

ルチトンネル面に生着している像 (図2b-2) が確認された。

走査型電子顕微鏡によると、虚血群では内有毛細胞の聴毛脱落が顕著であったが (図3a)、神経幹細胞投与群では聴毛脱落はほとんど見られなかった (図3b)。

造血幹細胞

【実験方法】

造血幹細胞はドナーのスナネズミ大腿骨から採取した。骨髄細胞をHoechst33342にて染色後、flow cytometry解析を行って造血幹細胞を分離抽出し、細胞保存液 (DMEM液) に浸した。ついで造血幹細胞 [$\sim 2 \times 10^3 / 4 \mu\text{l}$] をレシピエントとなるスナネズミの左耳鼓室階に正円窓経由で注入した。右側蝸牛には同量の細胞保存液 (DMEM液) を注入した。翌日、両側の椎骨動脈を露出して15分間血流を遮断し、一過性内耳虚血を負荷した。左側蝸牛を造血幹細胞注入群、右側蝸牛を虚血-DMEM群とした。

1. ABRの測定

虚血直前、および虚血4日後にABRを測定した。刺激音には8kHzのトーンバーストを用い、300回の加算を行った後、閾値を求めた。

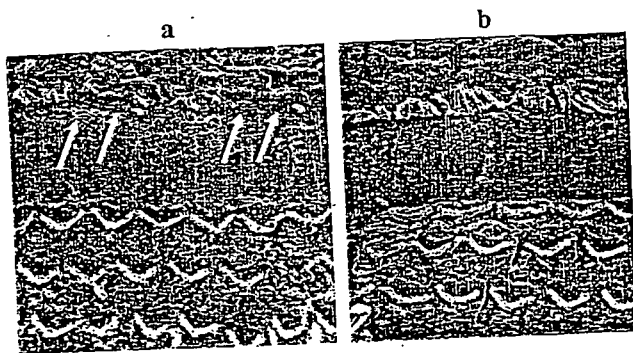


図3 走査型電子顕微鏡による有毛細胞の観察
a: 虚血群、b: 神経幹細胞注入群

虚血7日後の虚血群では内有毛細胞の聴毛脱落が顕著にみられたが、神経幹細胞注入群ではほとんど見られなかった。

2. 組織学的検討

虚血4日後に蝸牛を摘出して局所灌流、後固定を行った後、surface preparation法にて基底回転のコルチ器を採取した。これをRhodamine-phalloidin染色して内有毛細胞の脱落率を算出した。

3. 造血幹細胞の局在

鼓室階に注入した幹細胞の局在を調べる目的で、造血幹細胞を緑色の蛍光色素PKH67で染色した後、鼓室階に投与した。虚血負荷4日後に標本を採取し、脱灰後、厚さ10 μm の凍結切片を作製して蛍光顕微鏡で観察した。

4. ウェスタンブロット解析

虚血4日後に蝸牛を摘出、ホモジナイズしてウェスタンブロット法によりGDNF、BDNF、FGF1、FGF2、Ang1、NT3及びEPO蛋白の測定を行なった。画像解析ソフトを用いて発現バンドの定量的評価を行ない、造血幹細胞注入群と虚血-DMEM群で蛋白発現量を比較した。

【結果】

虚血前を基準とすると、4日後のABR閾値上昇は虚血-DMEM群が平均32.5dB、造血幹細胞注入群は14.2dBであった。後者の閾値上昇は前者よりも有意に軽度であった。

虚血4日後の内有毛細胞の脱落率は虚血-DMEM群

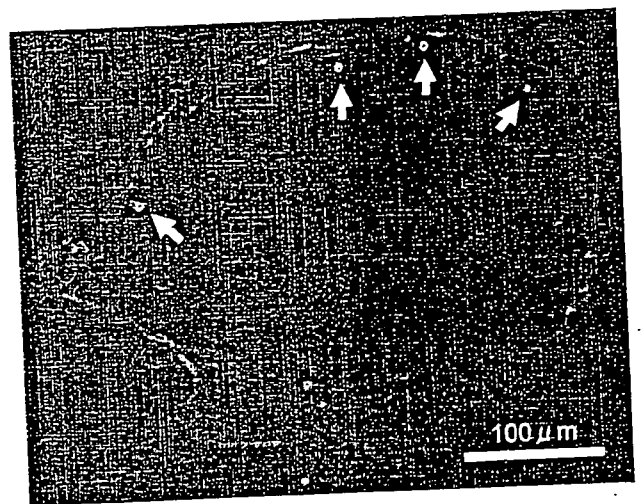


図4 注入した造血幹細胞の蝸牛内分布 (蛍光顕微鏡像)
PKH陽性細胞は基底回転の鼓室階に散在性に分布していた。

が23.6%、造血幹細胞注入群が9.1%であり、後者の脱落率は前者よりも有意に低かった。

PKH陽性細胞は鼓室階に散在性にみられたが、コルチ器や周辺組織では認めず、有毛細胞と置換や融合を起こすことはなかった。

7種の栄養因子について虚血負荷後の蛋白発現を検討した結果、GDNFのみ発現が認められた。図5aに示すように虚血を負荷していない無処置群ではGDNF発現は弱いが、虚血-DMEM群では若干強く、造血幹細胞注入群では極めて強く発現した。画像解析による定量的評価を行うと(図5b)、虚血-DMEM群、造血幹細胞注入群はいずれも無処置群より有意にGDNF発現量は増加していた。造血幹細胞注入群と虚血-DMEM群との比較でも有意差があり、造血幹細胞注入はGDNF発現量を増加させることが確認された。

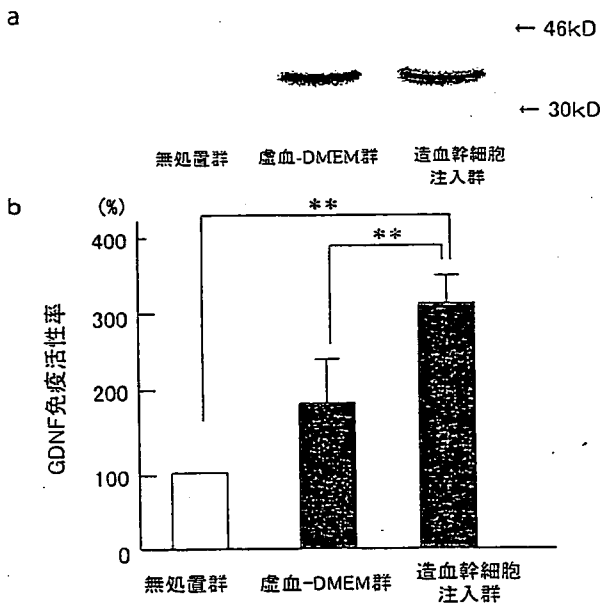


図5 虚血4日後の蝸牛におけるGDNF発現

a. ウェスタンブロット法

虚血負荷によりGDNFの発現は増強したが、造血幹細胞注入によりさらに強い発現がみられた。

b. GDNFの発現量

画像解析による発現バンドの定量的評価結果を示す。虚血負荷によりGDNF蛋白の発現量は増加したが、造血幹細胞注入群での発現量はさらに顕著であった。(**: $p < 0.01$)

考 察

今回の結果より、神経幹細胞及び造血幹細胞は虚血によって生じる聴力障害と有毛細胞の脱落を抑制することが示された。これら幹細胞による内耳保護効果のメカニズムについては、いくつかの可能性が考えられる。

まず、多分化能を持つ神経幹細胞や造血幹細胞が有毛細胞に分化し、虚血によりアポトーシスを起こした有毛細胞と置換した可能性が挙げられる³⁾。神経幹細胞や内耳前駆細胞が有毛細胞へ分化することはこれまでも報告^{1) 2) 3)}されているが、本実験では神経幹細胞はコルチトンネルに移行し内有毛細胞直下に定着しており、また造血幹細胞は主に外リンパ腔に存在していた。したがって有毛細胞へ分化転換したとする根拠は得られず、この説による内耳保護効果の可能性は低い。

