

Table 1 Identified deafness genes

| Autosomal dominant loci and genes | | | |
|------------------------------------|------------|---------------------|---------|
| DFNA1 | DIAPH1 | DFNA11 | MYO7A |
| DFNA2 | Cx31/KCNQ4 | DFNA13 | COL11A2 |
| DFNA3 | Cx26/Cx30 | DFNA15 | POU4F3 |
| DFNA4 | MYH14 | DFNA17 | MYH9 |
| DFNA5 | DFNA5 | DFNA20/26 | ACTG1 |
| DFNA6/14 | WFS1 | DFNA22 | MYO6 |
| DFNA8/12 | TECTA | DFNA28 | TFCP2L3 |
| DFNA9 | COCH | DFNA36 | TMC1 |
| DFNA10 | EYA4 | DFNA48 | MYO1A |
| Autosomal recessive loci and genes | | | |
| DFNB1 | Cx26/Cx30 | DFNB21 | TECTA |
| DFNB2 | MYO7A | DFNB22 | OTOA |
| DFNB3 | MYO15 | DFNB23 | PCDH15 |
| DFNB4 | SLC26A4 | DFNB28 | TRIOBP |
| DFNB6 | TMIE | DFNB29 | CLDN14 |
| DFNB7/11 | TMC1 | DFNB30 | MYO3A |
| DFNB8/10 | TMPRSS3 | DFNB31 | WHRN |
| DFNB9 | OTOF | DFNB36 | ESPN |
| DFNB12 | CDH23 | DFNB37 | MYO6 |
| DFNB16 | STRC | DFNB67 | TMHS |
| DFNB18 | USH1C | | |
| X-linked loci and genes | | Mitochondrial genes | |
| DFN3 | POU3F4 | 12S rRNA | |
| | | tRNASer(UCN) | |

nonsyndromic type which is not associated with other clinical features accounts for the other 70%. Nonsyndromic hearing loss can be classified into 4 groups by the inheritance pattern, and relatively common clinical features have been noted for each inheritance pattern with a few exceptional genes, genotypes, and patients. Patients with autosomal dominant inheritance typically show progressive SNHL which begins in age 10-40, and the degree of hearing loss is various while patients with autosomal recessive inheritance most frequently show congenital and severe hearing loss. Patients with mitochondrial inheritance tend to develop progressive SNHL which begins in age 5-50, and the degree of hearing loss is various. Autosomal recessive inheritance accounts for 80% of congenital nonsyndromic hereditary hearing loss, and autosomal dominant inheritance accounts for most of the other 20%. X-linked and mitochondrial inheritance accounts for only 1-2%. After aging, the prevalence of autosomal dominant inheritance and mitochondrial inheritance increases while that of autosomal recessive inheritance decreases. The precise prevalence of each inheritance pattern is not known for adults because of the difficulty in sampling and excluding the effect of age-related hearing loss.

Deafness Genes

The first nonsyndromic deafness gene was discovered in 1993.⁵ Since then, more than 100 loci for deafness genes have been determined, and more than 40 genes were identified (**Table 1**). Most of these genes play their roles within the cochlea. Thus, hereditary hearing loss almost exclusively features cochlear dysfunction.^{1,2}

Although many genes are known for nonsyndromic hearing loss, only a few genes including GJB2, GJB6, SLC26A4 accounts for over one third of patients with congenital hearing loss. Mutations in GJB2 account for 50% of patients with autosomal recessive hearing loss, i.e. 20% of all congenital hearing loss.^{6,7} GJB2 encodes connexin 26, a gap junction protein expressed in the cochlea. Gap junctions are intercellular channels allowing recycling of potassium ions from hair cells to the stria vascularis in the cochlea and maintains a high endocochlear potential which is of critical importance for normal hearing. Mutations in GJB2 show considerable phenotypic variation, but genotype-phenotype studies showed that it is possible to predict the hearing loss associated with GJB2 mutations based on the specific genotype.⁸ Combination of mutations in GJB2 and closely linked GJB6, in digenic transmission, accounts for about 8 % of deaf patients with GJB2.⁹ GJB6 is a gene with sequence similarity to GJB2, is also expressed in the cochlea, and its product, connexin 30, can form gap junction with connexin 26, explaining digenic transmission of GJB2 and GJB6.

With regard to syndromic hearing loss, more than 300 forms have been characterized. In many forms, several genes that can cause the same phenotype or a closely related phenotype have been identified. In syndromic hearing loss, hearing loss is most frequently caused by dysfunction of the cochlea but the middle ear and the outer ear are also frequently involved. The most common form of syndromic hereditary SNHL is Pendred syndrome which is characterized by SNHL, bilateral dilatation of vestibular aqueduct with or without cochlear hypoplasia, and goiter. Majority of patients with Pendred syndrome have mutations in SLC26A4, and these mutations also cause nonsyndromic SNHL.^{10,11} Pendred syndrome accounts for 3 % of all congenital hearing loss and mutations in SLC26A4 including those causing nonsyndromic SNHL account for 7 % of all deaf children at age of 4 years.² SLC26A4 encodes a chloride-iodide cotransporter and is critical for maintaining endolymphatic ion homeostasis, which is essential to normal inner ear function.

Mutations in mitochondrial DNA are rarely detected in congenital hearing loss, but its prevalence in patients with SNHL increases with aging. A1555G or A3243G mitochondrial DNA mutations are found in approximately 6 % of adult patients with SNHL without known causes, and both mutations cause cochlear dysfunction.

tion.^{12,13} A3243G mitochondrial DNA mutation cause not only nonsyndromic SNHL but also syndromic SNHL such as MELAS (mitochondrial encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes) and MIDD (maternally inherited diabetes and deafness). A1555G mitochondrial DNA mutation causes rapidly progressive SNHL which leads to severe degree in patients with the onset of SNHL before age 10 and slowly progressive or nonprogressive SNHL which leads to mild to moderate degree in patients with the onset after age 10.¹⁴ A3243G mitochondrial DNA mutation causes progressive SNHL which leads to moderate to severe degree in patients who developed hearing loss during adulthood.

Unique Clinical Aspects of Hereditary Hearing Loss

Hereditary hearing loss is unique compared to other hereditary diseases in the following three points. First, a large number of genes are involved in hereditary hearing loss, which makes it very difficult to identify causes and pathological mechanism in clinical practice. Second, without speech and language rehabilitation, hearing loss not only impedes audition but also hampers normal development of speech and language. Without speech and language, it is almost impossible to maintain good social relationship in the society of people with normal hearing. Thus, educational intervention is required in addition to medical intervention for children with SNHL. Third, congenital deaf children can learn and manage to communicate with others if early diagnosis of hearing loss followed by adequate rehabilitation can be made. Even severe hearing loss can be restored very effectively by hearing aids or cochlear implants coupled with early rehabilitative training in patients with hereditary hearing loss.¹⁵ In most hereditary diseases, this level of functional restoration has not been possible yet. This feature lead to the worldwide implementation of universal newborn hearing screening which aims to screen neonates for hearing loss immediately after birth or before hospital discharge so that intervention can be initiated to prevent delayed language acquisition. Because of these unique clinical aspects of hereditary hearing loss, genetic testing of SNHL has high value in the otological approach to this disorder. Identification of genetic causes provides a key to understand the mechanism of hearing loss, leads to better management of hearing loss, and facilitates functional recovery by effective rehabilitation.

Strategy for Genetic Testing of Hearing Loss

Genetic testing of SNHL is conducted in several institutes worldwide including our institute, and the strategy is various among different institutes. In our institute, it consists of the following 3 steps; 1) identification of candidate patients who are suspected of having hereditary hearing loss, 2) identification of candidate genes to be

tested, and 3) identification of causative mutations in the suspected genes.

Our criteria for candidate patients are patients presenting with bilateral hearing loss without known causes except for heredity. Unilateral hearing loss is included only when hearing loss is associated with specific types of anomaly in the inner ear, middle ear, or outer ear.

Candidate genes for syndromic hearing loss are determined by clinical diagnosis of syndromic hearing loss based on associated clinical symptoms. Usually, only one or a few candidate genes are responsible for each syndrome. Syndrome may be classified into subclasses based on the different expression of phenotypes, and diagnosis of subclasses may further narrow down candidate genes. On the other hand, it is very difficult to determine candidate genes for nonsyndromic hearing loss, and often impossible because of a large number of causative genes for a relatively undistinguishable phenotype, i.e. SNHL. Part of deafness genes for nonsyndromic hearing loss demonstrates unique auditory features or other clinical features in CT imaging of inner ear, electrophysiological testing, or inheritance pattern. For those genes, we are making an algorithm indicating the genes which should be tested and the order of the genetic tests based on clinical features and the results of genetic tests. After all the clinical examinations and tests for hearing loss, we determine the candidate genes and the order of genetic analysis according to the established algorithm (Fig. 1). This strategy is named systematic genetic testing for deafness, and tentative algorithm is currently used in our institutes to evaluate the sensitivity, specificity, and efficiency for clinical use.

Identification of causative mutations is mostly done with direct sequencing of the candidate genes using DNA extracted from blood samples. All exons and its flanking short sequences in introns are sequenced and analyzed for mutations. For large genes in which pathological mutations are mostly distributed within the restricted regions, sequencing may be done for the restricted region. In contrast, for several large genes with ubiquitous distribution of pathological mutations over entire region, screening by degenerate HPLC are first conducted, and sequencing analysis can be done only for the regions which showed abnormal screening results. For a few genes in which mutations are limited to only one or two frequent changes, restriction fragment length polymorphism PCR analysis is performed to detect the specific mutations. With the astonishing progress in the speed of sequencing machines, sequencing of whole human genome will be practically available in several years, first in laboratories, then in clinics. This may fundamentally change the way of genetic testing for SNHL.

Feedback to Patients

Discovery of many deafness genes had a significant

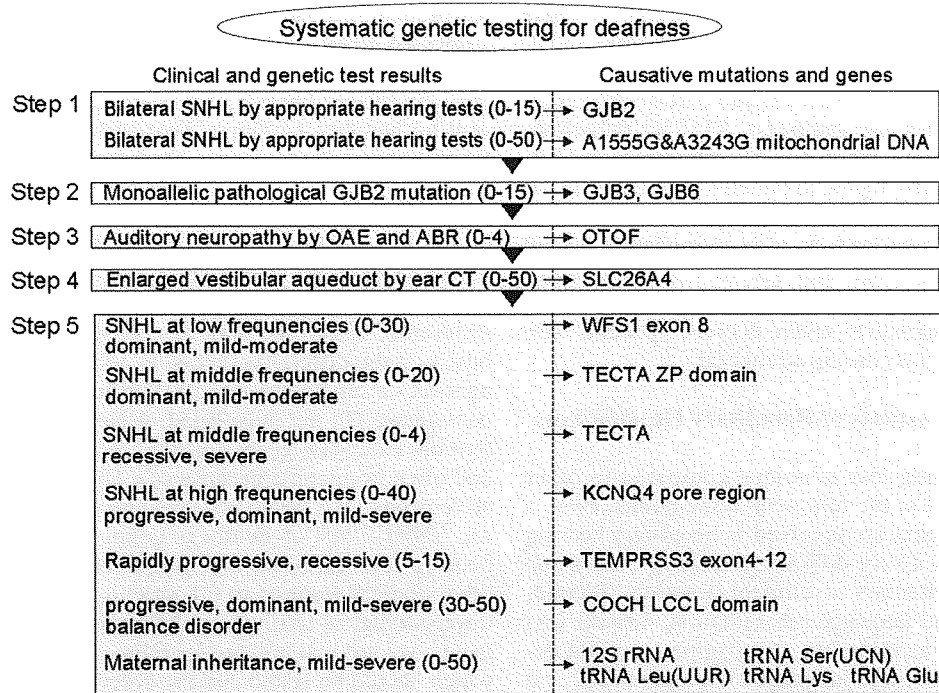


Fig. 1 Our original algorithm for systematic genetic testing for deafness in patients who are suspected of nonsyndromic SNHL (sensorineural hearing loss). Based on the clinical or genetic test results shown in the left column, candidate mutations or genes listed in the right column are determined. Corresponding mutations or genes for each clinical or genetic category are indicated by horizontal arrows. Genetic tests start from Step 1. If causative mutations are not determined or an indicated category does not fit for a patient, genetic tests proceed to the next step until causative mutations are determined or no appropriate category is found. Genes examined for specific exons, regions or domains are described with short explanatory tags, and those examined for all exons are described without explanation. Numbers in parenthesis indicate periods of age at onset of SNHL.

impact on the otological approach to patients with SNHL. First, explanation of the cause of SNHL to deaf patients or parents of deaf children has become possible in many cases. Without definite explanation, patients tend to visit other hospitals seeking for explanation and repeat redundant tests or treatments and feel anxiety about what is related to deafness of themselves or their children and whether other disability is also present but not detected. These lead to delay of rehabilitation which should be initiated immediately after diagnosis of hearing loss for effective acquisition of language and speech.¹⁶ Thus, early and definite explanation by genetic tests facilitates rehabilitation.

