回と異なり両耳とも無反応であった。MRI 3 次元 FLAIR では、両側蝸牛、前庭に高信号領域を認めた(図 1)。単純 T1 強調画像では、この領域の描出が認められず、造影 T1 でもこの領域は造影されなかった。臨床経過と MRI 画像所見、抗カルジオリピン抗体陽性により両内耳出血と診断した。ステロイド増量、グリセオール点滴等、加療するも聴力改善は認められなかった。

考 察

抗カルジオリピン抗体陽性の患者では、

中枢神経系、網膜、心臓、肺、肝、腎、そして四肢末梢において動・静脈血栓症を認める。これにより、SLE や他の自己免疫疾患症例では、抗カルジオリピン抗体により耳科領域に血栓症を生じさせることにより、難聴が生ずると考えられてきた。しかし、本症例の MRI 所見では蝸牛と前庭の出血を強く疑う所見であった。従って、内耳血管内の血栓により内耳梗塞が生じ、梗塞後出血が生じた可能性がある。

本症例において、内耳出血が生ずる以前は、DPOAE で反応良好であったこと、純音聴力検査に比して語音明瞭度が不良であったことより右後迷路性難聴であったと考えられた。また、内耳出血後の DPOAE 無反応、SISI 陽性所見は、2 回目の難聴増悪が両側内耳障害から生じていることを支持する。

結 論

T1、T2 強調では認められないような内耳出血を 3 次元 FLAIR により描出でき、有用性を確認した。

参考文献

- 1) Bowman CA, et al. : Sensorineural hearing loss associated with systemic lupus erythematosus. *Otolaryngol Head Neck Surg* **94** : 197-204, 1986.

- 2) Hisashi K, et al. : Anticardiolipin antibody-induced sudden profound sensorineural hearing loss. *Am J Otol* **14** : 275-277, 1993.
- 3) Green L, Miller EB : Sudden sensorineural hearing loss as a first manifestation of systemic lupus erythematosus : Association with anticardiolipin antibodies. *Clin Rheumatol* **20** : 220-222, 2001.
- 4) Compadretti GC, et al. : Sudden sensorineural hearing loss in lupus erythematosus associated with antiphospholipid syndrome : case report and review. *Ann Otol Rhinol Laryngol* **114** (3) : 214-218, 2005.

研究発表

1. 論文発表

- 1) Case report : Inner ear hemorrhage in systemic lupus erythematosus. Makoto Sugiura, Shinji Naganawa, Masaaki Teranishi, Eisuke Sato, Sawako Kojima, Tsutomu Nakashima. *The Laryngoscope*, in press.

2. 学会発表

- 1) 杉浦 真, 寺西正明, 中島 務 : SLE患者における内耳出血. 第24回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会, 2006年, (鳥羽)

知的財産権の出願・登録状況

なし

新たに開発した人工内耳音声コード化法 (CSPE) の有用性

分担研究者：岩崎 聡 (浜松医科大学耳鼻咽喉科)

共同研究者：Dashtseren Erdenebat (静岡大学情報学部)

共同研究者：北澤 茂良 (静岡大学情報学部)

共同研究者：鈴木千香子 (浜松医科大学耳鼻咽喉科)

研究要旨

現在使用されている人工内耳音声処理方法(音声コード化法)に対して、新たなチャンネルの選択数・刺激頻度・刺激の順序の音声コード化法を考案し、Processor Control Interface (PCI) を介しての聴取実験を施行した。子音聴取テストにて従来の処理方法より有意な改善がえられた。

研究目的

両側の重度感音難聴に対する治療法として人工内耳は一般的な手段となった。日本で人工内耳手術が行われてから 20 年が経過し、語音聴取成績も向上しているが、その理由の 1 つは音声処理方法(音声コード化法)の改良・進歩である。現在一般的に使用されているコクレア社製人工内耳の音声コード化法は ACE (Advanced Combination Encoder) であるが、我々は新たな刺激頻度・刺激順序による音声コード化法を考案した。CSPE (Channel Selection Pulse Estimation) と呼ぶ我々のストラテジーは、コクレア社製人工内耳 (CI24M) に 3 つの基本的パラメータ (選択するチャンネルの数・刺激頻度・刺激の順序) を変化させたものである。人工内耳装用者に対し、子音聴取検査による CSPE と ACE の比較検討を行った。