近年、幹細胞は栄養因子の分泌を促進することが分かり、その作用によって障害が防御、修復されることが明らかとなった。Choppら⁶⁾は間葉系幹細胞から分泌された栄養因子が脳に内在する神経前駆細胞の生着、遊走、分化を進め、脳梗塞巣を縮小させると報告し、脳梗塞急性期治療の重要なメカニズムと位置づけている。間葉系幹細胞や神経幹細胞がサイトカインや神経栄養因子(NGF、BDNF、GDNFなど)を分泌することは以前から知られており^{4) 7)}、造血幹細胞もAng-1のような栄養因子を分泌する⁸⁾。本研究の結果、神経幹細胞を虚血前に投与することで、虚血直後の内有毛細胞や蝸牛神経樹状突起の空隙形成は生じず、内有毛細胞の脱落も防御された。これは神経幹細胞より何らかの神経栄養因子や細胞保護作用を持つサイトカインが誘導されたためと考えられる。造血幹細胞に関しても、虚血や造血幹細胞投与により内耳でGDNF発現増加が認められたことから、同様のメカニズムで内耳機能保護に働いたものと考えられる。

以上のことから神経幹細胞や造血幹細胞の蝸牛内投与は虚血性内耳障害を防御する効果を持つことが示された。

(吉田 正)

参考文献

- 1) Li H, Corrales CE, Edge A, Heller S : Stem cells as therapy for hearing loss. *Trends Mol Med* 2004 ; 10 : 309-315.
- 2) Li H, Liu H, Heller S : Pluripotent stem cells from the adult mouse inner ear. *Nat Med* 2003 ; 9 : 1293-1299.
- 3) Tateya I, Nakagawa T, Iguchi F, Kim TS, Endo T, et al : Fate of neural stem cells grafted into injured inner ears of mice. *Neuroreport* 2003 ; 14 : 1677-1681.
- 4) Mahmood A, Lu D, Chopp M : Intravenous administration of marrow stromal cells (MSCs) increases the expression of growth factors in rat brain after traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2004 ; 21 : 33-39.
- 5) Hakuba N, Koga K, Shudou M, Watanabe F, Mitani A, et al : Hearing loss and glutamate efflux in the perilymph following transient hindBrain ischemia in gerbils. *J Comp Neurol* 2000 ; 418 : 217-226.
- 6) Chopp M, Li Y : Treatment of neural injury with marrow stromal cells. *Lancet Neurol* 2002 ; 1 : 92-100.
- 7) Crigler L, Robey RC, Asawachaicharn A, Gaupp D, Phinney DG : Human mesenchymal stem cell subpopulations express a variety of neuro-regulatory molecules and promote neuronal cell survival and neuritogenesis. *Exp Neurol* 2006 ; 198 : 54-64.
- 8) Takakura N, Watanabe T, Suenobu S, Yamada Y, Noda T, et al : A role for hematopoietic stem cells in promoting angiogenesis. *Cell* 2000 ; 102 : 199-209.

内耳虚血とステロイド

はじめに

ステロイドホルモン（以下、ステロイド）は突発性難聴の治療薬として古くより汎用されているが、どのようなメカニズムで内耳に対して保護的に働くのかは分かっていない。突発性難聴の原因がウイルスであれば、ステロイドがウイルス疾患に有効なことは証明されているので、ステロイドの使用は理に叶っている。それでは突発性難聴の原因が虚血の場合、ステロイドは効果を示すのであろうか？このような疑問を解決すべく、本稿では虚血障害に対するステロイドの影響について概説するとともに、虚血性内耳障害に対するステロイドの効果を実験的に検討した。

ステロイドの作用機序

ステロイドの薬理作用は大きく分けてゲノミック作用(genomic action)と非ゲノミック作用(nongenomic action)に大別される。genomic actionはホルモン受容体複合体が直接核内DNAに作用し、転写レベルで遺伝子発現を調節する機構で、細胞質内のミネラルコルチコイド受容体やグルココルチコイド受容体を介して作用する。これら古典的ステロイド受容体の発現機序は標的遺伝子を介するため、数時間単位の時間的遅れが生じる。これに対し、作用発現が短時間の機序はステロイドのnongenomic actionと総称される¹⁾。

グルココルチコイド (GC) の nongenomic action

GCのnongenomic actionに関しては主に中枢神経系で研究が進み、分子メカニズムなどの知見が集約されつつある^{2) 3)}。神経細胞にはGCに特異的な受容体が存在する。この受容体は一種類ではなく、薬理作用が異なる複数種類の受容体がある。このため、ある実験でGCと合成ステロイドが同様の効果を示すが、別の実験では拮抗的に働くということが起こる。海馬CA1領域においては、虚血再灌流障害に対してGCはグルタミン酸放出を促進することで障害性に働

き、またDHEAS（硫酸デヒドロエピアンドロステロン）は障害防御効果を示して保護的に働き、両者の機能は拮抗するという。しかし、総合的にはGCは虚血再灌流障害に対して保護的に働く。Tabuchi⁴⁾はモルモットの内耳虚血モデルを用いた研究を行い、GCとDHEASはいずれも障害防御に働くと報告している。

ステロイドとカルシウム動態

近年、さまざまな分野でステロイドと細胞内カルシウムイオンとの関係が報告されている。ステロイドがカルシウム動態に関与することは、すでに細胞レベルで証明されており、効果が迅速であることから膜受容体を介したnongenomic actionと考えられている。Makara²⁾によると、ステロイドはカルモジュリンの細胞膜への親和性に影響を及ぼし、電位依存性カルシウムチャンネルに作用するという。

一方、内耳の虚血再灌流障害においても、GCが細胞内カルシウム動態に影響を及ぼす可能性がある。しかし、内耳虚血とステロイドとの関係を研究した報告は少ない。本稿では内耳虚血モデルを用いてステロイドの効果を検討した。

虚血性内耳障害に対するプレドニゾン（コハク酸プレドニゾンナトリウム）の効果

実験にはスナネズミを使用し、虚血後の投与薬剤の違いにより、以下の2群に分けた。すなわち1) 生理食塩水群：虚血処置後、生理食塩水を腹腔内に投与した群（n=6）、2) プレドニゾン群：虚血処置後、プレドニゾン1 mg/kgを腹腔内に投与した群（n=8）である。虚血障害の防御効果はABR閾値の推移、および内有毛細胞の脱落率をみることで評価した。

その結果、虚血7日後のABR閾値の上昇は生理食塩水群が 24.1 ± 8.6 dB、ステロイド群が 15.0 ± 12.2 dBであった（図1）。両者に統計学的な有意差はなかったが、後者の結果は概して良好であった。虚血

(つづく)

後早期より効果が発現していることから、これはプレドニゾロンのnongenomic actionによると考えられた。

図2に虚血7日後の内毛細胞脱落率を示した。組織学的にもプレドニゾロンの効果は顕著であり、有意に内毛細胞の障害を防御した。

(前谷俊樹)

参考文献

- 1) 安田圭吾：臨床各科でのステロイド薬の使い方。永井書店：2001：11-16.
- 2) Makara GB, Haller J: Non-genomic effects of glucocorticoids in the neural system. Evidence, mechanisms and implications. Prog Neurochem 2001；65：367-390.
- 3) Sapolsky RM, Romero LM, and Munck AU: How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. Endocrine Rev 2000；21：55-89.
- 4) Tabuchi K, Oikawa K, Uemaetomari I, et al: Glucocorticoids and dehydroepiandrosterone sulfate ameliorate ischemia-induced injury of the cochlea. Hear Res 2003；180：51-56.