Second, identification of causative mutations helps doctors to predict auditory features such as audiogram of the patients and prognosis of their hearing, especially in children who cannot cooperate with subjective hearing tests. This provides valuable information in making adequate planning of clinical follow-up, estimation of hearing levels for fitting hearing aids, and selection of occupation by patients.¹⁷

Third, prevention of deafness can be done by avoiding use of specific drugs or specific activities in genetically

susceptible patients. As an example, patients with A1555G mitochondrial DNA mutation should avoid aminoglycosides which induce or aggravate SNHL by even one injection in subjects with this mutation.¹⁸ Another example is that detection of SLC26A4 suggests dilatation of vestibular aqueduct even in neonates who are usually not tested for inner ear anomaly by CT or MRI. Patients with this mutation should have temporal bone CT and patients who are found to have dilatation of vestibular aqueduct should avoid activities in which physical shock on their head is likely to occur. This is because such a shock tends to cause aggravation of SNHL in these patients.

Fourth, identification of causative mutations in patients with syndromic hearing loss enables prevention or early detection of associated symptoms. These examples include diabetes mellitus in patients with A3243G mitochondrial DNA mutation and goiter in patients with SLC26A4 mutations. Early detection and management of these associated symptoms help to prevent disorders related to the associated symptoms such as diabetic retinopathy for diabetes mellitus, and facilitate early recovery from symptoms such as hypothyroidism. Because

occurrence of associated symptoms may delay more than 10 years after the onset of SNHL, many patients and even doctors who see those patients cannot notice the association of the symptoms with SNHL, and unnecessary or even harmful tests tend to be done for the diagnosis. Thus, it would be worthwhile to understand the associated symptoms and prepare the risk of manageable disorders at the time of diagnosis of SNHL. In addition, genetic tests may be valuable in substituting more stressful tests. For an example, renal biopsy and/or skin biopsy are currently necessary for diagnosis of Alport syndrome which is a hereditary nephritis associated with SNHL, and this procedure usually requires hospitalization and has a certain physical risk. Mutations in COL4A3, COL4A4, COL4A5, and MYH9 are known causes of Alport syndrome, but genetic tests of these genes are currently rarely available as a clinical test mainly because of an extremely high cost. Several laboratories in the world including my laboratory offer these tests as a research basis. With remarkable advances in genetics, increase of sensitivity and specificity and decrease of costs for genetic analysis are in progress. In the near future, diagnosis of Alport syndrome may be first done by clinical genetic tests, and renal and skin biopsy may be avoided in many patients.¹⁹

Fifth, identification of causative mutations clarifies the cell types and nature of damages which are responsible for SNHL, which is especially important for indication of cochlear implant surgery. Because spiral ganglion neurons which are necessary for successful cochlear implants are well preserved in most types of hereditary hearing loss, identification of mutations in the deafness genes usually indicates good indication for cochlear implant surgery. This is most helpful in babies who cannot cooperate detailed audiological tests for evaluation of SNHL.

Identification of causative mutations is also important for clinical management of patients with auditory neuropathy. Auditory neuropathy is a distinct type of SNHL which features normal outer hair cell function and abnormal activities of auditory neurons, and a relatively frequent cause of congenital SNHL (~15%). Development of speech and language cannot be expected by hearing aids in congenital auditory neuropathy because of poor speech recognition inherent in this disorder. Either inner hair cells or spiral ganglion neurons are affected, but current clinical tests cannot distinguish these two types. Because normal spiral ganglion neurons are necessary for success of cochlear implants, pathology underlying SNHL needs to be determined in order to evaluate the indication of cochlear implant surgery. Recent studies have shown that mutations in OTOF cause auditory neuropathy by inner hair cell dysfunction and that spiral ganglion neurons are normal in patients with these mutations.²⁰ In agreement with the pathological mechanism of mutations in OTOF, results of cochlear implants have

been successful.²¹ According to the recent studies, OTOF mutations may account for majority of congenital auditory neuropathy.²² Thus, the genetic test for OTOF mutations in patients with auditory neuropathy is of high clinical importance.

Sixth, identification of causative mutations significantly helps to provide adequate genetic counseling which primarily concerns planning of pregnancy and delivery with the information of a recurrence risk. Prenatal genetic diagnosis of nonsyndromic SNHL is not conducted in most countries because of ethical issues. For syndromic SNHL which is associated with severe symptoms other than SNHL, prenatal diagnosis may be considered.

Future Expectation of the Use of Genetic Testing in Therapeutics

Although hearing aids or cochlear implants can significantly restore hearing in patients with SNHL, quality of restored hearing is quite different from original or normal hearing. These instruments are made to help remaining functions of the damaged inner ear, but future therapeutics aims at complete recovery of the inner ear. Because current clinical diagnostic modalities cannot identify which parts or cells in the inner ear is damaged, therapeutic approach targeting at specific parts or cells in the inner ear has not been used. Identification of damaged cells in the inner ear and the underlying mechanism by genetic testing undoubtedly facilitates development and introduction of novel and specific therapies to distinct types of SNHL.

As one of such therapies, we have established novel therapeutic approaches targeting at cochlear fibrocytes which are essential for normal hearing and involved in various type of SNHL including certain types of hereditary SNHL, age-related SNHL, noise-induced SNHL, and Meniere's disease. A rat model of SNHL due specific to cochlear fibrocytes was made by treatment with a mitochondrial toxin, 3-nitropropionic acid (3-NP), at a round window of inner ear.²³ Histological and molecular analysis in this model revealed caspase-mediated apoptosis in the cochlear fibrocytes.²⁴ As the therapy during acute phase of SNHL due to damages on cochlear fibrocytes, we used a general administration of caspase inhibitor, Z-VAD-FMK, to inhibit apoptosis.²⁵ This chemical, when administered before 3-NP treatment, almost completely inhibited 3-NP induced apoptosis of cochlear fibrocytes without obvious side effects and significantly improved the hearing level. Administration of Z-VAD-FMK after 3-NP treatment also showed significant inhibition of apoptosis and improvement of hearing. As the therapy during chronic phase of SNHL due to damages on cochlear fibrocytes, we used transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells into the inner ear in this animal model.²⁶ Histological examination of the transplanted rats demonstrated that transplanted stem

cells survived, migrated to the damaged area, and apparently substituted the damaged cochlear fibrocytes. Those stem cells made a connection with the surrounding fibrocytes and expressed connexins which are essential for reestablishment of potassium recycling pathway mediated by cochlear fibrocytes within the cochlea. Evaluation of hearing by auditory brainstem responses in the transplanted rats revealed significant improvement of hearing compared to control rats. These animal experiments indicate that therapeutic strategy for genetic SNHL may be personalized, based on the cause of SNHL, using chemicals targeting at specific molecules or stem cells targeting at specific tissues for regenerative therapy. In addition, novel therapies developed for genetic SNHL may be applicable to other types of SNHL with similar pathological features.

Acknowledgements

I thank Prof. Kaoru Ogawa, Dr. Kimitaka Kaga, and Dr. Hidenobu Taiji for help and advices in conducting genetic testing and counseling at Keio University Hospital, National Tokyo Medical Center, and National Center for Child Health and Development, respectively. This work was supported by a Network Research Grants for Disorders of Sensory Organs from the National Hospital Organization and Health Science Research Grants from the Ministry of Health, Labor, and Welfare of Japan.