研究方法

Nucleus 24・ACE コード化法を 1 年以

上使用している 4 名 (55 歳～69 歳: 男 2 名、女 2 名) と正常聴力者 4 名 (22 歳～60 歳: 男 2 名、女 2 名) を対象とした。今回使用した言語データは ATR (Advanced Telecommunication Research) 言語データベースから取った。18 の子音 consonants (*/k/, /g/, /s/, /z/, /ts/, /ʃ/, /j/, /t/, /d/, /tʃ/, /n/, /r/, /h/, /b/, /p/, /f/, /m/, /w/*) を使用した CV、VCV 方式による子音聴取テストを VCV、CV の順で聞かせ、比較検討した。人工内耳装用者に対する聴取テストは人工内耳リハビリテーション室内にて、快適レベルのラウドネスで行った。音声情報は Cochlear Clinical Programming System (CPS) の Processor Control Interface (PCI) を介して RF 信号にコード化し、スピーチプロセッサに伝達され、電極刺激される。正常聴力者に対しても同様の内容の子音聴取テストを行った。ただし、音声信号情報を構成する刺激時間やラウドネスをコードする振幅を amplitude-time-matrixes (ATM) を

介して音響刺激に変換し¹⁾、ヘッドホンの右耳から快適レベルの音量で聞かせた。学習効果を減らすため、ACE法でテストした1~2週間後にCSPE法でテストした。

信号処理方法;CSPEコード化法の場合、信号は14400Hzまでサンプリングし、ACEコード化法で使用されている第6版度数分布表で指定するフィルタバンクを通して処理した。10msの信号フレーム内で刺激されることができる電極の最大数は8、最大チャンネル刺激率は $Rc=900pps$ と両者等しく設定した。ACEコード化法の場合、信号はNucleus Implant Communicator stream (NICstream)を使用するため16kHzまでサンプリングした。音量は両コード化法ともNICstreamの対数関数的音量コーディング機能により設定された。(倫理面への配慮)

当施設の倫理委員会で承認され、検査対象者からインフォームドコンセントを得ている。

研究結果

人工内耳装用者、健聴者各4名のACE・CSPEコード化法による子音聴取テスト成績を図1に示す。CV、VCV式の子音聴取テストでは、人工内耳装用者と健聴者全員でCSPEコード化法がACEコード化法より成績が良く、統計学的にも有意にCSPEコード化法で改善が認められた。

考 察

CSPE(Channel Selection Pulse Estimation)と呼ぶ我々のストラテジーは、コクレア社製人工内耳(CI24M)に3つの基本的パラ

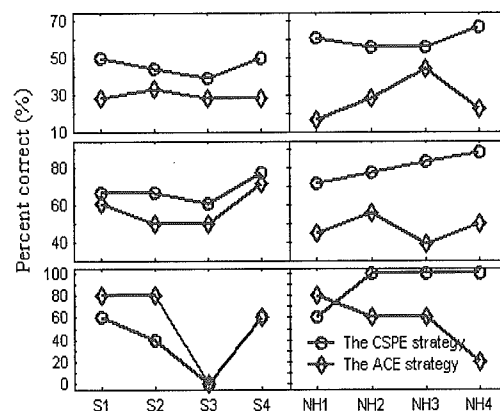


図1 人工内耳装用者(S1-S4)と健聴者(NH1-NH4)の子音聴取テスト成績
上段; CV式、中段; VCV式、
下段; CV+n(単語)

メータ(選択するチャンネルの数・刺激頻度・刺激の順序)を変化させたものである。ある時間内で最大の振幅の周波数を担うチャンネルだけを選び、入力されるスペクトラムによって選択されるチャンネルの数も変えることが出来る。したがって、チャンネルの刺激頻度は変化するようになる。さらに、選択されたチャンネルの刺激順序は入力された周波数情報の順序に同調する。図2は、“打つ”の刺激パターンの例を示す。上段は原音のスペクトログラム、第2段はCSPE(B1)とACE(C1)による刺激パターンを示す。第3段、4段はその拡大図を示す。ACEコード化法では一定の数のチャンネルが選択され、from-base-to-apexのあらかじめ定義された刺激順序で一定の頻度の刺激がされる。それに対し、CSPEコード化法では異なる頻度・順序でチャンネル刺激されている。