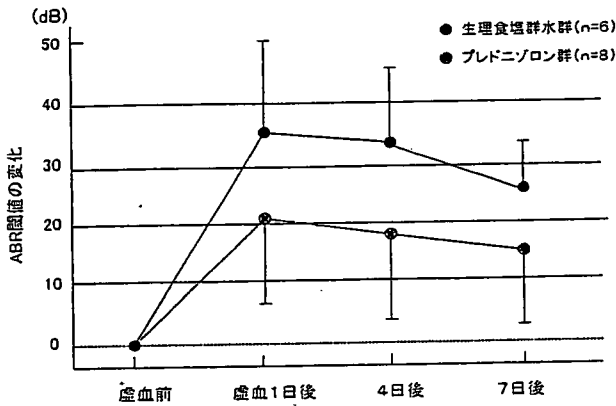


図1 ABR 閾値の推移

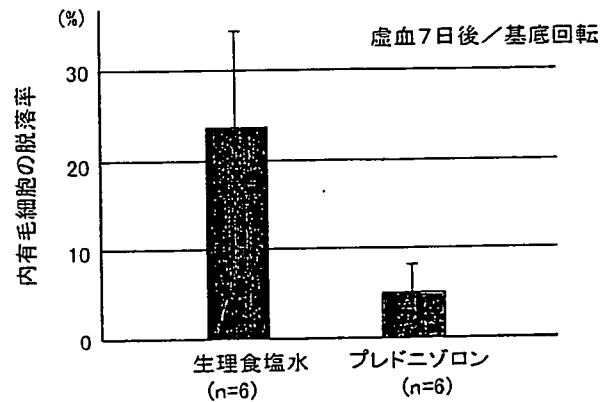
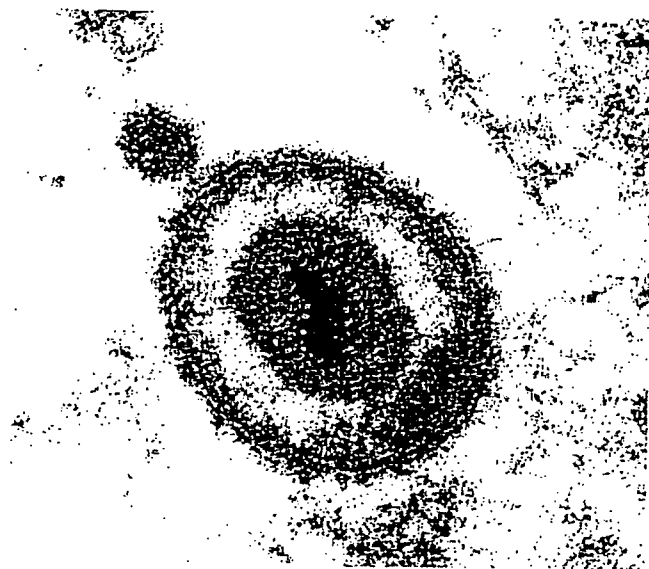


図2 虚血7日後における内毛細胞の脱落率

第V章 ウイルス性内耳炎における 虚血の関与



単純ヘルペスウイルス

突発性難聴の発症原因としてはウイルス感染・再活性化の可能性もある。本章では突発性難聴のウイルス原因説について解説するとともに、単純ヘルペスウイルスを実験動物に投与してウイルス性内耳炎を惹起し、感染を起こした内耳で循環障害が起こるかどうか検討した。

V. ウイルス性内耳炎における虚血の関与

1. ウイルス性内耳炎と虚血

【要約】突発性難聴の原因として循環障害説とならんで有力とされるウイルス説に関し、その歴史と現状について文献的考察を行った。また、従来より相反して扱われてきたウイルス説と循環障害説の接点として、「ウイルス感染を介した内耳循環障害」の可能性について文献的考察を行うとともに、単純ヘルペスウイルス (HSV) 内耳炎動物モデルにおける蝸牛血流の変化を測定した。その結果、HSV感染により蝸牛血流量は有意に減少することが明らかとなり、ウイルス感染時にも内耳循環障害が生じることが示唆された。

はじめに

突発性難聴の原因はいまだ不明であるが、古くから循環障害説とともにウイルス説が有力である。その根拠として、①本症の病理組織像がウイルス性内耳炎と類似している、②血清学的にウイルス感染が疑われる症例がある、③再発が極めて稀、などが挙げられているが、依然として特定の原因ウイルスは同定されておらず、突発的な難聴をきたすメカニズムも解明されていない。最近になりムンプス不顕性感染による突発性難聴¹⁾が報告されるなど新しい展開はあるものの、ヒトが対象となるため研究手法には限界があり、病態解明については行き詰まりの感がある。

現在、突発性難聴の治療にはステロイドの他に血流改善剤が使用されているが、その効果については明確なエビデンスが得られていない。ウイルス感染により循環障害が生じていれば血流改善剤の効果が期待できるが、循環障害がなければ投薬は意味がないことになる。現在のところウイルス性内耳炎と循環障害の関係についてはほとんど検討されていない。本章では、突発性難聴のウイルス説について文献的考察を行うとともに、モルモットの鼓室階に1型ヘルペスウイルス (Herpes-Simplex Virus-1: HSV-1) を注入して内耳血流を測定し、ウイルス性内耳炎における循環障害の関与について検討した。

突発性難聴のウイルス原因説について

1944年、de Kleyn²⁾ は原因なく突発性難聴となった20症例の聴力図を初めて報告したが、彼は発症が突発的であることから、その多くは中枢性あるいは循環障害が原因であろうと考えた。その後、Hallberg³⁾、Rasmudden⁴⁾、Fowler⁵⁾らの報告が続き、内耳虚血やウイルス感染が原因とする説が広まった。Schuknechtら^{6) 7)} は突発性難聴の側頭骨病理標本を詳細に検討し、その所見が既知のウイルス性内耳炎の所見と極めて類似していることから、本症の多くはウイルス感染（あるいはその再活性化）が原因であろうとしている。その後、Beal⁸⁾、Nomura⁹⁾、Vasama¹⁰⁾らも同様の側頭骨病理所見を報告しウイルス説を支持している。一方、側頭骨病理の結果からウイルス説に疑問を呈する報告も見られる。Nadol¹¹⁾ は突発性難聴のラセン神経節細胞数の減少は軽微であり、ウイルス性内耳炎や細菌性髄膜炎のように高度とはならないことを指摘し、既知のウイルス性内耳炎とは異なる可能性を示唆している。Merchantら¹²⁾ は突発性難聴17例の側頭骨病理を検討し、1例で血管病変を認めた以外にウイルス感染などの原因を示唆する所見はなかったとしている。このうちの2例は難聴が治癒した例であるが、内耳には障害の存在を示唆する所見は残っていなかった。これらの結果から、突発性難聴には様々な原因によるものが含ま

れており、ウイルスによるものは高度難聴例などに限られるのではないかと推察している。

ウイルスによる発症を想定し血清学的な検討も行われている。Van Dishoeckら¹³⁾は突発性難聴患者100例の前駆症状を検討したところ、40例で発熱、かぜ症状などのウイルス感染を示唆する所見がみられ、またウイルス抗体価の検討でも66例中21例でムンプスやインフルエンザウイルスなどの抗体価の有意変動がみられたとしている。Djupeslandら¹⁴⁾も急性感音難聴34例のウイルス抗体価を検討し、12例に水痘帯状疱疹ウイルス(Varicella-Zoster Virus: VZV)、単純ヘルペスウイルス(Herpes-Simplex Virus: HSV)の抗体価の有意変動を認めたとしている。Veltriら¹⁵⁾は突発性難聴77例のウイルス抗体価を検討し、このうち49例でインフルエンザ、ムンプス、ヘルペスウイルス群の変動を認めたが、ヘルペスウイルス群については他のウイルス感染により再活性化されたものと推察している。本藤ら¹⁶⁾、Wilsonら¹⁷⁾もヘルペスウイルス再活性化の可能性を指摘している。Mentelら¹⁸⁾は突発性難聴患者の血清ウイルス検査を行い、PCR法で検討したところHSVやVZVは陰性であったが、エンテロウイルスは陽性率が40%(対照群は10%)と高かったことから、本症の原因ウイルスとしてエンテロウイルスの可能性を示唆している。Garcia Berrocal¹⁹⁾もHSVやマイコプラズマ感染陽性例もみられたが少数に過ぎなかったことから、HSV原因説を否定している。Pitkarantaら²⁰⁾は本症患者にはウイルス感染に特異的とされるインターフェロン誘導性タンパク質MxAがみられないことから、ウイルス感染説に否定的な見解を取っている。いずれにしる、全ての症例に共通するウイルスは確認されておらず、発症への関わりも明確ではない。

抗ウイルス薬の効果からウイルス説を証明しようとした報告もある。Stokroos²¹⁾、Westerlaken²²⁾、Tucci²³⁾らは、抗ウイルス剤+ステロイドとステロイド単独の効果を一重盲検法で比較したが、両群間に有意差は認められなかったと報告している。Uri²⁴⁾も同様の検討を行い抗ウイルス剤の効果を否定している。抗ウイルス薬がステロイド単独と比べて治療効果を高めることができなかった理由として、①本症の原因がウイルスによるものではない、②使用し

た抗ウイルス剤が薬効を示さないウイルスであった、③投与時期が遅く薬効を示さなかった、などが考えられる。いずれにしる、突発性難聴に対する抗ウイルス剤の効果は否定されているのが現況である。

このようにウイルス説は、発症時間が特定できるような急激な発症メカニズムが不明なこと、原因となるウイルスが特定できないことなど、決め手に欠けている。

HSVによるウイルス性内耳炎動物モデル

突発性難聴の原因がウイルスであるという説の証明を困難にしている最大の障壁は、内耳検体の採取が困難なことである。原因ウイルスを特定するためには患者の内耳液や内耳組織からウイルスあるいはその関連蛋白を分離・同定することが必要であるが、検体採取は現実には不可能である。そこでウイルス感染による内耳病態の解明を目的に、動物モデルを用いた研究が行われてきた。なかでもHSVによるウイルス性内耳炎の研究が最も進んでいる。

Davisら²⁵⁾は幼若なハムスターの鼓室階にHSVを接種しウイルス性内耳炎モデルを作成した。倉田ら²⁶⁾、Nomuraら²⁷⁾もモルモットの鼓室階にHSVを接種し、全例で内耳における感染が成立し、組織学的にも蓋膜病変が強くみられたと報告している。Stokroosら²⁸⁾もモルモットの内耳にHSVを接種したところ、血管条の変性、コルチ器の破壊、蓋膜の弛緩、神経組織の炎症性変化などが認められたとし、これらの病理学的所見は突発性難聴患者の側頭骨所見と極めて類似していることから、HSVは突発性難聴の原因ウイルスの一つであろうと推察している。

ウイルス説と内耳循環障害説

ウイルス説はウイルスの感染(あるいは再活性化)が内耳に炎症を惹起し内耳組織を破壊するという学説であり、内耳循環障害説は血栓や塞栓、血管攣縮、スラッジなどで内耳に虚血が生じ内耳組織が障害されるという学説である。一見両説は相容れず、従来より全く別の障害メカニズムとして扱われてきた。しかし両者は本当に相容れない説なのだろうか? 神

経親和性ウイルスの場合、コルチ器やラセン神経節、蝸牛神経に直接的障害をもたらすが、同時に感染部位の血管にも影響を及ぼす。実際、带状疱疹ウイルスが三叉神経血管枝を介して血管壁にウイルス感染をきたし血栓形成の原因になることが知られている。このような機序でウイルス感染に際し内耳血管病変を合併している可能性は否定できない。Jaffe²⁹⁾は突発性難聴の原因としてウイルスが有力であるとした上で、その障害メカニズムとして蝸牛栄養血管の内皮細胞の損傷、赤血球破壊に伴う凝固因子の遊離、血小板凝集能の亢進などによる血栓形成の可能性を示唆し、ウイルス感染あるいはウイルス再活性化が内耳に虚血をもたらし、本症の病態形成に関与したのではないかとしている。最近では動脈硬化の原因として持続的な血管壁のウイルス感染が注目されている。これらの知見はウイルス感染と内耳循環障害の接点を示唆する。

持続的ウイルス感染による動脈硬化

動脈硬化の原因は主に生活習慣によると考えられてきたが、近年、動脈硬化患者から採取した血管壁にウイルスの存在することが報告され、動脈硬化はウイルス感染によるとの説が提唱され注目されている。2002年、Shiら³⁰⁾は剖検時に採取した大動脈の血管壁よりPCR法によるウイルスの検出を試みた。すなわち、動脈硬化のある10例と動脈硬化のない23例でヘルペス属ウイルス(HSV-1、EBV、CMV)の検出を行ったところ、いずれのウイルスも動脈硬化症例の4~8例から検出されたと報告している。彼らは、ウイルスが動脈硬化をきたす機序として、細胞接着分子、炎症性サイトカイン、凝血促進因子やスカベンジャーレセプター発現の増加、コレステロールやリポ蛋白の吸収、平滑筋細胞の増殖、抗アポトーシス効果、自己免疫反応などが促進されることを挙げている。さらにウイルス以外にも動脈硬化血管からクラミジア属やヘリコバクターピロリ菌も検出されており³¹⁾、ウイルス以外の病原体が動脈硬化発症に関与している可能性がある」と指摘している。このような動脈硬化が内耳動脈にも起こるか否かは今後の検討課題であるが、同部位からウイルスの存

在が証明されれば、突発性難聴の発症原因としてウイルス感染を介した内耳循環障害説は根拠を得ることになる。

ウイルス性内耳炎に伴う蝸牛血流変化

ウイルス感染の急性期に内耳循環障害が起こるか否かを検討する目的で、モルモットの内耳にHSVを投与してウイルス性内耳炎を惹起し、その際の蝸牛血流量の変化を検討した。

1) 対象および方法

実験動物は成熟ハートレイ系モルモット(体重: 200~250g)とし、ウイルスとしてHSV-1(KOS株 6.7×10^3 pfu/ml)を内耳に直接投与した。全身麻酔下に、背側から右側の中耳骨胞を開放し、正円窓膜経由でハミルトンガスタイトシリンジと31ゲージハイポダーミック針を用いて、鼓室階にウイルスを約100 μ l注入した。ウイルス接種7~10日後に、再び全身麻酔下に腹側より両側の中耳骨胞を開放し、レーザードブラ血流計を用いて両側の蝸牛血流量を測定した。接触型プローブを蝸牛骨壁に置き、連続して5分間、測定した。

2) 結果

予備実験(n=6)として、ウイルスの代わりにDMEMを鼓室階に注入し、DMEM注入側と非注入側の蝸牛血流量を比較したところ、DMEM注入側の蝸牛血流量の平均値は5.21ml/min(4.44-5.98ml/min)、非注入側の蝸牛血流量は平均5.29ml/min(4.62-5.96ml/min)であった。両側間の蝸牛血流量に有意な差はなく、注入手技や測定手技による蝸牛血流量の変化は見られなかった。

一方、HSV注入実験(n=6)では、非注入側の蝸牛血流量が平均5.0ml/min(3.38-6.96ml/min)であったのに対し、HSV注入側では平均3.97ml/min(2.94-6.0ml/min)であり、すべての個体において非注入側よりHSV注入側の蝸牛血流量が少なく、統計学的にもHSV注入側の蝸牛血流量は非注入側のそれに比べて有意に減少していた(図1)。

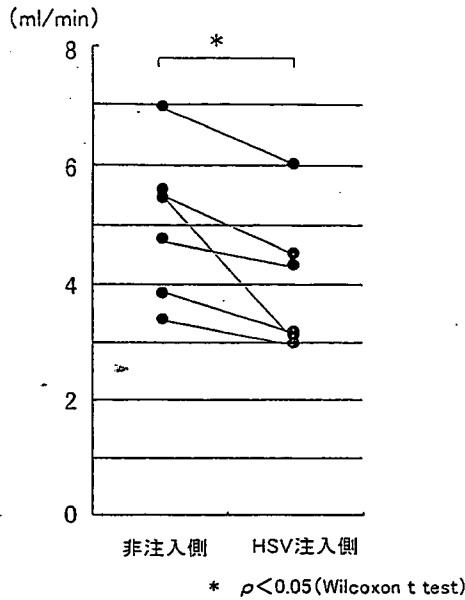


図1 HSV注入と蝸牛血流量

一側の鼓室階にHSVを注入し、7～10日後、両側の蝸牛血流量を測定した。

3) 考察

モルモットの鼓室階にHSVを接種することにより、突発性難聴に類似した組織学的変化が認められることは、既に倉田ら²⁶⁾、Nomuraら²⁷⁾により報告されている。今回、ウイルス感染が及ぼす蝸牛血流への影響を検討するために、蝸牛血流量をレーザー Doppler 血流計にて測定した。その結果、HSV感染により蝸牛血流量は有意に低下しており、ウイルス感染により内耳循環障害が起こることが示された。

おわりに

突発性難聴のウイルス原因説の歴史と現状について文献的考察を行った。また、ウイルス感染に関する最新の知見から、「ウイルス感染を介した内耳循環障害」の可能性について提唱し、血管壁の持続性ウイルス感染に伴う動脈硬化やHSV内耳炎動物モデルにおける蝸牛血流の低下などについて述べた。ウイルス感染を介した内耳循環障害が突発性難聴の一因であるか否かについては、さらなる検討が望まれる。

(寺岡正人、脇坂浩之)

参考文献

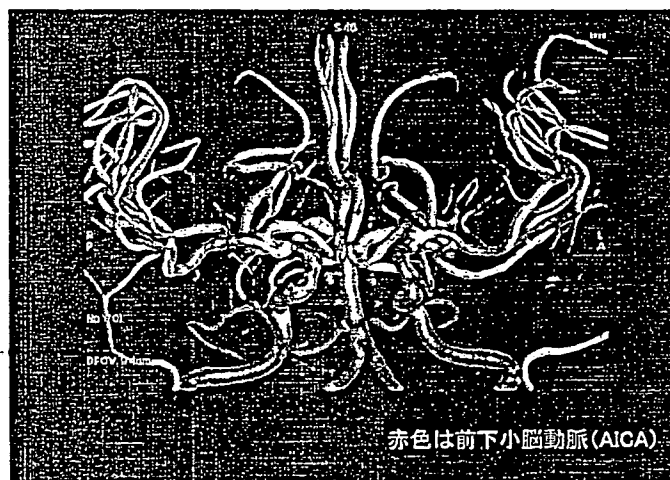
- 1) Fukuda S, Chida E, Kuroda T, Kashiwamura M, Inuyama Y : An anti-mumps IgM antibody level in the serum of idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Auris Nasus Larynx* 2001 May ; 28 Suppl : 3-5.
- 2) de Kleyn A : Sudden Complete or Partial Loss of Function of the Octavus-system in Apparently Normal Persons. *Acta Otolaryngol* 1944 ; 32 : 407-429.
- 3) Hallberg OE, Horton BT : Sudden nerve deafness : Treatment by the intra venous administration of histamine. *Proc Staff Meet Mayo Clin* 1947 ; 22 : 145-149.
- 4) Rasmussen H : Sudden Deafness. *Acta Otolaryngol* 1949 ; 37 : 65-70.
- 5) Fowler EP : Sudden deafness. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1950 ; 59 : 980-987.
- 6) Schuknecht HF, Benitez J, Beekhuis J, Igarashi M, Singleton G, et al : The pathology of sudden deafness. *Laryngoscope* 1962 ; 72 : 1142-1157.
- 7) Schuknecht HF, Kimura RS, Naufal PM : The pathology of sudden deafness. *Acta Otolaryngol* 1973 ; 76 : 75-97.
- 8) Beal DD, Hemenway WG, Lindsay JR : Inner ear pathology of sudden deafness. *Arch Otolaryngol* 1967 ; 85 : 591-598.
- 9) Nomura Y, Hiraide F : Sudden deafness (A histopathology study). *J Laryngol Otol* 1976 ; 90 : 1121-1142.
- 10) Vasama JP, Linthicum Jr FH : Idiopathic sudden sensorineural hearing loss : temporal bone histopathologic study. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2000 ; 109 : 527-532.
- 11) Nadol JB Jr. : Patterns of neural degeneration in the human cochlea and auditory nerve : implications for cochlear implantation. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1997 ; 117 (3 Pt 1) : 220-228.
- 12) Merchant SN, Adams JC, Nadol JB Jr. : Pathology and pathophysiology of idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Otol Neurotol* 2005 ; 26 : 151-160.
- 13) Van Dishoeck HA, Bierman TA : Sudden deafness and viral infection. (report of the first one hundred patients) *Ann Otol* 1957 ; 66 : 963-980.
- 14) Djupesland G, Flottorp G, Degre M, Stien R, Skrede S : Cochlear hearing loss and viral infection. *Acta Otolaryngol* 1979 ; 87 : 247-254.
- 15) Veltri RW, Wilson WR, Sprinkle PM : The implication of viruses in idiopathic sudden hearing loss : Primary infection or reactivation of latent viruses? *Otolaryngol Head Neck Surg* 1981 ; 89 : 137-141.
- 16) 本藤 良、倉田 毅、野村恭也、神崎 仁、柳田則之、他 : 突発性難聴患者における単純ヘルペスウイルスの血清学的検討 *耳鼻* 1982 ; 28 : 878-884.
- 17) Wilson WR : The relationship of the herpesvirus family to sudden hearing loss : a prospective clinical study and literature review. *Laryngoscope* 1986 ; 96 : 870-877.
- 18) Mentel R, Kaftan H, Wegner U, Reissmann A, Gurtler L : Are enterovirus infections a co-factor in sudden hearing loss? *J Med Virol* 2004 ; 72 : 625-629.
- 19) Garcia Berrocal JRG, Ramirez-Camacho R, Portero F, Vargas JA : Role of viral and Mycoplasma pneumoniae infection in idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Acta Otolaryngol* 2000 ; 120 : 835-839.
- 20) Pitkaranta A, Julkunen I : Sudden deafness : lack of

- evidence for systemic viral infection. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1998 ; 118 (3 Pt 1) : 397-399.
- 21) Stokroos RJ, Albers FW, Tenvergert EM : Antiviral treatment of idiopathic sudden sensorineural hearing loss : a prospective, randomized, double-blind clinical trial. *Acta Otolaryngol* 1998 ; 118 : 488-495.
 - 22) Westerlaken BO, Stokroos RJ, Dhooge IJ, Wit HP, Albers FW : Treatment of idiopathic sudden sensorineural hearing loss with antiviral therapy : a prospective, randomized, double-blind clinical trial. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2003 ; 112 : 993-1000.
 - 23) Tucci DL, Farmer JC Jr, Kitch RD, Witsell DL : Treatment of sudden sensorineural hearing loss with systemic steroids and valacyclovir. *Otol Neurotol* 2002 ; 23 : 301-308.
 - 24) Uri N, Doweck I, Cohen-Kerem R, Greenberg E : Acyclovir in the treatment of idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2003 ; 128 : 544-549.
 - 25) Davis LE, Johnson RT : Experimental viral infection of the inner ear. *Lab Invest* 1976 ; 24 : 349-356.
 - 26) 倉田 毅、小出純一、本藤 良、野村恭也 : モルモット内耳での実験的単純ヘルペスウイルス感染 耳鼻 1982 ; 28 : 872-877. .
 - 27) Nomura Y, Kurata T, Saito K : Cochlear changes after herpes simplex virus infection. *Acta Otolaryngol* 1985 ; 99 : 419-427.
 - 28) Stokroos RJ, AlbersFWJ, Schirm J : The etiology of idiopathic sudden sensorineural hearing loss. Experimental herpes simplex virus infection of the inner ear. *Am J Otol* 1998 ; 19 : 447-452.
 - 29) Jaffe BF : Hypercoagulation and other causes of sudden hearing loss. *Otolaryngol Clin North Am* 1975 ; 8 : 395-403.
 - 30) Shi Y, Tokunaga O : Herpesvirus (HSV-1, EBV and CMV) infections in atherosclerotic compared with non-atherosclerotic aortic tissue. *Pathol Int* 2002 ; 52 : 31-39.
 - 31) Shi Y, Tokunaga O : Chlamydia pneumoniae and multiple infections in the aorta contribute to atherosclerosis. *Pathol Int* 2002 ; 52 : 755-763.

第VI章 突発性難聴における虚血の 関与とその診断

1. 画像診断
2. 虚血関連マーカー

コラム「SNP（一塩基多型）と突発性難聴」



3D-MRA

臨床経過から虚血が原因と考えられる突発性難聴例は少なくないが、臨床的に虚血を証明することは困難である。本章では最新の医療機器や遺伝子診断技術を用いれば、突発性難聴に虚血の痕跡を捉えることが可能かを検討した。内耳栄養血管の高分解能CTやMRIによる画像診断、細胞接着分子、サイトカイン、高感度CRPなどの虚血関連マーカーの検索、虚血関連の一塩基多型による遺伝子診断などを行った。

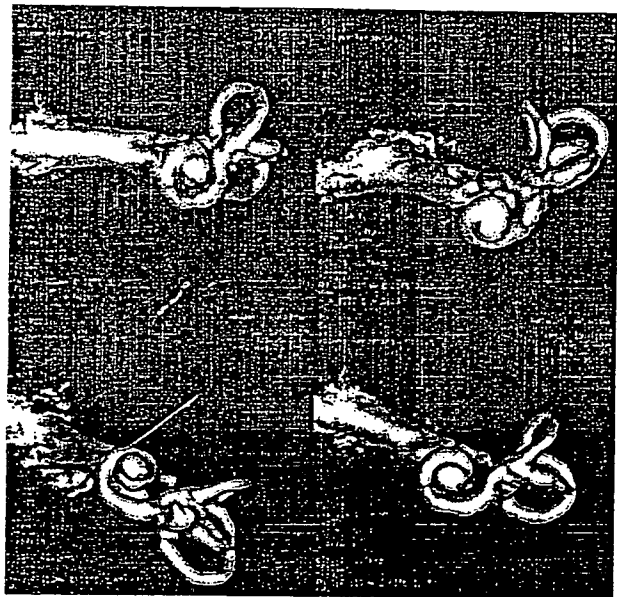


図1 3D-MRIによる内耳・内耳道の形状

3D-MRAによるAICAの検討

【対象】

上記の健常ボランティア12例24耳と2005年10月から2006年12月までの期間に同病院耳鼻咽喉科を受診し、突発性難聴と診断された24例48耳（男性11例、女性13例、年齢17～73歳、平均53.0歳）を検討対象とした。

【方法】

上記3.0T-MRIを用いて撮影した画像データから処理ソフトで3D-MRA像を作成し、得られたAICAの形状を健側と患側で比較した。



図2 頭蓋底血管の3D-MRA像

左図は健常者の3D-MRA像、右図は剖検例の頭蓋底血管を示す。

A：椎骨動脈、B：脳底動脈、C：前下小脳動脈

【結果】

3D-MRAによるAICA異常像は、片側AICAの描出不可（図3-A）、狭窄（図3-B）、対側に比して明らかに細い血管像を示す著明な左右差（図3-C）に分類された。これらの異常像は健常群では3例3耳、突発性難聴群では19例23耳にみられた。突発性難聴群において、健側の異常像は7例（29%）であったが、患側は16例（67%）と有意に多く（ $p < 0.01$ ）、突発性難聴とAICA異常像との関連が示唆された（表1）。

なお、一部の症例で前下小脳動脈から迷路動脈が分枝する部位が同定できたが、詳細な分析はできなかった（図4）。

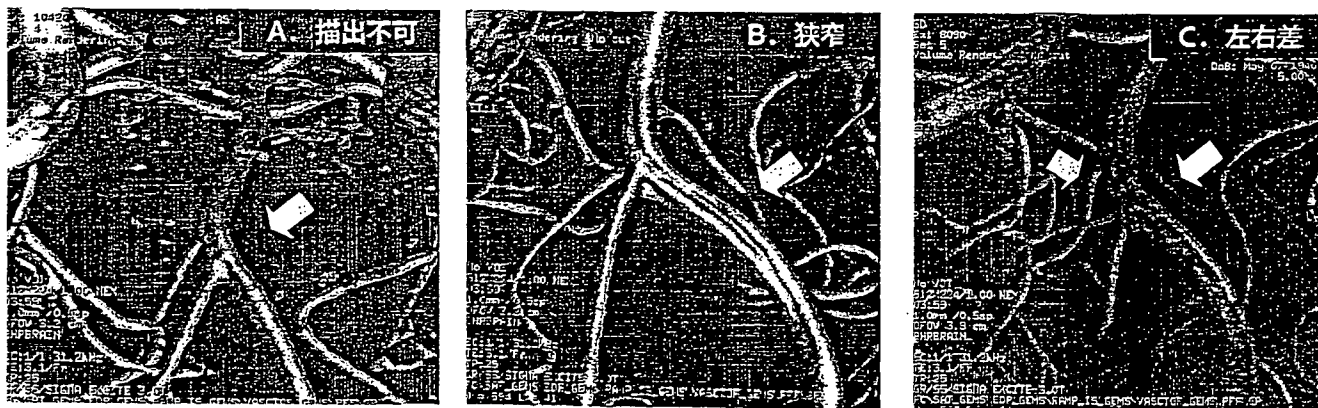


図3 MRAによる前下小脳動脈(AICA)異常像の分類

A：描出不可、B：狭窄、C：著明な左右差

考 察

突発性難聴例(24例、48耳) (耳数)

A. 描出不可		B. 狭窄		C. 著明な左右差		計	
患側	健側	患側	健側	患側	健側	患側	健側
5	4	8	3	3	0	16	7
(21%)	(17%)	(33%)	(13%)	(13%)	(0%)	(67%)	(29%)

健常者(12例、24耳) (耳数)

A. 描出不可		B. 狭窄		C. 著明な左右差		計	
3		0		0		3	
(13%)		(0%)		(0%)		(13%)	

表1 突発性難聴におけるAICA異常例の頻度

両側のAICA同定不可が1例、両側の狭窄が2例、一側のAICA同定不可と対側の狭窄が1例であった以外は一側性の異常。MRAによる異常例の頻度は健常者と比べ突発性難聴例で高い。

近年のMRIの普及に伴い、突発性難聴の病態も徐々に解明されつつある。中島ら⁴⁾は、問診にて突発性難聴を疑った症例にMRIを撮影したところ、10.7%に難聴の原因と考えられる異常が認められたと報告している。突発性難聴では内リンパ嚢がMRIで造影される割合が健側に比して高く¹²⁾、3D-FLAIR (fluid attenuated inversion recovery) 画像で患側内耳に高信号が認められる^{13) 14)}ことも少なくない。このような所見は血液迷路閉鎖の破綻やウイルス感染、内リンパ血管系の鬱血などの病変の存在を意味するが、これらがどのように病態と関連しているかなどは分かっていない。今回の3.0T MRIを用いた突発性難聴の検討ではこのような異常所見を示す例はなかった。

一方、3D-MRAによる検討ではAICAの異常所見が多くの症例で認められた。MRAは血管内血液の移動による信号の違いを画像化したものであり、血流が極端に遅い血管では描出不良となる。このため実際には血流が保たれていても、MRA画像上は血液移

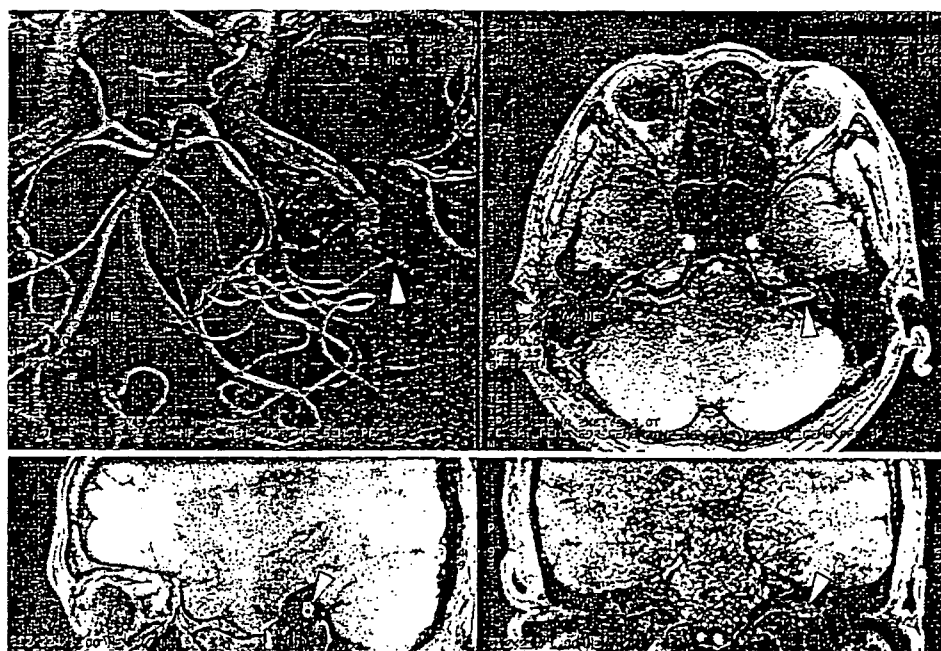


図4 MRAで同定できた迷路動脈分枝部

矢頭はAICAから分岐した迷路動脈を示す。正確な位置を示すためMRI画像上にマーク(●)が入れられている。

動の信号が見られず、血管はあたかも閉塞しているように描出される。すなわちMRAの血管閉塞像は必ずしも実際の血管閉塞を意味しない。しかし、MRAで認められた血管異常像は少なくとも血流低下や乱流の存在を示すものであり、今回のAICAの検討でも間接的に内耳虚血病変との関連が示唆された。

血管病変の診断にはMRIの2次元画像より血管自体を連続的に描出する3次元画像の方が優れている。しかし現在のMRIは、通常の血管造影法と比較しても空間分解能が低く、迷路動脈のような細い血管を鮮明に描出することは困難であり、病変診断が可能なレベルの3次元画像を得ることはできなかった。今後、MRIやMRAの技術がさらに進歩し、短時間で高解像度の血管像が得られるようになれば、内耳領域の詳細な血流動態の評価も可能となり、突発性難聴と虚血の関係もより明確になると期待される。

(本吉和美、古田口 裕)