References

- Smith RJ, Bale JF Jr, White KR: Sensorineural hearing loss in children. *Lancet* 2005; **365**: 879–890
- Morton CC, Nance WE: Newborn hearing screening—a silent revolution. *N Engl J Med* 2006; **354**: 2151–2164
- Willems PJ: Genetic causes of hearing loss. *N Engl J Med* 2000; **342**: 1101–1109
- Kochhar A, Hildebrand MS, Smith RJ: Clinical aspects of hereditary hearing loss. *Genet Med* 2007; **9**: 393–408
- Prezant TR, Agopian JV, Bohlman MC, Bu X, Oztas S, Qiu WQ, Amos KS, Cortopassi GA, Jaber L, Rotter JJ, Shohat M, Fischel-Ghodsian N: Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. *Nat Genet* 1993; **4**: 289–294
- Estivill X, Fortina P, Surrey S, Rabionet R, Melchionda S, D' Agruma L, Mansfield E, Rappaport E, Govea N, Milà M, Zelante L, Gasparini P: Connexin-26 mutations in sporadic and inherited sensorineural deafness. *Lancet* 1998; **351**: 394–398
- Kelley PM, Harris DJ, Comer BC, Askew JW, Fowler T, Smith SD, Kimberling WJ: Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2) that cause autosomal recessive (DFNB1) hearing loss. *Am J Hum Genet* 1998; **62**: 792–729
- Snoeckx RL, Huygen PL, Feldmann D, Marlin S, Denoyelle F, Waligora J, Mueller-Malesinska M, Pollak A, Ploski R, Murgía A, Orzan E, Castorina P, Ambrosetti U, Nowakowska-Szyrwińska E, Bal J, Wiszniewski W, Janecke AR, Nekahm-Heis D, Seeman P, Bendova O, Kenna MA, Frangulov A, Rehm HL, Tekin M, Incesulu A, Dahl HH, du Sart D, Jenkins L, Lucas D, Bitner-Glindzicz M, Avraham KB, Brownstein Z, del Castillo I, Moreno F, Blin N, Pfister M, Sziklai I, Toth T, Kelley PM, Cohn ES, Van Maldergem L, Hilbert P, Roux AF, Mondain M, Hoefsloot LH, Cremers CW, Löppönen T, Löppönen H, Parving A, Grønskov K, Schrijver I, Roberson J, Gualandi F, Martini A, Lina-Granade G, Pallares-Ruiz N, Correia C, Fialho G, Cryns K, Hilgert N, Van de Heyning P, Nishimura CJ, Smith RJ, Van Camp G: GJB2 mutations and degree of hearing loss: a multicenter study. *Am J Hum Genet* 2005; **77**: 945–957
- Pandya A, Arnos KS, Xia XJ, Welch KO, Blanton SH, Friedman TB, Garcia Sanchez G, Liu MD XZ, Morell R, Nance WE: Frequency and distribution of GJB2 (connexin 26) and GJB6 (connexin 30) mutations in a large North American repository of deaf probands. *Genet Med* 2003; **5**: 295–303
- Everett LA, Glaser B, Beck JC, Idol JR, Buchs A, Heyman M, Adawi F, Hazani E, Nassir E, Baxevasis AD, Sheffield VC, Green ED: Pendred syndrome is caused by mutations in a putative sulphate transporter gene (PDS). *Nat Genet* 1997; **17**: 411–422
- Pryor SP, Madeo AC, Reynolds JC, Sarlis NJ, Arnos KS, Nance WE, Yang Y, Zalewski CK, Brewer CC, Butman JA, Griffith AJ: 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* 2005; **42**: 159–165
- Matsunaga T, Kumanomido H, Shiroma M, Goto Y, Usami S: Audiological features and mitochondrial DNA sequence in a large family carrying mitochondrial A1555G mutation without use of aminoglycoside. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2005; **114**: 153–160
- Chinnery PF, Elliott C, Green GR, Rees A, Coulthard A, Turnbull DM, Griffiths TD: The spectrum of hearing loss due to mitochondrial DNA defects. *Brain* 2000; **123** (Pt 1): 82–92
- Matsunaga T, Kumanomido H, Shiroma M, Ohtsuka A, Asamura K, Usami S: Deafness due to A1555G mitochondrial mutation without use of aminoglycoside. *Laryngoscope* 2004; **114**: 1085–1091
- Kennedy CR, McCann DC, Campbell MJ, Law CM, Mullee M, Petrou S, Watkin P, Worsfold S, Yuen HM, Stevenson J: Language ability after early detection of permanent childhood hearing impairment. *N Engl J Med* 2006; **354**: 2131–2141
- Yoshinaga-Itano C, Sedey AL, Coulter DK, Mehl AL: Language of early- and later-identified children with hearing loss. *Pediatrics* 1998; **102**: 1161–1171
- Matsunaga T, Hirota E, Bito S, Niimi S, Usami S: Clinical course of hearing and language development in GJB2 and non-GJB2 deafness following habilitation with hearing aids. *Audiol Neurootol* 2006; **11**: 59–68
- Usami S, Abe S, Kasai M, Shinkawa H, Moeller B, Kenyon JB, Kimberling WJ: Genetic and clinical features of sensorineural hearing loss associated with the 1555 mitochondrial mutation. *Laryngoscope* 1997; **107**: 483–490
- Gubler MC: Diagnosis of Alport syndrome without biopsy? *Pediatr Nephrol* 2007; **22**: 621–625
- Yasunaga S, Grati M, Cohen-Salmon M, El-Amraoui A, Mustapha M, Salem N, El-Zir E, Loiselet J, Petit C: A mutation in OTOF, encoding otoferlin, a FER-1-like protein, causes DFNB9, a nonsyndromic form of deafness. *Nat Genet* 1999; **21**: 363–369
- Rouillon I, Marcolla A, Roux I, Marlin S, Feldmann D, Couderc R, Jonard L, Petit C, Denoyelle F, Garabédian EN, Loundon N: Results of cochlear implantation in two children with mutations in the OTOF gene. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2006; **70**: 689–696
- Rodríguez-Ballesteros M, Reynoso R, Olarte M, Villamar M, Morera C, Santarelli R, Arslan E, Medá C, Curet C, Völter C, Sainz-Quevedo M, Castorina P, Ambrosetti U, Berrettini S, Frei K, Tedin S, Smith J, Cruz Tapia M, Cavallé L, Gelvez N, Primignani P, Gómez-Rosas E, Martín M, Moreno-Pelayo MA, Tamayo M, Moreno-Barral J, Moreno F, del Castillo I: A multicenter study on the prevalence and spectrum of mutations in the otoferlin gene (OTOF) in subjects with nonsyndromic hearing impairment and

auditory neuropathy. *Hum Mutat* 2008; **29**: 823–831

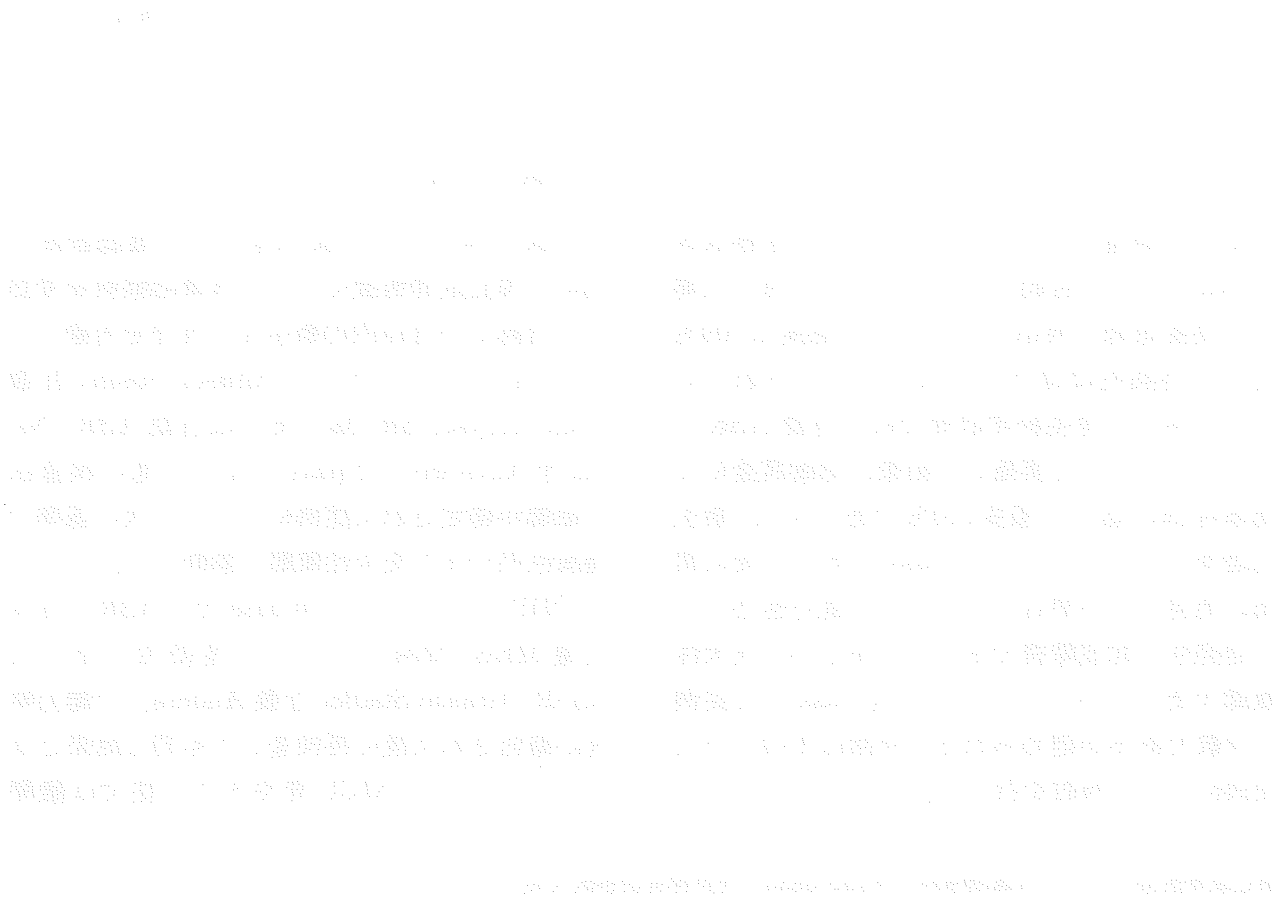
23. Hoya N, Okamoto Y, Kamiya K, Fujii M, Matsunaga T: A novel animal model of acute cochlear mitochondrial dysfunction. *Neuroreport* 2004; **15**: 1597–1600

24. Okamoto Y, Hoya N, Kamiya K, Fujii M, Ogawa K, Matsunaga T: Permanent threshold shift caused by acute cochlear mitochondrial dysfunction is primarily mediated by degeneration of the lateral wall of the cochlea. *Audiol Neurootol* 2005; **10**: 220–233

25. Mizutani K, Matsunaga T, Kamiya K, Fujinami Y, Fujii M, Ogawa

K: Caspase inhibitor facilitates recovery of hearing by protecting the cochlear lateral wall from acute cochlear mitochondrial dysfunction. *J Neurosci Res* 2008; **86**: 215–222

26. Kamiya K, Fujinami Y, Hoya N, Okamoto Y, Kouike H, Komatsuzaki R, Kusano R, Nakagawa S, Satoh H, Fujii M, Matsunaga T: Mesenchymal stem cell transplantation accelerates hearing recovery through the repair of injured cochlear fibrocytes. *Am J Pathol* 2007; **171**: 214–226



原著

新生児聴覚スクリーニング偽陰性例についての検討

泰地 秀信, 守本 倫子, 南 修司郎

(国立成育医療センター耳鼻咽喉科)

平成15年4月～平成18年3月に国立成育医療センター耳鼻咽喉科を受診した月齢6カ月以内の新生児・乳児について、先天性難聴であって聴覚スクリーニングをpassした16症例について検討した。NICU児やダウン症で髄鞘化不全のためABRの潜時延長や閾値上昇が起こり、後に正常化するような例は除外した。DPスクリーナーでpassとなり、ABRまたはASSRで聴力障害が確認された症例は13例で、うち9例がauditory neuropathy, 2例がcochlear nerve deficiency, 1例が脳幹障害, 1例が中等度難聴であった。Auditory neuropathyのうち7例に基礎疾患が認められた。自動ABRでpassとなり聴力障害が認められた症例は3例あり、いずれも一側性であった。1例は自動ABRで患側は35 dB refer, 40 dB passであったが、ABR閾値は90 dBnHLと乖離がみられた。両側の蝸牛低形成があるのに自動ABRでpassとなった症例が2例あった。NICU児では聴覚スクリーニングのプロトコルを必ずABRを行うように変えることや、一側referであってもpass側も精密検査を行うことが勧められる。

キーワード：新生児聴覚スクリーニング, 偽陰性, 自動ABR, DPOAE, 後迷路性難聴

はじめに

新生児聴覚スクリーニングは、耳音響放射(OAE)および自動ABRのいずれを用いた場合も高度難聴の検出という点では感度は100%近く、偽陰性はほとんどないものとされている。三科らの厚生科学研究では、自動ABRでスクリーニングを実施した結果、追跡調査にて偽陰性例は認めず感度100%であった¹⁾。新生児聴覚スクリーニングでpassであって後に難聴が発見される場合、ほとんどが進行性あるいは遅発性の聴覚障害であるが、明らかに先天性難聴であってスクリーニングをpassした症例も少数であるが認められる。今回はそのような症例について検討を行った。

対象と方法

平成15年4月～平成18年3月に難聴診断目的にて国立成育医療センター耳鼻咽喉科を受診した月齢6カ月以内の新生児・乳児を対象とした。DPスクリーナー(Grason-Stadler社製OAE analyzer ER-32)または自動ABR(Natus社ALGO2e)でpassとなり、他の検査法で難聴が確定された症例について、次の基準で偽陰性例つまり先天性難聴と診断した。

①DPスクリーナーがpassで、ABR(日本光電MEB-2204, クリック音使用)またはASSR(Grason-Stadler社製Audera)で聴力障害が確認された後に再検査しても同じ結果となるもの。ただしNICU児やダウン症では髄鞘

表 1 DP スクリーナーでの偽陰性例

| 症 例 | 受診時月齢 | 病 態 | 偽陰性 | 気づいた理由 | 他 疾 患 |
|-----|-------|---------------------------|-----|-------------|--------------------------|
| 1 | 2 | Auditory neuropathy | 両 | 先に ABR | ミトコンドリア脳筋症 |
| 2 | 5 | | | COR | 超低出生体重児, RDS |
| 3 | 6 | | | 先に ABR | (-) |
| 4 | 0 | | | COR (4 カ月時) | (-) |
| 5 | 2 | | | 先に ABR | RDS |
| 6 | 3 | | | 先に ABR | CHARGE 連合 |
| 7 | 3 | | | 先に ABR | 超低出生体重児, RDS |
| 8 | 5 | | | 先に ABR | 超低出生体重児, 脊髄空洞症 |
| 9 | 6 | | | 自動 ABR | TTTS stage IIIa, RDS/CLD |
| 10 | 1 | Cochlear nerve deficiency | 右 | 自動 ABR | (-) |
| 11 | 3 | | 右 | 自動 ABR | (-) |
| 12 | 4 | 脳幹障害 | 両 | 先に ABR | epilepsy |
| 13 | 4 | 両中等度難聴 | 右 | 他側が refer | 低出生体重児 |

化不全のために出生時は ABR の潜時延長や閾値上昇があっても後に正常化する症例があり、そのような例は除外した。

②聴力障害を伴う内耳奇形あるいは聴神経の欠損が認められるもの。

③自動 ABR が pass で、期間をあけず ABR または ASSR を行い閾値の上昇が認められるもの。自動 ABR については 40 dB で pass となった例も偽陰性例に含めて検討した。

なお、今回はあくまで“結果として DP スクリーナーあるいは自動 ABR のみを用いた場合は見逃されていた”難聴例について検討したもので、実際には複数の検査を行うことにより早期に難聴が発見されている。

結 果

1. DP スクリーナーでの偽陰性例

DP スクリーナーで pass となり、ABR または ASSR で聴力障害が確認された症例は 13 例で、うち 9 例が auditory neuropathy, 2 例が cochlear nerve deficiency, 1 例が脳幹障害, 1 例が中等度難聴であった。表 1 に症例の概略を示す。今回は DP スクリーナーが pass で ABR 閾値の高度上昇がみられた 9 例を auditory

neuropathy として扱った。いずれも両側性で、9 例のうち 7 例は ABR 無反応 (105 dBnHL のクリック音で両側とも反応なし) で、2 例 (症例 5, 8) は閾値が両側 90 dBnHL であった。また 7 例にミトコンドリア脳筋症, CHARGE 連合, 超低出生体重 (1000 g 未満), 呼吸窮迫症候群 (RDS), 脊髄空洞症, 双胎間輸血症候群 (TTTS) などの基礎疾患が認められた。これらの基礎疾患がある児のうち 6 例は NICU にて ABR 検査が行われ難聴が発見されている。残る 1 例は COR にて難聴が疑われた。基礎疾患がない 2 例のうち 1 例 (症例 3) は、ABR 無反応にて紹介された例である。後の 1 例 (症例 4) は出生時の DP 検査 (当院では 2 段階スクリーニングを行っている) では pass となり、COR を行ってから難聴を疑ったので、診断まで時間を要した。また 9 例のうち 2 例 (症例 1, 8) は経過をみていくうちに DPOAE が消失した。

偽陰性例のうち 2 例は一側性の cochlear nerve deficiency で、いずれも自動 ABR によるスクリーニングが行われていたため難聴が発見された。2 例 (症例 10, 11) とともに右は ABR 無反応にもかかわらず DPOAE は正常で、

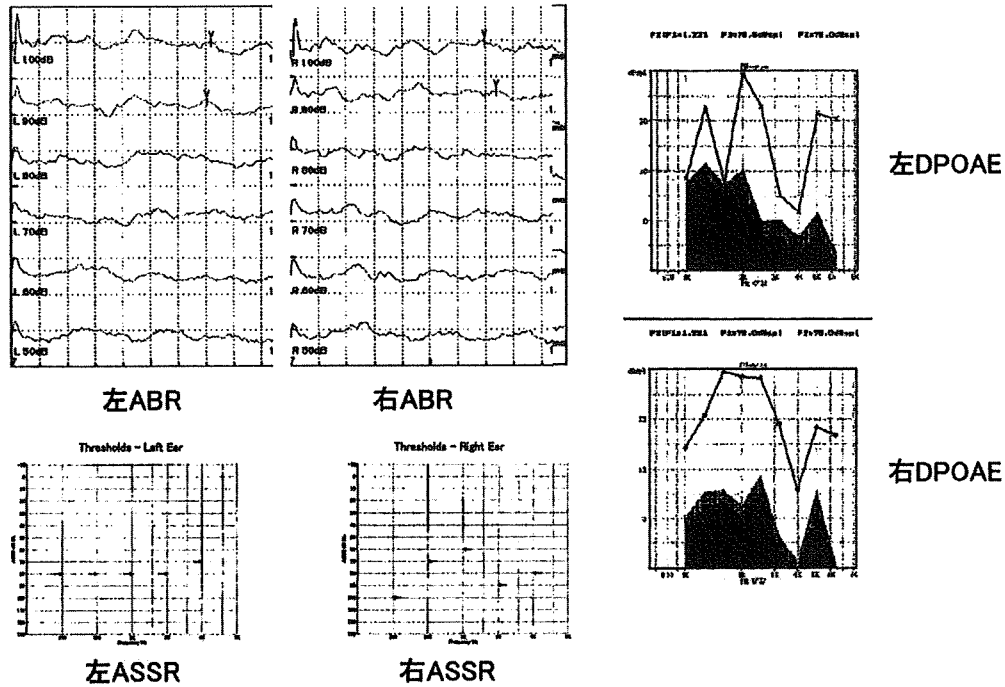


図1 脳幹障害のある児で、DPOAEは正常であったがABRおよびASSRの閾値上昇のみられた症例

MRIにて cochlear nerve deficiency と診断された。また脳幹障害に伴う聴覚障害で DP スクリーナー pass となった例 (症例12) の ABR, DPOAE (Otodynamics 社製 ILO292で測定), ASSRの結果を図1に示す。本例は epilepsy があり, MRIにて脳幹の髄鞘化不全が確認されている。ABR 閾値は両側 90 dBnHL で, ASSR 閾値は両側とも 250~4000 Hz については 60~100 dBHL であったが, DPOAE の反応は良好であった。中等度難聴で DP スクリーナーが一侧 pass となった症例が一例みられた (症例13)。本例の ABR, DP スクリーナー, ASSRの結果を図2に示す。DP スクリーナーは右 pass, 左 refer であったが, ABR 閾値は右 65 dBnHL, 左 55 dBnHL で, ASSR 閾値も右 500~2000 Hz については 50~70 dBHL であった。

2. 自動 ABR での偽陰性例

自動 ABR で pass となり聴力障害が認められた症例は 3 例あり, いずれも一側性である。表2に症例の概略を示す。1例 (症例14) は自動 ABR が右: pass, 左: 35 dB refer, 40 dB pass であったものである。図3に本例の ABR

および DP スクリーナーの結果を示すが, DP スクリーナーは右: pass, 左: refer で, ABR の閾値は右 40 dBnHL, 左 90 dBnHL であったので, 先天性の左高度難聴と考えられた。あとの2例は両側の蝸牛低形成があるのに自動 ABR で一侧が pass となっていた (症例15, 16)。図4に症例15の ABR, ASSR, および左側頭骨 CT を示す。本例は, 自動 ABR は右: refer, 左: 35 dB pass であったが, CT では両側の Mondini 型内耳奇形があり, 蝸牛は 1.5 回転であった。ABR 閾値は右 95 dBnHL, 左 60 dBnHL であったので, 両側の先天性難聴と考えられた。ASSR では右側の方が難聴は高度であった。また図5に症例16の ABR, ASSR, および左側頭骨 CT を示す。本例は家族性 BO 症候群の児で, CT にて両側の蝸牛低形成 (1.5 回転) に加えて右耳小骨連鎖離断がみられた。自動 ABR は右: refer, 左: 35 dB pass で, ABR 閾値は右 85 dBnHL, 左 40 dBnHL であった。ABR では左聴力は比較的良好的であったが, ASSR では左低音障害型難聴がみられ, 1-2 kHz の閾値も 60 dBHL であった (右はほぼ無反応)。

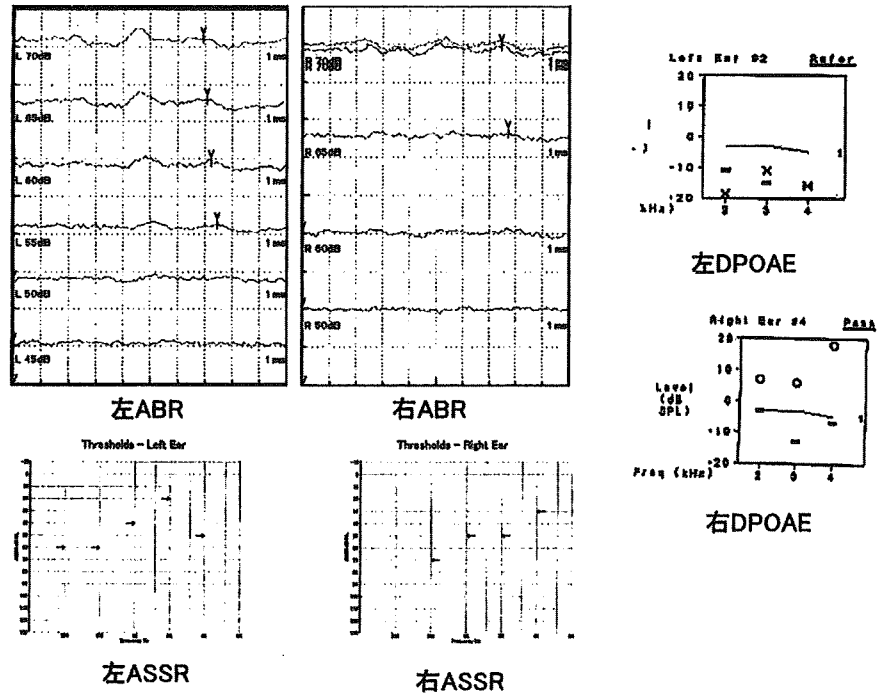


図 2 両中等度難聴で、DP スクリーナーが一侧 pass した症例

表 2 自動 ABR での偽陰性例

| 症 例 | 受診時月齢 | 病 態 | 偽陰性 | 気づいた理由 | 他 疾 患 |
|-----|-------|------------------|-----|-----------|--------|
| 14 | 1 | 左高度難聴 | 左 | DPOAE | (-) |
| 15 | 2 | 両側内耳奇形 (Mondini) | 左 | 他側が refer | (-) |
| 16 | 1 | 両側内耳奇形 (Mondini) | 左 | 他側が refer | BO 症候群 |

考 察

新生児聴覚スクリーニングは産科施設の60%以上で行われるようになっていて、その言語発達に対する効果も明らかにされつつある。Joint Committee on Infant Hearing (JCIH) の勧告(2007年)でも²⁾生後3カ月以内の難聴の確定診断が目標となっている。スクリーニングの方法としてはOAEと自動ABRが広く用いられているが、OAEではauditory neuropathyが見逃される以外には高度難聴は確実に検出するものとみなされており、ALGOによるAABRでは感度は99.96%とされている¹⁾。しかし、新生児聴覚スクリーニングが普及してくるにつれ、スクリーニングがpassであっても聴覚障害があったとの報告がなされるようになってきた。ただし遅発性・進行性難聴も考えら

れるので、これらが実際にスクリーニングで見逃されたのかどうかは不明なことが多い。スクリーニングがpassの場合は通常はフォローされないで、実際に偽陰性例があるかどうかは検証が困難なことが多い。理論上はOAEおよび自動ABRのいずれも聴力型などによって中等度以上の難聴の見逃しは起こりうる。今回は、内耳奇形があるなど明らかに先天性難聴と考えられる症例でスクリーニングをpassしている例について、基準を定めretrospective studyにて検討を行って見た。

DPOAEでpassとなった難聴例は13例みられ、うち12例は後迷路性難聴に属するものである。1例(症例13)は聴力型が関係したものと考えられ、両側中等度難聴であったがDPスクリーナーのpass側はASSR閾値が2kHz:50dBHL, 4kHz:30dBHLであり(図2)、高

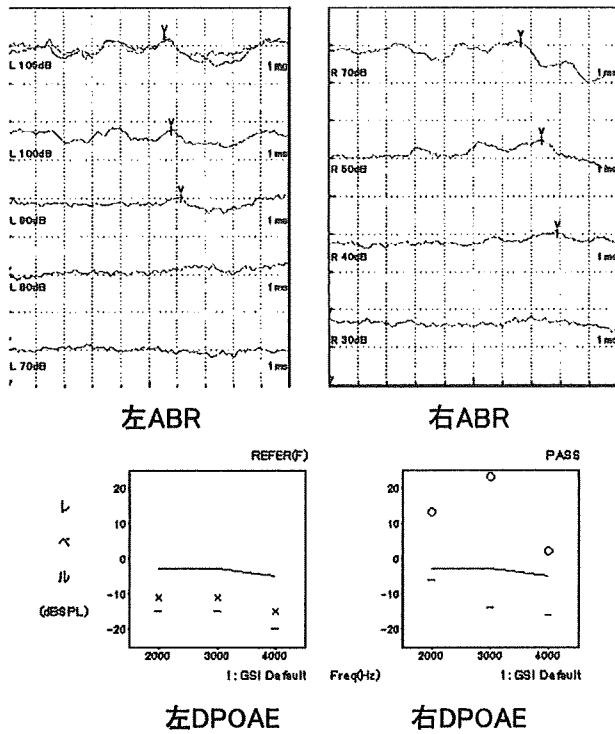
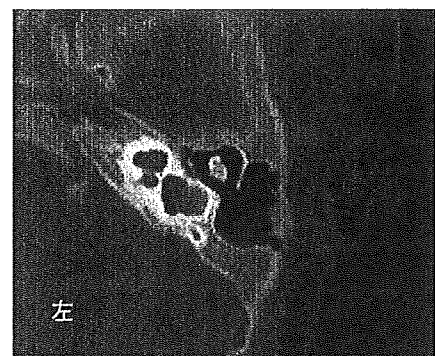
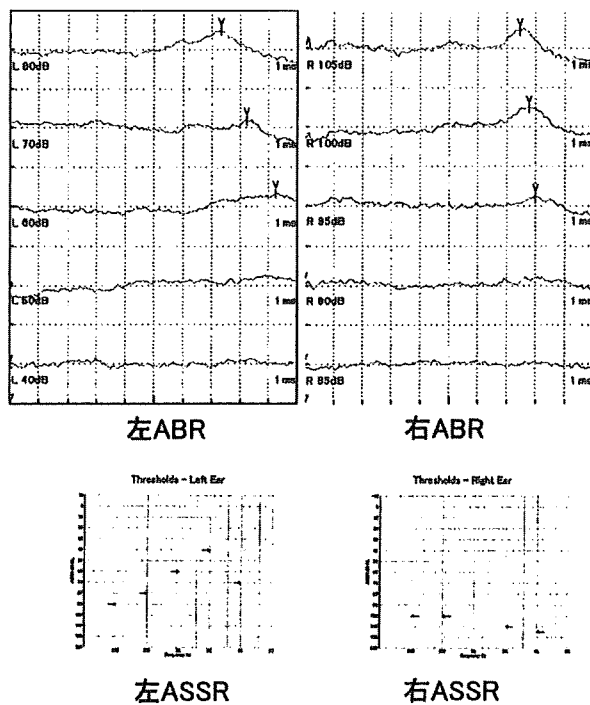


図3 先天性の左高度難聴と考えられたが、自動ABRが40 dBで左passであった例

音域聴力が比較的良好のためDPがpassとなった可能性がある。DPスクリーナーは2-4

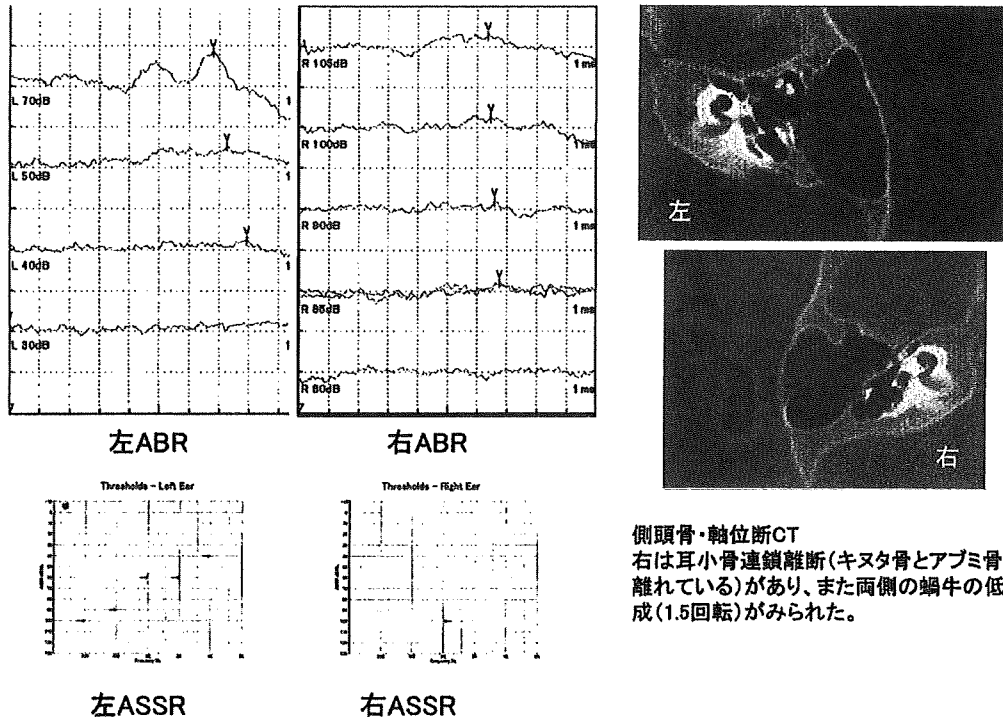
kHzの測定のため低音障害型難聴は見逃されることがある。これは自動ABRおよびクリックによるABRでも同じである

DPOAEでpassとなった難聴例で最も多かったものはauditory neuropathyである(9例, 症例1~9)。Auditory neuropathyは、OAE正常でABR無反応となる病態であり、約半数に他疾患を伴うものとされる(症候群性)。今回検討した9例でも7例に基礎疾患が認められ、すべてNICU管理を行っていた児であった。JCIHはNICU児の難聴スクリーニングは通常とは手順が異なり、auditory neuropathyに注意して診断を進めることを推奨しているが²⁾、当院NICUでも聴覚スクリーニングとしてDPスクリーナーを行う他にABRを行っている。そのため今回はauditory neuropathyにNICU児が多かったのかもしれない。JCIHはNICU児に対しABRを必ず行うことを勧告しているが²⁾、これは症例12のような脳幹障害による難聴を発見するためにも必要である。脳幹障害に伴う聴覚障害も、後迷路性難聴であるのでDPOAEが正常で、ABRおよびASSRの闕



側頭骨・軸位断CT
CTにて蝸牛の低形成(1.5回転)・拡張した前庭がみられ、両側のMondini型内耳奇形であった。

図4 両側内耳奇形があり、自動ABRでは一側passとなった例



側頭骨・軸位断CT
 右は耳小骨連鎖離断(キヌタ骨とアブミ骨は離れている)があり、また両側の蝸牛の低形成(1.5回転)がみられた。

図5 BO 症候群に伴う両側内耳奇形で、自動 ABR が一側 pass の例

値上昇がみられる (図1)。蝸牛神経欠損 (cochlear nerve deficiency)でも DPOAE 正常, ABR および ASSR 無反応となる (症例10, 11)。蝸牛神経欠損は必ずしも内耳道の狭窄を伴わないので, MRI でなければ診断できないことがある³⁾。

今回の偽陰性例のうち, 両側高度難聴で早期の介入が望まれるにもかかわらず, 当院のプロトコルでは見逃されてしまうことになる例は症例3と4で, いずれも基礎疾患のない auditory neuropathy の例である。特に症例4は新生児聴覚スクリーニングでは一段階スクリーニング (DPOAE) で pass となったため, 経過をみてから難聴が発見されることになった。2段階スクリーニングはコストパフォーマンスが優れた方法であるが⁴⁾, 感度は100%ではないことを理解し, 経過により4カ月以降に COR 検査を組み合わせるなど慎重に対応するべきものと考えられる⁵⁾。なお, JCIH は聴覚スクリーニングにおいて一側 refer であっても, pass 側も精密検査を行うことを推奨しているが²⁾, 今回も症例13, 15, 16についてはそれで難聴が発見で

きたことになる。

自動 ABR で pass となった難聴例は3例あった。1例 (症例14) は自動 ABR で患側は35 dB refer, 40 dB pass であったが, ABR 閾値は90 dBnHL と乖離がみられた (図3)。自動 ABR では音圧校正は行われないので, 外耳の形状により刺激音圧が設定より大きくなり, 聴力障害があっても pass となることがありうる。本例は厳密には pass 例とはいえないが, 40 dB pass であれば問題なしとしてはいけないということでもある。また両側の蝸牛低形成があるのに自動 ABR で pass となった症例が2例みられた (図4, 5)。いずれも pass 側は内耳奇形があるにもかかわらず, ASSR にて2-4 kHz の聴力が残存しており (症例15は2 kHz が40 dBHL, 症例16は4 kHz が40 dBHL), このため自動 ABR が pass となった可能性がある (ABR は1-4 kHz でいずれかの聴力が正常ならば閾値も正常となりうる)。

ま と め

1. 平成15年4月～平成18年3月に国立成育

医療センター耳鼻咽喉科を受診した月齢6カ月以内の新生児・乳児について、明らかに先天性難聴であってスクリーニングをpassした16症例について検討した。

2. DPOAEでpassとなった難聴例は13例みられ、うち9例がauditory neuropathyであった。

3. 自動ABRでpassとなった難聴例は3例あった。うち2例にはpass側にも蝸牛低形成がみられた。

4. NICU児では聴覚スクリーニングのプロトコルを変え、必ずABRを行うようにすることや、一側referであってもpass側も精密検査を行うことが勧められる。また新生児聴覚スクリーニングがpassであっても、注意深く言語発達および聴覚の程度について観察していくことが望まれる。

(本研究は厚生労働省 成育医療研究委託費(17公-3)「新生児・乳幼児難聴の診断および療育に関する研究(主任研究者:泰地秀信)」および平成20年度厚生労働科学研究「全新生児を対象とした先天性サイトメガロウイルス感

染スクリーニング体制の構築に向けたパイロット調査と感染児臨床像の解析エビデンスに基づく治療指針の基盤策定に関する研究(主任研究者:藤枝憲二)」による研究成果である)

参考文献

- 1) 三科 潤: 新生児聴覚スクリーニングの理念と実際. MB ENTONI 33: 9-14, 2004
- 2) Joint Committee on Infant Hearing: Year 2007 position statement: Principles and guidelines for early hearing detection and intervention programs. Pediatrics 120: 898-921, 2007
- 3) 守本倫子, 宮坂実木子, 飯ヶ谷七重, 他: 先天性蝸牛神経形成不全による一側性難聴例の検討. Otolology Japan, in press
- 4) Johnson JL, White KR, Widen JE, et al: A multicenter evaluation of how many infants with permanent hearing loss pass a two-stage otoacoustic emissions/automated auditory brainstem response newborn hearing screening protocol. Pediatrics 116: 663-672, 2005
- 5) 泰地秀信, 守本倫子, 川城信子: 新生児・乳幼児におけるABRとDPOAEの比較検討. Audiology Japan 48: 121-127, 2005

原稿受理 2009年1月26日

別刷請求先:

〒157-8535 東京都世田谷区大蔵 2-10-1

国立成育医療センター耳鼻咽喉科 泰地秀信

False negative error in newborn hearing screening

Hidenobu Taiji, Noriko Morimoto, Shujiro Minami

Department of Otolaryngology, National Center for Child Health and Development

Both distortion product otoacoustic emission (DPOAE) and automated auditory brainstem response (AABR) are widely used to screen newborn hearing. AABR is considered to have high accuracy and give very few false-negative errors (sensitivity of nearly 100%), but theoretically both tests may fail to identify congenital hearing loss. A small number of hearing-impaired infants may be missed because they have low-frequency hearing loss, and auditory neuropathy cannot be detected by DPOAE screening. We investigated the profiles of false negatives in these screening procedures. Thirteen cases passing DPOAE screening had serious hearing loss: 9 with auditory neuropathy, 2 with cochlear nerve deficiency, 1 with a brainstem disorder, and 1 with moderate hearing loss. Three cases passing AABR screening had serious hearing loss: 1 with unilateral profound hearing loss and 2 with inner ear anomaly (Mondini dysplasia). The false-negative error in newborn hearing screening must be kept to a minimum because it may be associated with delayed development and socioeconomic consequences. If only one ear fails the initial screening test, an audiologic assessment of both ears is recommended. ABR screening is preferred for infants admitted to the NICU who are at risk of neural hearing loss.

Key words: universal newborn hearing screening, DPOAE, AABR, auditory neuropathy, false-negative

Auditory neuropathy spectrum disorder の 乳幼児例における ASSR 閾値

泰地秀信¹⁾, 守本倫子¹⁾, 松永達雄²⁾

¹⁾国立成育医療センター耳鼻咽喉科

²⁾国立病院機構東京医療センター耳鼻咽喉科・臨床研究センター

要旨 : Auditory neuropathy は2008年の国際会議から ANSD と呼称されており, 今回はその定義に従って診断された ANSD の乳幼児9例について検討した。後に ABR が正常化していくようなみかけ上の難聴例 (auditory immaturity) は除外した。経過をみていくうちに DPOAE が消失した5例は ANSD とみなした。ASSR の閾値にはかなり大きなばらつきがあり, ANSD の病態が多彩であることが推定された。良聴耳の ASSR 閾値と COR 閾値を比較したところ, 500~4000Hz では有意な相関が認められた。ANSD の場合も補聴器装用効果を ASSR でとらえることができ, 推測された利得は平均でみて COR との差は 10dB 以下であった。3例は ASSR の3分法平均の閾値が 70dBHL 未満で, その場合 COR の平均閾値も 88dBHL 以下と他症例より良好であったが, これらはすべて基礎疾患を伴っていた。ASSR および COR 閾値が 100dBHL 以上の重度難聴の例のうち2例に *OTOF* 遺伝子変異が認められた。ASSR は ANSD で行動聴力検査が不確実な場合に聴力および補聴器装用効果を評価する方法になりうるものと考えられた。

—キーワード—

乳幼児聴力検査, 聴性脳幹反応, 歪成分耳音響放射

はじめに

Auditory neuropathy は耳音響放射 (OAE) が正常で聴性脳幹反応 (ABR) が無反応あるいは異常となる病態で, 聴力に比し語音聴取力が低いことが特徴とされているが, その臨床像はさまざまであり, 2008年に公表されたガイドラインでは auditory neuropathy spectrum disorder (以下 ANSD と略) と呼称されることになった¹⁾。ANSD については補聴器の効果あるいは人工内耳手術の適応などまだ意見の一致がみられていない点が多いため, 今回は ANSD の乳幼児例について ASSR 検査を行い, 他の所見と対比検討したので報告する。

対象と方法

平成18年4月~平成21年3月に国立成育医療センター耳鼻咽喉科を受診した新生児・乳幼児で, DPOAE の反応が両側正常かつ ABR 閾値が両側 80 dBnHL 以上で ANSD として扱った症例のうち, 当院で療育・聴覚管理を行うことになった9例に ASSR 検査を行った。NICU 児では中枢系の未成熟のために ABR の閾値上昇・波形分離不良がみられることがあり, ANSD と診断されても ABR が発達とともに正常化することがある。Berg らの報告²⁾ では NICU 児の24%に ANSD がみられているが, 我々の検討³⁾ では NICU 児で ABR 閾値上昇がみられた場合, 19%は1歳時に 20dB 以上閾値が改善している。今回はそのような例は除外するために, 1

歳を過ぎても ABR 閾値が改善しないもの、あるいは初回の ABR 検査が1歳以上で行われたものを対象とした。また OAE が初期に正常でその後に消失した場合は ANSD に含めるとされているので¹⁾、経過をみていくうちに DPOAE が消失した例も対象に含めた。ANSD の診断には MRI にて蝸牛神経欠損を除外する必要があるものとされているが²⁾、MRI または CT にて蝸牛神経欠損と考えられた例は除外した。なお、今回の検討例では9例中7例に MRI または CT を行っている。

ABR は日本光電 MEB-2204 (Neuropack) により測定した。鎮静下に検査を行い、刺激にはクリック音を用いて 10dB ステップで閾値を求めた。DPOAE は OAE analyzer ER-32 (Grason-Stadler 社製) または ILO292 (Otodynamics 社製) を用いて記録した。DPOAE の刺激音圧は L1=65dB SPL, L2=55dB SPL で、また測定条件は OAE analyzer および ILO 292 ともにデフォルトの設定通りとした。両耳とも OAE analyzer で pass と判定されたもの、あるいは ILO292 で測定9周波数 (1~6kHz) のうち8周波数以上がノイズレベルより 5dB 以上高いものを DPOAE 正常とした。対象者の概略を表1に示すが、月齢は平均7.7ヶ月 (± 8.1 SD, SD は標準偏差)、性別は男児5例、女児4例であった。基礎疾患として、9例のうち6例に難聴のリスクファクターが認められた。ABR 閾値は7例がクリック 105 dBnHL で両側無反応で、1例が両側 90dBnHL, 1例が右 80dBnHL, 左 100dBnHL であった。

ASSR 検査には Grason-Stadler 社製 Audera を使用した。ASSR の刺激音は 250, 500, 1k, 2k, 4kHz の AM/FM 複合音を用い (変調周波数はそれぞれ 67, 74, 81, 88, 95Hz)、鎮静下に検査を行った。ASSR 検査は年齢が7ヶ月~4歳のときに測定した。ABR および ASSR 検査ともに鎮静はトリクロホスナトリウム内服で行い、十分な鎮静が得られない場合は抱水クロラル坐薬を追加した。ASSR は推定聴力レベルではなく、実際の閾値 (反応の得られた最小の刺激音圧) について検討したが、250Hz では 110dB HL, 500Hz では 120dB HL, 1~4kHz では 125dB HL で反応がなければ無反応とした。また ASSR は 10dB ステップで閾値を求めたが、1~4 kHz については 120dB HL で反応がない場合、125

dB HL でも測定を行った。

さらに条件詮索反応聴力検査 (COR) による聴覚評価もを行い、比較検討した。COR 検査の値は症例8を除いては、2~3歳での測定値を集計した。ASSR の方が COR よりやや行った時期が早い例が多いが、COR については検査の精度を高めるため 2~3歳での値をとっている。症例8は年齢が1歳6ヶ月より前のため、COR は1歳時に測定した値である。COR は 250Hz では 95dB HL, 500Hz では 100dB HL, 1~4kHz では 110dB HL で反応がなければ無反応とした。

また、全例に補聴器装用を行っているが、7例には補聴器を装用しての ASSR 検査を行った。片耳ずつ補聴器を装用し、ASSR に外付けしたスピーカ (FE207E) から刺激音を提示し、ASSR 測定を行った。なおスピーカは 1m 離れたところにおき、音圧校正を行ってから測定を行った (自由音場でのセットとして設定)。補聴器装用時の ASSR についても閾値につき検討したが、250Hz では 70dB, 500Hz では 80dB, 1kHz では 85dB, 2, 4kHz では 90dB で反応がなければ無反応とした。補聴器両耳装用時の COR 閾値も全例で測定しているため、補聴器装用での ASSR 検査を行った7例につき比較検討を行った。

結 果

DPOAE は症例9 (初診が平成21年) を除き反復して測定を行っているが、5例は経過をみているうちに DPOAE の反応が消失した (表1)。DPOAE の反応が消失した5例のうち基礎疾患があるものは4例で、DPOAE が保たれている4例のうち基礎疾患があるものは2例であった。

図1に9例18耳についての ASSR 閾値の分布を示す。大きなばらつきがあることがわかった。無反応の場合は閾値として最大の測定音圧に +5dB した値をとり、3分法平均 (500, 1k, 2k Hz) の ASSR 閾値を求めたが (表1, 図1)、うち3例6耳は3分法平均の閾値が 70dBHL 未満であった。これは症例1, 5, 7であり、すべて基礎疾患を伴っている例であった。うち2例は DPOAE が経過で消失していた。ASSR 閾値 (左右別) および COR 閾値の平均を比較したものを図2に示す。COR について