今回の聴取実験システムはテスト用の音声をProcessor Control Interface(PCI)を介して直接人工内耳に伝達させた。我々の

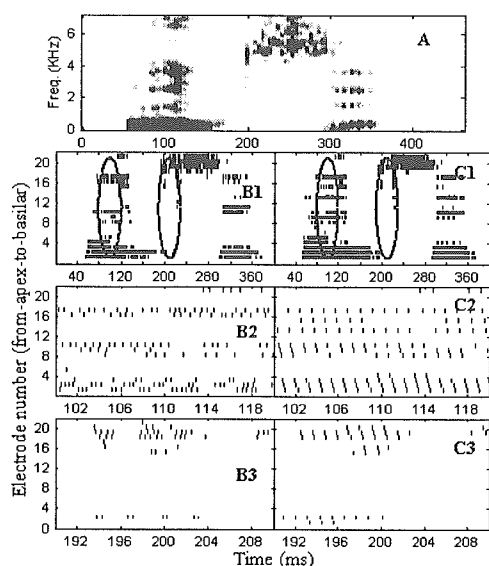


図2 単語「打つ」の刺激パターンの一例
 (A) スペクトログラム、
 (B) CSPE コード化法のチャンネル刺激パターン、
 (C) ACE コード化法のチャンネル刺激パターン

音声処理法はこれまでの方法より複雑な信号処理を行うため、time delayが生じる可能性が疑われる。したがって、リアルタイムによるシステムを開発し、聴取実験を行って検証する必要がある。

結論

我々が考案した人工内耳音声処理方法 (CSPE 法) はこれまでの方法よりさらに聞き取りの改善が期待でき、高度難聴者にとって有益なものとなりうると思われた。

参考文献

- 1) Dashtseren E, Kitazawa S, Iwasaki S, Kiriya S. : Evaluation of a novel signal processing strategy for

cochlear implant speech processors.
 IEICE TRANS. INF. & SYST. E87-D
 (2) : 463-471, 2004.

健康危険情報

なし

研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) Dashtseren Erdenebat, 岩崎 聡, 北澤茂良:新たに考案した人工内耳音声処理方法の評価. 第50回日本聴覚医学会総会(東京), 2005
- 2) Iwasaki S, Hashimoto Y, Nagura M, Mizuta K: Effects of stimulation order and rate on speech recognition for two cochlear implant signal processing strategies. 28thARO meeting. USA, 2005.

知的財産権の出願、登録状況

1. 特許取得

- 1) 発明の名称：人工内耳の音声変換方法 (特願 2003-206405)

2. 実用新案登録

- 1) A method of speech conversion in a cochlear implant (PCT/JP2004/11077)

3. その他

なし

一過性内耳虚血障害に対する骨髄幹細胞の効果

分担研究者：暁 清文(愛媛大学医学部耳鼻咽喉科)
共同研究者：吉田 正(愛媛大学医学部耳鼻咽喉科)
共同研究者：兵頭 純(愛媛大学医学部耳鼻咽喉科)
共同研究者：藤田 健介(愛媛大学医学部耳鼻咽喉科)
共同研究者：羽藤 直人(愛媛大学医学部耳鼻咽喉科)
共同研究者：白馬 伸洋(大阪赤十字病院耳鼻咽喉科)
共同研究者：盛実 勲(真泉会第一病院耳鼻咽喉科)

研究要旨

一過性内耳虚血モデルを用いて、骨髄幹細胞を虚血前に蝸牛内投与し、内耳虚血障害に対する骨髄幹細胞の効果について検討した。骨髄幹細胞群では内有毛細胞の脱落、ABR 閾値上昇を有意に抑制し、骨髄幹細胞は一過性内耳虚血障害に対して保護効果を示した。また、骨髄幹細胞群では蝸牛内 GDNF 蛋白の発現量が増加しており、骨髄幹細胞により産生、活性化された GDNF が保護効果機序の一つとして考えられた。

研究目的

近年、再生医学の進歩はめざましく、様々な臓器において神経幹細胞や ES 細胞などを用いて再生医療が試みられている。これら幹細胞の一つである骨髄幹細胞は成体の自己骨髄より採取分離が可能であることから、内耳における幹細胞を用いた再生医療に現実性が高い。また自己増殖能を持つと同時に、神経栄養因子をはじめとする多くの分化能を有する物質の誘導を持つことも知られている。そこで我々は従来報告している一過性内耳虚血モデルを用いて、骨髄幹細胞を虚血前に蝸牛内投与し、内耳虚血障害に対する骨髄幹細胞の保護効果、骨髄幹細胞の蝸牛局在の確認、また代表的な神経栄養因子の一つである glial derived

neuronal factor (GDNF) 蛋白の蝸牛における発現変化について検討した。

研究方法

実験動物にはスナネズミ(12~16 週齢、体重 60~80g)を使用した。骨髄細胞は 8~10 週齢のスナネズミの大腿骨および脛骨から採取した。採取した骨髄細胞を Hoechst33342 で染色後、FACS で解析を行い、骨髄幹細胞を分離した。このようにして得た骨髄幹細胞浮遊液($1\sim 2 \times 10^3$ in $4 \mu\text{l}$)の注入法であるが、耳胞を開放し先端 $150 \mu\text{m}$ 径の微細針を正円窓に挿入し、インフュージョンポンプを用いて、 $1 \mu\text{l}/\text{min}$ の速さで 4 分間、総量 $4 \mu\text{l}$ の注入を行った。またスナネズミ内耳虚血はハロセン吸入麻