参考文献

- 1) 長縄慎二：突発性難聴におけるMRI. ENTONI 2005 ; 54 : 55-60.
- 2) Schick B, Brors D, Koch O, Schafers M, Kahle G : Magnetic resonance imaging in patients with sudden hearing loss, tinnitus and vertigo. Otol Neurotol 2001 ; 22 : 808-812.
- 3) Shinohara S, Yamamoto E, Saiwai S, Tsuji J, Muneta Y, et al : Clinical features of sudden hearing loss associated with a high signal in labyrinth on unenhanced T1-weighted magnetic resonance imaging. Eur Arch Otorhinolaryngol 2000 ; 257 : 480-484.
- 4) 中島 務, 杉浦 真 : 突発性難聴と突発難聴・特発性難聴. 耳喉頭頸 2006 ; 78 : 199-204.
- 5) Yamasoba T, Kikuchi S, Higo R, O'uchi T, Tokumaru A : Sudden sensorineural hearing loss associated with slow blood flow of the vertebrobasilar system. Ann Otol Rhinol Laryngol 1993 ; 102 : 873-877.
- 6) Nakagawa T, Shigeta T, Takashima T, Tomiyama K : Magnetic resonance angiography evaluation of basilar artery stenosis in patients with vertebrobasilar insufficiency. Eur Arch Otorhinolaryngol 2000 ; 257 : 409-411.
- 7) Welsh LW, Welsh JJ, Lewin B, Dragonette JE : Vascular analysis of individuals with drop attacks. Ann Otol Rhinol Laryngol 2004 ; 113 : 245-251.
- 8) Lee H, Cho Y-W : Auditory disturbance as a prodrome of anterior inferior cerebellar artery infarction. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2003 ; 74 : 1644-1648.
- 9) Choi K-D, Chun J-U, Han MG, Park S-H, Kim JS : Embolic internal auditory artery infarction from vertebral artery dissection. J Neurol Sci 2006 ; 246 : 169-172.
- 10) Sirikci A, Bayazit Y, Ozer E, Ozkur A, Adaletli I, et al : Magnetic resonance imaging based classification of anatomic relationship between the cochleovestibular nerve and anterior inferior cerebellar artery in patients with non-specific neuro-otologic symptoms. Surg Radiol Anat 2005 ; 27 : 531-535.
- 11) Nakashima T, Naganawa S, Sone M, Tominaga M, Hayashi H, et al : Disorders of cochlear blood flow. Brain Res Rev 2003 ; 43 : 17-28.
- 12) 中島 務 : 感音難聴の画像診断 - MRIとCT -. 耳鼻臨床 2004 ; 97 : 843-852.
- 13) Sugiura M, Naganawa S, Teranishi M, Nakashima T : Three-Dimensional fluid-attenuated inversion recovery magnetic resonance imaging findings in patients with sudden sensorineural hearing loss. Laryngoscope 2006 ; 116 : 1451-1454.
- 14) Otake H, Sugiura M, Naganawa S, Nakashima T : 3D-FLAIR magnetic resonance imaging in the evaluation of mumps deafness. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 2006 ; 70 : 2115-2117.

VI. 突発性難聴における虚血の関与とその診断

2. 虚血関連マーカー

【要約】 突発性難聴における血管炎の関与を検討する目的で、発症後7日以内の未治療例における血液中の虚血関連マーカー（血管障害マーカー）の測定を行った。検討対象とした13例のうち、細胞接着因子であるVCAM-1は4例（30.8%）で、ICAM-1は3例（23.1%）で高値を示した。炎症性サイトカインについてはIL-1 β が2例で、TNF- α が1例で高値を示したが、IL-6が上昇した例はなかった。単球走化性因子であるMCP-1も高値を示した例はなかった。一方、非特異的炎症マーカーである高感度CRPは13例中2例（15.4%）が高値を示した。これらの結果から、突発性難聴の発症に血管炎が関与する場合もあるが、その頻度は低いと考えられた。

はじめに

近年の血管学研究の進歩に伴い、動脈硬化をはじめ種々の血管病変の原因として炎症が重要な役割を果たすことが分かってきた¹⁾²⁾。特に冠動脈や大血管領域の血管病変は炎症による血管内皮細胞障害が主因とされ³⁾⁴⁾、血液中の炎症性マーカーと冠動脈疾患との関連が示唆されている。非特異的炎症マーカーであるCRP（C-reactive protein）の高値は冠動脈疾患の危険因子であり⁵⁾⁶⁾、また細胞接着分子であるVCAM-1（vascular cell adhesion molecule-1）やICAM-1（intercellular adhesion molecule-1）も冠動脈疾患において高値を示すことが報告されている⁷⁾⁸⁾。

内耳領域では迷路動脈など細動脈にも血管内皮細胞が存在しており、この部位の血管障害は突発性難聴の原因となりうる。もし血管障害による内耳虚血が原因なら、突発性難聴患者でも炎症性の血管障害マーカーが上昇している可能性がある。そこで発症早期の突発性難聴患者において虚血関連マーカー（血管障害マーカー）を測定し、本症における虚血の関与について検討した。

方 法

平成18年4月から同年12月までの間に愛媛大学医学部附属病院、あるいは愛媛県立中央病院、松山赤十字病院、鷹の子病院の各耳鼻咽喉科を受診し、本研究に同意が得られた発症後7日以内の突発性難聴の未治療患者13名を対象とした。患者から末梢血10ccを採血して血清を分離、凍結後、以下の測定を行った。すなわち、細胞接着分子としてVCAM-1とICAM-1を、炎症性サイトカインとしてIL-1 β （interleukin-1 β ）とIL-6（interleukin-6）、TNF- α （tumor necrosis factor- α ）を、さらに血管障害関連蛋白である単球走化性因子MCP-1（monocyte chemoattractant protein-1）と非特異的炎症マーカーである高感度CRP（C-reactive protein）を測定した。なお、本研究の実施に当たっては愛媛大学医学部臨床研究倫理審査委員会の承認を得た。

結 果

測定結果ならびに正常値を表1に示す。VCAM-1は13例中4例（30.8%）、ICAM-1は3例（23.1%）で高値を示した。それぞれの平均値を正常値と比較すると、VCAM-1は正常値よりやや高い傾向にあったが、ICAM-1は差がなかった。炎症性サイトカイン

症例	性別	年齢	聴力(dB)		細胞接着分子		炎症性サイトカイン			非特異的炎症マーカー	
			初診時	最終時	VCAM-1	ICAM-1	IL-1 β	IL-6	TNF- α	高感度CRP	MCP-1
1	女	72	63	35	2090	385	<10	1.2	<5	0.08	335
2	男	50	99	46	644	134	<10	0.7	<5	0.05	240
3	女	60	63	30	426	183	<10	1.2	<5	0.31	182
4	男	36	54	47	446	203	<10	1.0	<5	0.08	259
5	女	67	40	20	670	139	<10	0.7	<5	0.02	225
6	男	56	50	40	486	129	<10	1.2	<5	0.38	223
7	女	68	69	63	494	103	52	1.3	<5	0.02	298
8	男	61	46	19	935	296	<10	0.8	<5	0.02	227
9	女	54	41	37	695	186	<10	0.8	<5	0.08	213
10	女	72	49	20	886	206	36	0.9	<5	0.02	209
11	男	78	54	50	814	442	<10	2.4	<5	0.05	204
12	女	78	32	23	466	188	<10	1.8	41	0.00	226
13	女	32	27	18	370	177	<10	0.4	<5	0.12	218
正常値					557 \pm 140	211 \pm 45	<10	<4	<5	<0.15	370 \pm 176

表1 突発性難聴における虚血関連マーカーの測定結果

検査値が異常高値を示した例は赤字で示した。

ンでは、IL-1 β が13例中2例(15.4%)、TNF- α が1例(7.7%)で高値であった。IL-6は全例が正常範囲内であった。今回検討した3種類の炎症性サイトカインに関しては、有意な上昇はないと考えられた。また、単球走化性因子であるMCP-1の測定値は全例が正常範囲内であったが、CRPは13例中2例(15.4%)が高値を示した。これら2種類のマーカーについても有意な上昇はないと考えられた。

考 察

本研究では発症早期の突発性難聴患者において虚血関連マーカーを測定し、本症発症に炎症性血管障害が関与する可能性について検討した。その結果、検討項目全体としては異常値を示した症例は少なかったが、一部の症例ではマーカー値の上昇がみられた。

今回の検討でVCAM-1は13例中4例(30.8%)において高値を示した。VCAM-1は動脈硬化病巣の血管内皮細胞に発現して白血球と結合する接着分子

として発見された³⁾。高コレステロール血症ウサギモデルによる動脈硬化病変の研究から、VCAM-1はP-セレクチンとともに炎症刺激などで血管内皮細胞膜上に発現し、単球やマクロファージ、リンパ球に接着してこれらの細胞を血管内皮下へ誘導する作用を有している⁹⁾。これにより、動脈硬化発症の初期の過程で重要な役割を果たすと考えられる。VCAM-1高値が突発性難聴の病態を反映しているとするれば、炎症刺激で内耳栄養動脈の血管内皮にVCAM-1が発現し、白血球を内皮下に誘導して血管狭窄や閉塞に至った可能性がある。

一方、炎症性サイトカイン(IL-1 β 、IL-6、TNF- α)のいずれかの上昇がみられたのは3例のみで、単球走化因子であるMCP-1も全例が正常範囲内であった。IL-1 β やIL-6は単球からマクロファージへの分化誘導を促進するサイトカインとして知られており、男性においては心筋梗塞の危険因子として報告されている¹⁰⁾。今回の検討で突発性難聴におけるこれらの因子の発現頻度は低かった。これは少なくとも突発性難聴が全身的な血管障害に起因する疾患ではない

ことを意味する。また、マクロファージの貪食を要するほどの血管内皮の炎症をきたす例が少なかったことや、末梢血の検査で軽微な炎症が捉えられなかったことも考えられる。

急性相反応蛋白であるCRPは2例(15.4%)で軽度高値を示したが、ほとんどの症例は正常範囲内であった。CRPはCa²⁺の存在下で肺炎球菌のC多糖体と沈降反応を示す蛋白として発見された。当初、肺炎に高い特異性を示すと考えられたが、現在では微量のCRPは健常人にも存在することが明らかとなった。近年、CRPの測定はラテックス凝集免疫測定法などの導入で感度が高まり(高感度CRP)、急性組織障害の有用な指標として臨床各分野で幅広く用いられている。一般に、CRPは炎症や組織破壊性病変の発生後12時間以内に急激に増加する。また組織障害が強いほどCRPの上昇は大きく、上昇期間も長い。今回、突発性難聴例で高感度CRPの検討を行ったが、高値を示す例は限られていた。陽性例が低かった理由として、発症後7日以内の症例を対象としたため、採血時にすでに組織破壊性病変が終息していたことが挙げられる。また、微小な蝸牛障害の場合にはCRP上昇として捉えることが難しいためとも考えられる。

今回、突発性難聴患者を対象として血管障害時に上昇するマーカーについて検討を行ったが、有意な上昇を認めた例は少なかった。したがって炎症性血管障害が突発性難聴に関与するとしても一部の症例に限られると結論した。

(高橋宏尚)

参考文献

- 1) Ross R : Atherosclerosis-an inflammatory disease. N Engl J Med 1999 ; 340 : 115-126.
- 2) Takakura N, Watanabe T, Suenobu S, Yamada Y, Noda T, et al : A role for hematopoietic stem cells in promoting angiogenesis. Cell 2000 ; 102 : 199-209.
- 3) Cybulsky MI, Gimbrone MA Jr : Endothelial expression of mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherosclerosis. Science 1991 ; 251 : 788-791.
- 4) Werner SW, Walton JA, Hsia HH, Nabel EG, Sanz ML, et al : Evidence of endothelial dysfunction in angiographically normal coronary arteries of patients with coronary artery disease. Circulation 1989 ; 79 : 287-291.

- 5) Danesh J, Whincop P, Walker M, Lennon L, Thomson A, et al : Low grade inflammation and coronary heart disease prospective study and updated meta-analyses. BMJ 2000 ; 321 : 199-204.
- 6) Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N : C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. N Engl J Med 2000 ; 342 : 836-843.
- 7) Shyu KG, Chang H, Lin CC, Kuan P : Circulating intercellular adhesion molecule-1 and E-selectin in patients with acute coronary syndrome. Chest 1996 ; 109 : 1627-1630.
- 8) Hwang SJ, Ballantyne CM, Sharrett AR, Smith LC, Davis CE, et al : Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases : the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. Circulation 1997 ; 96 : 4219-4225.
- 9) Sakai A, Kume N, Ochi H, Tanoue K, Miyasaka M, et al : P-selectin and VCAM-1 are focally expressed in hypercholesterolemic rabbits prior to intimal accumulation of macrophages and T lymphocytes. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1997 ; 17 : 310-316.
- 10) Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH : Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. Circulation 2000 ; 101 : 1767-1772.

SNP (一塩基多型) と突発性難聴

はじめに

ヒトゲノムは、約30億の塩基対から成る「生命の設計図」である。これまでヒトゲノムの中には、蛋白質合成をプログラムする2万3千種類の遺伝子が特定されている。遺伝子には個人差が存在し、ゲノム上の同じ箇所、同じ遺伝子で塩基配列を比較すると、個体間で異なる塩基が存在する。その違いが「遺伝子多型」である。遺伝子多型の中でも、1塩基の違いをSNP (single nucleotide polymorphism、一塩基多型) と呼び、ヒトの遺伝子領域には50万ヶ所のSNPが存在すると考えられている。これが体質の個人差を規定しており、例えば髪の毛や目の色、お酒の強さ、病気の罹りやすさが個人で異なることとなる。このSNPを解析することで、疾患関連遺伝子を特定する研究が、多くの疾患で現在進行中である。

研究方法

SNP研究は、血液サンプルから抽出したDNAを用い、局所疾患に対する解析が可能である特徴を持つ。愛媛大学耳鼻咽喉科にて突発性難聴と診断した20例と、健常者コントロール20例から血液を各3ml採取し、DNAを抽出後、虚血関連の17種類のSNPを検討した。各症例の塩基差を判定する「SNPタイピング」は島津製作所・ジェノミックリサーチ室に依頼した。「SNPタイピング」とは、例えばA (アデニン) とG (グアニン) から構成されるSNPでは、A/A、A/G、G/Gのいずれの遺伝子型かを特定する作業で、疾患群とコントロール群間に生じる遺伝子型頻度の差を検討するものである。検討したSNPの一覧を表1に示す。蛋白質リン酸化酵素PRKCH、腫瘍壊死因子TNF α 、単核球化誘引蛋白MCP1、細胞接着因子ICAM1、アンジオテンシン転写酵素ACE、コレステロールアセチルトランスフェラーゼSOAT1、グルコースリン酸イソメラーゼGPIB、プラスミノゲン活性インヒビターPAI-1、ウロキナーゼプラスミノゲン活性因子uPAの各項目に関し、既知の主たるSNPを解析した。

結果

SNP解析の結果を表1に示す。サイトカイン遺伝子であるTNF α やMCP1、受容体遺伝子であるICAM1、血栓関連遺伝子であるACE、SOAT1、GPIB、PAI-1、uPAに関しては、遺伝子型頻度に、突発性難聴群とコントロール群間で統計学的に有意差を認めなかった。唯一、有意差を認めたのはプロテインキナーゼC (PKC) の発現に関与する遺伝子であるPRKCHであった。このSNPはAとGの塩基配列が、AA、AG、GGの3タイプあり、突発性難聴患者ではAA: 2例、AG: 8例、GG: 9例であったのに対し、健常者コントロールではAA: 0例、AG: 5例、GG: 14例と、突発性難聴患者は健常者に比べ、A塩基を持つ頻度が2倍であった。

考察

今回のSNP解析からは、PRKCHが突発性難聴発症の関連遺伝子と考えられる。言い換えれば、突発性難聴の一部は遺伝病であるという新事実が、本研究で明らかとなった。PRKCHはPKCの発現遺伝子であり、このG→A塩基のSNPが突発性難聴の発症に関与しているのであろう。PKCは細胞内シグナル伝達において中心的役割を担っている蛋白質リン酸化酵素で、様々な経路で虚血性疾患に関与することが明らかとなっている。まず、アテローム性動脈硬化ではその進行に伴い、血管内皮細胞や泡沫状マクロファージでのPKC発現レベル増強が観察されている。また、くも膜下出血後にはPKCの活性化を通じて血管平滑筋が持続収縮し、脳血管攣縮が発生することも明らかとなっている。2007年1月のNature Geneticsに掲載された脳梗塞に関する九州大学と理化学研究所の共同研究では、ラクナ梗塞がこのPKC (PRKCH) に有意に関連していることが明らかにされた¹⁾。この研究では、九州大学の脳梗塞患者と福岡県久山町の健常者、各1126人のSNPを比較し、ラクナ梗塞について分析すると、PRKCHのA塩基の頻度が梗塞患者で1.66倍高率であった。ラクナ梗塞は、

(つづく)