表1 症例の概略

DPの経過で+はDPが保存されていることを示す。

ASSR 閾値は3分法平均の値を示す。

| 症例 | 受診時 月齢 | 性 | 基礎疾患 | ABR | DPの経過 | ASSR 右閾値 | ASSR 左閾値 |
|----|-----------|---|-------------------|-----------------|-------|----------|----------|
| 1 | 6 | F | TTTS ドナー, 超低出生体重児 | 無反応 | 消失 | 63(dB) | 57(dB) |
| 2 | 6 | M | なし | 無反応 | 消失 | 100 | 107 |
| 3 | 5 | M | 超低出生体重児, 高ビリルビン血症 | 無反応 | 消失 | 113 | 107 |
| 4 | 0 | M | なし | 無反応 | + | 103 | 113 |
| 5 | 5 | F | 超低出生体重児, 脊髓空洞症 | 両側 90dB | 消失 | 67 | 53 |
| 6 | 5 | F | 超低出生体重児, 脳性麻痺 | 無反応 | 消失 | 128 | 127 |
| 7 | 10 | M | West 症候群, 脳性麻痺 | 無反応 | + | 67 | 67 |
| 8 | 5 | M | 高ビリルビン血症 (核黄疸) | 右 80dB, 左 100dB | + | 110 | 110 |
| 9 | 28 | F | なし | 無反応 | + | 97 | 107 |

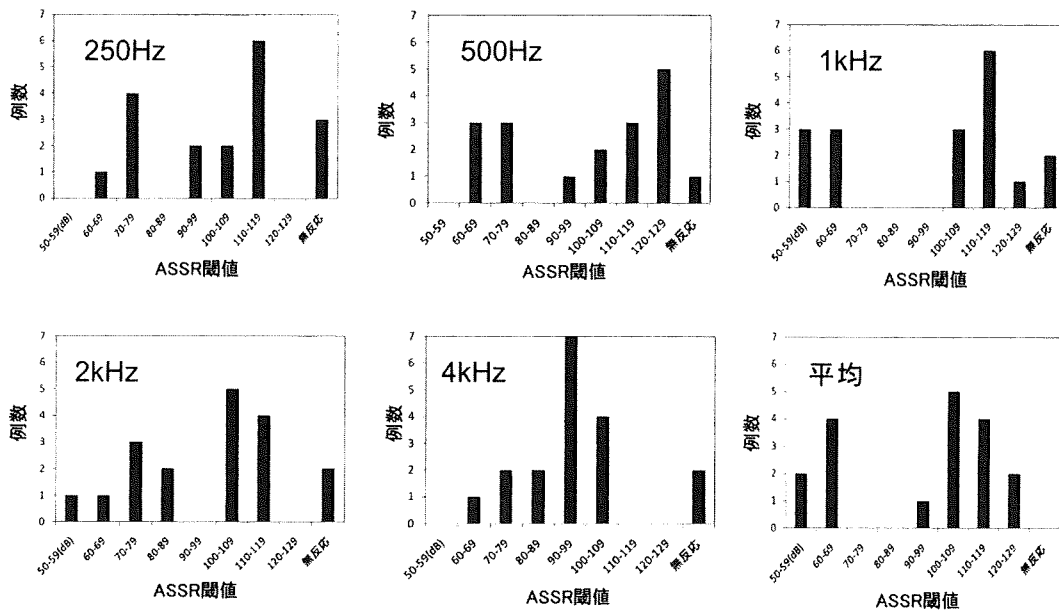


図1 周波数別にみた裸耳での ASSR 閾値の分布 (9 例18 耳)

ばらつきが大きく、3 例 6 耳の閾値は平均が 70dBHL 未満である

も、無反応と判定した場合は最大の測定音圧に+5 dBした値を集計した。1~4kHzについてはCORの方が測定の最大音圧が小さいにもかかわらず、ASSRより閾値の平均値が大きかった。CORの3分法平均(500, 1k, 2k Hz)の閾値は9例の平均が96 dBHLであるが、ASSR閾値が良好(3分法平均が70dBHL未満)の3例についてはCORの平均閾値も80, 70, 88dB HLと他症例より良好であった。ASSRとCORの閾値の相関をみるために、ASSRの左右別の閾値のうち良好な方の値とCOR閾値を周波数別に比較してみた。図3に全測定周波数の結果

をまとめた散布図を示す。良聴耳のASSR閾値とCOR閾値の相関係数は、250Hzが0.616, 500Hzが0.836, 1kHzが0.922, 2kHzが0.769, 4kHzが0.755で、500Hz, 1kHzについては有意水準1%, 2kHz, 4kHzについては有意水準5%で有意な相関が認められた。

ASSR閾値は7例14耳で補聴器装用時について自由音場で測定を行ったので、結果を図4に示す。裸耳のときと同様にばらつきはかなり大きかった。補聴器装用時のASSR閾値の3分法平均が50dBHL未満のものが4耳みられたが、これは症例1, 5の結

果（2例4耳）であり、裸耳の ASSR 閾値が良好なものは補聴器装用時の ASSR 閾値も良好であった。なお症例7は補聴器装用時の3分法平均 ASSR 閾値が左右とも 60dBHL であった。また図5に補聴器装用での左右別 ASSR 閾値および COR 閾値の平均を比較したものを示すが、これでは差はほとんどなかった。ASSR および COR について裸耳の閾値から補聴器装用時の閾値を差し引くことにより推定した補聴器の利得の各周波数での平均を図6に示す。なお、補聴器装用時の閾値がスケールアウトの場合

は利得を0として計算した。500Hz～4kHzについては、平均で15dB以上の利得がASSRおよびCORともにみられた。CORの方がASSRより推定される利得が良好な傾向があったが、その差は10dB以下であった。

考 察

ANSD は OAE が正常で ABR が無反応あるいは異常となる病態で、当初は auditory neuropathy ある

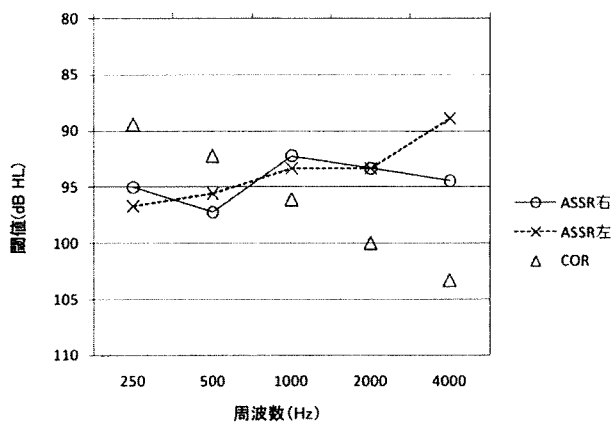


図2 裸耳での ASSR 閾値および COR 閾値の平均
COR の平均値は高音漸減型となった。

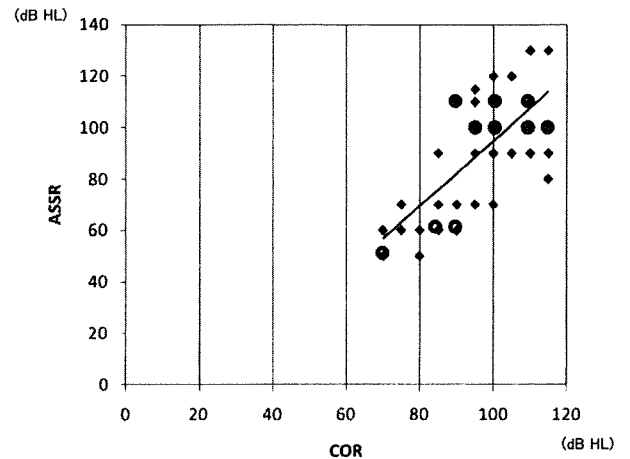


図3 ASSR 閾値と COR 閾値の比較
全データの分布を示す。図中に回帰直線を記した。
複数のデータが重なる点は●を重ねて示した。

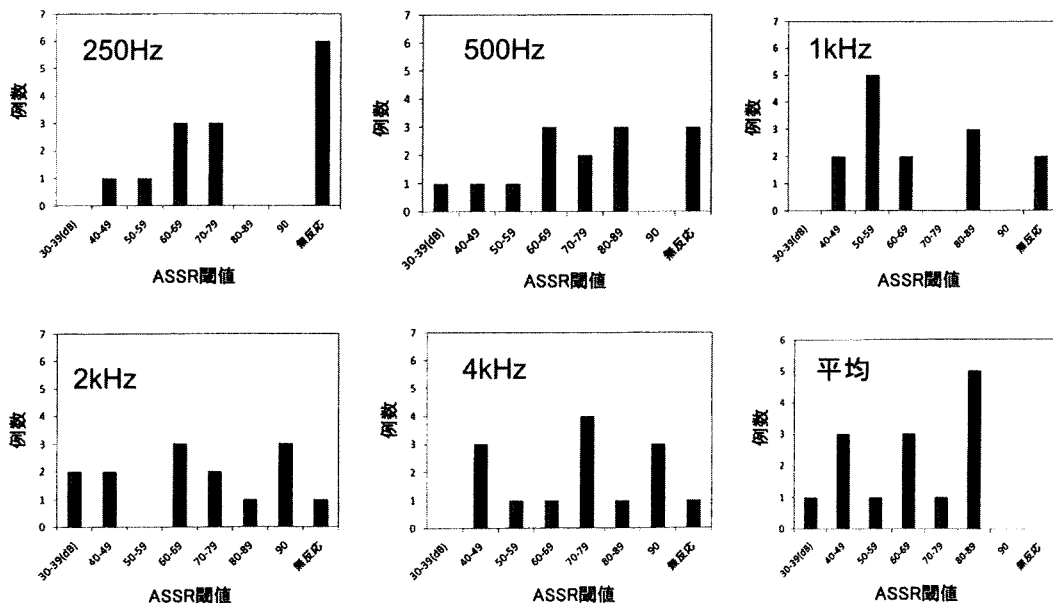


図4 周波数別にみた補聴耳での ASSR 閾値の分布（7例14耳）
裸耳と同様に症例ごとのばらつきが大きい。

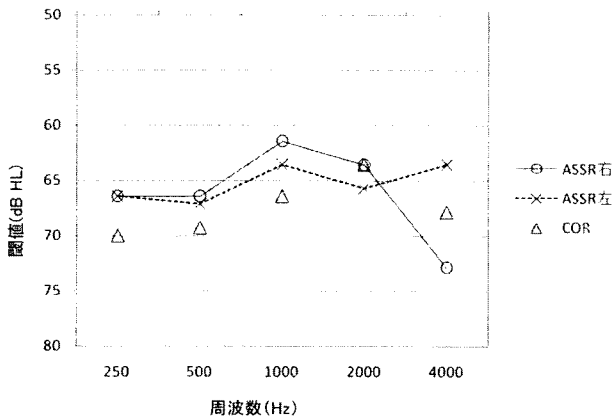


図5 補聴耳での ASSR 閾値および COR 閾値の平均
平均では ASSR と COR の閾値にあまり差はみられない。

いは auditory nerve disease と呼ばれていたが^{5,6)}、2008年の国際新生児聴覚スクリーニング会議で ANSD と呼称されることになった¹⁾。ANSD では聴力障害の程度はさまざまであり、言語発達も正常のこともあれば全く語音が認識できず言語発達がみられないこともある¹⁾。聴力障害の程度に比べ語音聴取力が悪く、言語発達の良好な例でも雑音下では語音聴取が困難という特徴がある。なお ABR が無反応であっても聴力がないということではなく⁷⁾、ANSD には後に ABR が正常化してくる例がある。そのような ABR でのみかけ上の難聴（髄鞘化不全などによる）は auditory immaturity として真の ANSD とは区別されるべきものとされており、今回はそのような例を除外するために対象は1歳時で ABR 無反応あるいは閾値が両側 80dBnHL のものとした。

ANSD は外有毛細胞の機能が正常で聴覚の求心性神経経路の障害があるものと考えられている¹⁾。診断には MRI にて蝸牛神経の欠損あるいは低形成を除外する必要がある^{1,4)}が、今回の9例のうち4例には MRI (3-D CISS 撮像) を行い蝸牛神経は正常であることを確認している。3例には側頭骨 CT を行っており、いずれも内耳道・蝸牛神経管に異常はみられていないので蝸牛神経欠損は否定的である。残る2例（症例1, 9）については画像検査を行っていないが、両側ともに蝸牛神経欠損である可能性は低いものと思われる。また OAE が初期に正常で後に消失した場合は ANSD に含めるとされているので¹⁾、今回は経過をみていくうちに DPOAE が消

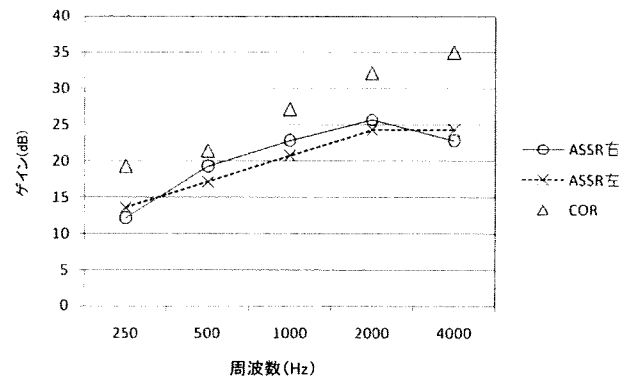


図6 ASSR 閾値および COR 閾値から推定された補聴器の利得の平均
推定される利得は COR の方が ASSR よりやや大きい。

失した5例も ANSD とみなした。DPOAE が保存されているとした4例についても、症例8は年齢が1歳6ヵ月以下であり、2歳を過ぎて保たれているのは3例である。ANSD の概念は1996年より報告されているのに、新生児聴覚スクリーニングが開始（本邦ではモデル事業が2001年から）されてから ANSD の報告が増えているのは、途中で OAE が消失する例が多いためかもしれない。

ANSD では ABR や ASSR で聴覚閾値を測定することは困難とされている¹⁾。今回は ANSD 例に Audera を用い ASSR 測定を行ったが、図1に示すように閾値にはかなり大きなばらつきがあり、ASSR から ANSD の病態が多彩であることが推定された。80-Hz ASSR の起源も ABR と同様に脳幹と考えられているが、その機序は異なるものと推定されており^{8,9)}、そのため ABR 無反応例で ASSR 閾値がさまざまとなったものと思われる。ASSR は ABR と異なり活動電位の同期を必要としないので¹⁰⁾、ANSD で ASSR が検出されることは十分あり得る⁸⁾。左右別の ASSR 閾値および COR 閾値の平均を比較したところ（図2）、COR は ASSR に比べて低音域では閾値が低く、高音域では閾値が高い傾向があった。250Hz, 500Hz で ASSR の閾値が比較的高いのは他の感音難聴例でも同じ⁸⁾であり、ASSR は位相の同期性の有無を確率的に判定するので周期の長い低音域では検出しにくいと考えられる。青柳は 500Hz 以下で 80-Hz ASSR の閾値と聴力レベルとの相関が低くなる理由として聴覚フィルタを想定している⁹⁾。高音域で COR と ASSR が異なる理由

は不明であるが、これは ASSR 閾値が実際より低いのではなく、COR の精度が児の発達遅滞（9 例のうち 4 例に重複障害）により低くなり閾値が高くなったためとも考えられる。なお、以前に我々が ANSD 以外の ABR 無反応例について ASSR 閾値を調べた結果では⁸⁾、1kHz が最も閾値が低かった。

ASSR 閾値がかなり良好な症例（両耳とも 3 分法平均の閾値が 70dBHL 以下）が 3 例あり、そのような例では COR の平均閾値も 88dBHL 以下（それ以外の例はすべて 96dBHL 以上）と良好であり、ASSR と COR の閾値には一致した傾向がみられた。良聴耳の ASSR 閾値と COR 閾値を比較したところ（図 3）、ばらつきはあるものの正の相関があり、周波数別に相関をみると 500Hz～4kHz（250Hz 以外）では有意な相関が認められた。ASSR 閾値が真の聴覚閾値を示すかどうかは今後さらに検討が必要であるが、行動聴力検査と高い相関があったということは ANSD の聴力の指標になり得るものと考えられた。

ANSD に対する補聴器の装用効果がみられる例は限られているとされているが¹⁾、今回の検討例はすべて両耳に補聴器装用を行っている。聴能訓練を行い、2 例（症例 3, 5）は年齢相応の言語発達が認められたが、3 例（症例 2, 4, 9）は合併疾患がないのに発語は全くみられていない。ANSD で後に OAE が消失する場合は補聴効果が期待できるとした報告¹⁾があるが、症例 3, 5 は経過観察中に DPOAE が消失した。補聴器装用時の ASSR 閾値（表 3）にはかなりのばらつきがあるが、裸耳の ASSR 閾値が良好な例（症例 1, 5, 7）は補聴器装用時の閾値も良好（平均が左右とも 60dBHL 以下）であった。補聴器装用時の ASSR 閾値と COR 閾値の比較（図 5）では、裸耳のときと違い低音域では ASSR の方がやや良好な傾向がみられたが、これは 250Hz, 500Hz では音場検査での ASSR の最大音圧が小さく（それぞれ 70, 80dBHL）スケールアウトの値も小さくなったためと考えられる。補聴器装用効果については、図 6 に示すように平均でみて ASSR でも十分にとらえられており、補聴器の評価としての ASSR の有用性が示唆された。図 6 で COR 閾値からみた 2, 4kHz での補聴器の利得がかなり大きくなっているのは、この周波数帯での裸耳の

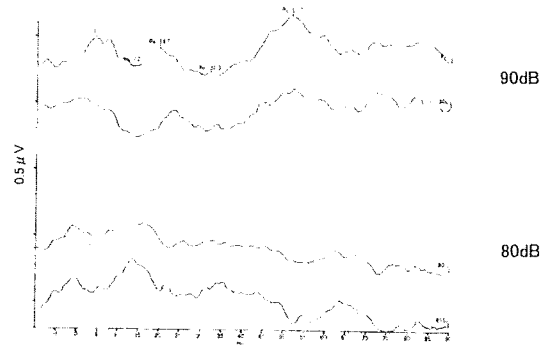


図 7 ANSD 例における CAEP 検査の測定例
1000Hz, 左耳での測定例で、90dB で明瞭に反応 (MLR) が認められる。

COR 平均閾値が高いためである。なお、ANSD では補聴器装用により静かなところでの語音の聞き取りは改善するが、雑音下での聞き取りは困難とされており¹⁾、今回示された補聴効果よりも言語獲得のための補聴器の有効性は低くなることが予想される。ANSD での人工内耳の効果は他の重度感音難聴と変わらないので⁷⁾、補聴器の効果が十分でない ANSD では人工内耳が検討されるべきであるが、前述した auditory immaturity（一過性の ANSD）の可能性を考え手術適応の決定には行動聴力検査を含めた十分な聴力評価が必要である。

なお ANSD において ABR 検査を行うときには極性を変えたクリック音（rarefaction, condensation）を用いることが推奨されているが¹⁾、今回は alternating click で検査を行った。また、ANSD において行動聴力検査の結果が不確かなときは皮質誘発反応（Cortical auditory evoked potentials: CAEPs）が有用であるとされており¹⁾、我々も 3 例に Audera を用いて CAEPs の測定を行った。結果の例を図 7 に示すが、測定した 3 例はすべて発語のみられない例であったにもかかわらず CAEPs は反応があり、本検査の意義は今後の課題である。ANSD では *OTOF*, *PMP22*, *MPZ*, *NDRG1* などの遺伝子変異が報告されているが¹¹⁾、今回の症例では 2 例に *OTOF* 遺伝子変異が認められた。*OTOF* 遺伝子変異のみられた 2 例は ASSR および COR の平均閾値がいずれも 100dBHL 以上の重度難聴であり、補聴器装用効果も少ないため 1 例は人工内耳手術を行った。

ま と め

1. Auditory neuropathy は2008年の国際会議から ANSD と呼称されており、今回はその定義に従って診断された ANSD の9例について検討した。経過をみていくうちに DPOAE が消失した5例も ANSD とみなした。
2. ASSR の閾値にはかなり大きなばらつきがあり、ANSD の病態が多彩であることが推定された。良聴耳の ASSR 閾値と COR 閾値を比較したところ、500Hz~4kHz では有意な相関が認められた。
3. ANSD の場合も補聴器装用効果を ASSR でとらえることができ、推測された利得は平均でみて COR との差が 10dB 以下であった。
4. 3例は ASSR の3分法平均の閾値が 70dBHL 未満で、その場合 COR の平均閾値も 88dBHL 以下と他症例より良好であった。これらはすべて基礎疾患を伴っている例であった。ASSR および COR 閾値が 100dBHL 以上の重度難聴の例のうち2例に *OTOF* 遺伝子変異が認められた。

(本研究は厚生労働省 成育医療研究委託費 (17公-3)「新生児・乳幼児難聴の診断および療育に関する研究 (主任研究者: 泰地秀信)」および平成21年度厚生労働科学研究 感覚器障害研究事業「日本人小児難聴における Auditory Neuropathy の診療指針の確立 (主任研究者: 松永達雄)」による研究成果である)

Auditory steady-state response thresholds in infants and young children with auditory neuropathy spectrum disorder

Hidenobu Tajiri¹⁾, Noriko Morimoto¹⁾, Tatsuo Matsunaga²⁾

¹⁾Department of Otolaryngology, National Center for Child Health and Development

²⁾Department of Otolaryngology/Lab. of Auditory Disorders, National Institute of Sensory Organs, National Tokyo Medical Center

Auditory neuropathy, renamed by consensus at a recent international conference as auditory neuropathy spectrum disorder (ANSD), is a specific form of hearing loss defined by normal otoacoustic emissions, but severely abnormal or completely absent auditory brainstem responses. We investigated the distribution of auditory steady-state response (ASSR) thresholds in 9 infants and young children with ANSD. The large variability of ASSR thresholds indicated the heterogeneous nature of this disorder. Correlation values showed a significant positive relationship ($p < 0.05$) between ASSR and conditioned orientation response audiometry (COR) thresholds at 500-4000Hz. To estimate the functional gains obtained from the use of hearing aids, we examined the dB difference between unaided and aided thresholds of ASSR and COR. The average functional gains estimated by the ASSR thresholds were up to 15 dB at 500-4000Hz, which were slightly lower than those estimated by the COR thresholds. ASSR testing is considered to be useful for hearing aid validation when behavioral test methods are inconclusive. ASSR may be useful for the estimation of residual auditory capacities and hearing aid benefits in infants and very young children with ANSD.

文 献

- 1) Roush P: Auditory neuropathy spectrum disorder: Evaluation and management. *Hearing Journal* **61**: 36-41, 2008
- 2) Berg AL, Spitzer JB, Towers HM, et al: Newborn hearing screening in the NICU: Profile of failed auditory brainstem response/passed otoacoustic emission. *Pediatrics* **116**: 933-938, 2005
- 3) 泰地秀信: 厚生労働科学研究「新生児・乳幼児難聴の診断および療育に関する研究」平成17-19年度総括・分担報告書。2008, pp1-380
- 4) Buchman C, Roush P, Teagle H, et al: Auditory neuropathy characteristics in children with cochlear nerve deficiency. *Ear Hear* **27**: 399-408, 2006