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、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負荷を行った。

実験 1. ABR 閾値測定

刺激音は8kHzのトーンバーストを用いて加算回数は300回とした。ABR測定は虚血前、虚血4日後に行い、非注入側耳と閾値変化を比較検討した。

実験 2. 組織学的検討

虚血4日後に断頭し、速やかに蝸牛骨胞を摘出した。前庭窓、蝸牛窓を開放し蝸牛頂回転に設けた小孔より4%パラホルムアルデヒドにて局所灌流固定を行った。さらに同液にて2時間浸漬固定後、surface preparationにて基底回転のコルチ器を採取し、rhodamine-phalloidin染色を行い内有毛細胞の脱落細胞数の割合(%)を測定した。

実験 3. 骨髄幹細胞の蝸牛局在の確認

PKH26色素を用いて骨髄幹細胞を蛍光標識した。標識した骨髄幹細胞を注入1日後に15分間の内耳虚血負荷を加え、虚血4日後に蝸牛の摘出を行った。EDTAで48時間脱灰し、厚さ10 μ mの蝸牛の凍結切片を作成し、光学蛍光顕微鏡下に蝸牛組織の観察を行った。

実験 4. 蝸牛内 GDNF 蛋白測定

虚血4日後に断頭し、速やかに蝸牛骨胞を摘出し蝸牛を採取、ホモジナイズしてウエスタンブロット法によりGDNF蛋白測定を行った。画像解析ソフト(NIH Image)を用いて発現バンドの定量的評価を行ない、コントロール群と骨

髄幹細胞注入群とのGDNF蛋白発現量を比較検討した。

(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

結果 1. ABR 閾値変化

非注入群では平均40dBのABR閾値上昇、骨髄幹細胞注入群では平均14.3dBのABR閾値上昇を認め、骨髄幹細胞注入群でABR閾値上昇が有意に抑制されていた。

結果 2. 内有毛細胞の脱落割合

非注入群においては22%、骨髄幹細胞注入群では約7%であり、骨髄幹細胞注入群で内有毛細胞の脱落が有意に抑制されていた。

結果 3. 骨髄幹細胞の蝸牛局在の確認

蛍光顕微鏡による蝸牛基底回転の観察では、PKH26陽性細胞が外リンパ腔に多数認められた。また一部の骨髄幹細胞のコルチ器への移行が認められた。

結果 4. 蝸牛内 GDNF 蛋白測定

虚血負荷にて蝸牛内GDNF蛋白の発現量が増加し、骨髄幹細胞群ではさらに蝸牛内GDNF蛋白の発現量が増加した。

考 察

骨髄幹細胞の蝸牛内投与により、内耳虚血後のABR閾値上昇や内有毛細胞脱落障害を抑制し、一過性内耳虚血障害に対して保護効果を示した。保護メカニズムとして、注入した骨髄幹細胞が外リンパ腔およびコ

ルチ器に存在し、骨髄幹細胞自体が栄養因子産生(GDNF)すること、あるいは骨髄幹細胞が何らかの誘導因子を介し、内因性のGDNF 発現をより活性化させる可能性が示唆された。内耳における GDNF の作用としてグルタミン酸放出やフリーラジカル産生に対する抑制などが報告されているため、骨髄幹細胞により産生、活性化されたGDNF が、一過性内耳虚血障害に対する保護効果を持つと考えられた。

結 論

骨髄幹細胞は ABR 閾値上昇や内有毛細胞脱落障害を抑制し、一過性内耳虚血障害に対して保護効果を示した。保護効果機序の一つとして骨髄幹細胞により産生、活性化された GDNF 産生が考えられた。

参考文献

- 1) Ito J, Kojima K, Kawaguchi S : Survival of neural stem cells in the cochlea. *Acta Otolaryngol* **121** : 140-142,2001.

- 2) Goodell MA. et al. : Isolation and functional properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating in vivo. *J Exp Med* **183** : 1797-1806,1996.
- 3) Heike T, Nakahata T : Stem cell plasticity in the hematopoietic system. *Int J Hematol* **79** : 7-14,2004.

研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 第 50 回聴覚医学会, 2005

知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし