

200936029A

厚生労働科学研究費補助金

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 21年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 小川 郁

平成 22(2010)年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

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 21 年度 総括・分担研究報告書

## 目 次

I. 平成 21 年度急性高度難聴に関する調査研究班班員名簿	1
II. 総括研究報告	5
	小川 郁 (慶應大)
III. 分担研究報告	
1. 「突発性難聴」診断基準の見直しについて	17
	岡本牧人 (北里大)
2. 「突発性難聴の重症度基準」および「突発性難聴・聴力回復の判定規準」 分担研究者からのアンケート調査	20
	喜多村健 (東京医科歯科大)
3. 急性低音障害型感音難聴の診断基準	24
	佐藤宏昭 (岩手医大)
4. 「特発性両側性感音難聴」の診断基準の改定(案)について	29
	山嵜達也 (東京大)
5. 突発性難聴症例の症状、QOL、ハンディキャップ調査の現況	32
	佐野 肇 (北里大)
6. 突発性難聴の発症リスクとなる遺伝子多型	36
	寺西正明 (名古屋大)
7. 難治性内耳疾患の遺伝子バンク構築研究	39
	西尾信哉 (信州大)
8. 急性感音難聴における酸化ストレスの検討—参加3施設の集計結果について—	46
	菊池 淳 (岩手医大)
9. 突発性難聴における血清サイトカイン値と聴力予後に関する検討	50
	南修司郎 (慶應大)
10. 低音障害型感音難聴に対する単剤治療における共同研究	52
	井上泰宏 (慶應大)
11. 急性低音障害型感音難聴を除いた急性感音難聴軽症例の検討	56
	野口佳裕 (東京医科歯科大)
12. 低音障害型感音難聴における multiple-frequency tympanometry の診断学	61
	安井拓也 (東京大)
13. 急性低音障害型感音難聴における前庭水管の検討	63
	桑島 秀 (岩手医大)
14. メニエール病・急性低音障害型感音難聴における血漿 AVP 値の日内変動	66
	長沼英明 (北里大)

15. メニエール病患者におけるガドリニウム造影剤静脈投与による内外リンパ腔の描出	69
	多賀谷満彦 (名古屋大)
16. 高音急墜型/高音漸傾型難聴症例の臨床像と遺伝的背景	73
	宮川麻衣子 (信州大)
17. 本邦における USH2A 高頻度変異の探索と変異スペクトラムの検討	77
	中西 啓 (浜松医大)
18. 人工内耳が有用であったミトコンドリア 625G>A 変異の1症例	81
	武市紀人 (北海道大)
19. 突発性難聴症例に対するバラシクロピルの投与効果	85
	牧野寛之 (北里大)
20. IL-1 受容体アンタゴニストが感音難聴の治療に奏功したクリオピリン関連症候群の一例	90
	平井美紗都 (岡山大)
21. 新規人工内耳コード化法 CSPE 法と音楽への応用	93
	岩崎 聡 (浜松日赤)
22. 急性音響外傷マウスモデルにおける血清フリーラジカル測定の解析	97
	渡部高久 (慶應大)
23. 難聴関連コネクシンの組織別発現パターン	99
	福島邦博 (岡山大)
24. 蝸牛における質量分析イメージングの試み	101
	瀧澤義徳 (浜松医大)
25. 一過性内耳虚血に対するアポトーシス抑制ペプチド「AM-111」の保護効果	104
	表原慶典 (愛媛大)
26. 内耳虚血・再灌流障害に対する人工酸素運搬体の有用性	107
	岡田昌浩 (愛媛大)
27. 老人性難聴の発症におけるビタミン C の役割	111
	樫尾 明憲 (東京大)
28. マウス下丘神経細胞における抑制性シナプス入力に対するセロトニンと SSRI の作用	115
	小原修幸 (北海道大)
29. ラット台形体におけるサリチル酸の効果—パッチクランプ法による検討(第2報)	118
	藤川太郎 (東京医科歯科大)
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	123

I. 急性高度難聴に関する調査研究班  
班員名簿

## 急性高度難聴に関する調査研究班

区分	氏名	所属等	職名
主任研究者	小川 郁	慶應義塾大学医学部 耳鼻咽喉科	教授
研究分担者	喜多村 健	東京医科歯科大学医学部 耳鼻咽喉科	教授
	宇佐美 真一	信州大学医学部 耳鼻咽喉科	教授
	中島 務	名古屋大学医学部 耳鼻咽喉科	教授
	岡本 牧人	北里大学医学部 耳鼻咽喉科	教授
	暁 清文	愛媛大学医学部 耳鼻咽喉科	教授
	福田 諭	北海道大学医学部 耳鼻咽喉科	教授
	山嵜 達也	東京大学医学部 耳鼻咽喉科	教授
	佐藤 宏昭	岩手医科大学医学部 耳鼻咽喉科	教授
	水田 邦博	浜松医科大学 耳鼻咽喉科	准教授
	福島 邦博	岡山大学医学部 耳鼻咽喉科	講師
研究協力者	岩崎 聡	浜松赤十字病院 耳鼻咽喉科	部長
	美野輪 治	理化学研究所ゲノム科学総合研究センター	上級研究員
事務局	井上 泰宏	慶應義塾大学医学部 耳鼻咽喉科	准教授
		〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35 番地	
		TEL 03-5863-3827 FAX 03-3353-1211	
経理事務担当者	大友 正敏	慶應義塾大学医学部研究支援センター	職員
		〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35 番地	
		TEL 03-5363-3879 FAX 03-5363-3610	
		e-mail fumiko.suzuki@adst.keio.ac.jp	

## Ⅱ. 総括研究報告

## 平成21年度 総括研究報告

主任研究者：小川 郁（慶應義塾大学）

### 研究要旨

#### 研究目的

本研究では対象疾患を1) 急性高度感音難聴（突発性難聴、外リンパ瘻、ムンプス難聴、急性低音障害型感音難聴、急性音響性感音難聴）と2) 進行性または慢性高度感音難聴（遺伝性難聴、特発性進行性感音難聴、加齢性感音難聴、騒音性感音難聴）の高度感音難聴として、高度感音難聴を呈する各疾患の難聴発症メカニズムを解明して、各々の標準的な治療方針を定めて、治療・予防法を確立することが目標である。今回は特に高度感音難聴発症に関与する遺伝子または遺伝子変異を検出し、難聴発症機構を分子細胞レベルで解明するための遺伝子バンク構築を新しい目標の一つとする。

突発性難聴の発症者数は疫学調査研究班との共同調査で年間約35,000人、人口100万人対で275人の罹患率と考えられている。急性低音障害型感音難聴も突発性難聴と同程度またはそれ以上の罹患率と考えられており、これら罹患率の高い高度感音難聴を来す疾患の難聴発症メカニズムの解明は重要である。また、ムンプス難聴や他のウイルス性難聴ではワクチン接種による予防の可能性について検討する必要がある。また、外リンパ瘻も突発性難聴との鑑別上、重要な疾患であり、これらの診断および治療法の確立も待たれている。

難聴は様々な原因で生じるが、先天的には約1000の出生当たり1人が高度難聴で、ヒトの先天性障害のなかでは、最も頻度が多い臨床症状である。そして、この半数は難聴遺伝子変異による難聴と想定されている。一方、加齢性難聴も個人差が大きいことから遺伝子の関与が注目されている。そのため、この難聴の治療には、難聴遺伝子変異を解析して難聴の発症機構を分子細胞レベルで解明することは、その予防上もきわめて重要である。

本研究の特徴は多施設での横断的研究が行えることであり、この特徴を利用して各疾患の診断基準の見直しや診療ガイドラインの作成を目指す。高度難聴は重篤なコミュニケーション障害を来すが、ハンディキャップが適切に克服できれば、通常の世界生活に復帰することが可能であり、国民の健康増進という厚生労働行政上の観点からも、その病態解明および治療法・予防法の確立は重要な研究テーマのひとつである。

多施設横断的研究としては各高度感音難聴を来す疾患の

- 1) 疫学調査
- 2) QOLへの影響、
- 3) 発症と予後に関わるバイオマーカーの検索、
- 4) 発症に関連する遺伝子または遺伝子



異常の検出、

5) 単剤による治療効果の検討

6) 新しい治療法としての鼓室内局所療法の有効性の検証、

を行い、最終的にこれらの所見から各疾患の診断基準の見直しと、診療ガイドラインの作成を目指す。

一方で各施設での独創的なアプローチによる3T-MRIによる内耳画像診断法などの新しい診断法や各種実験動物モデルの検討による急性高度感音難聴の発症機序の解明と新しい治療法の確立を目指す。これらの多様なアプローチから有効な診断法、治療法の可能性が生じた場合には多施設での検証を行う。

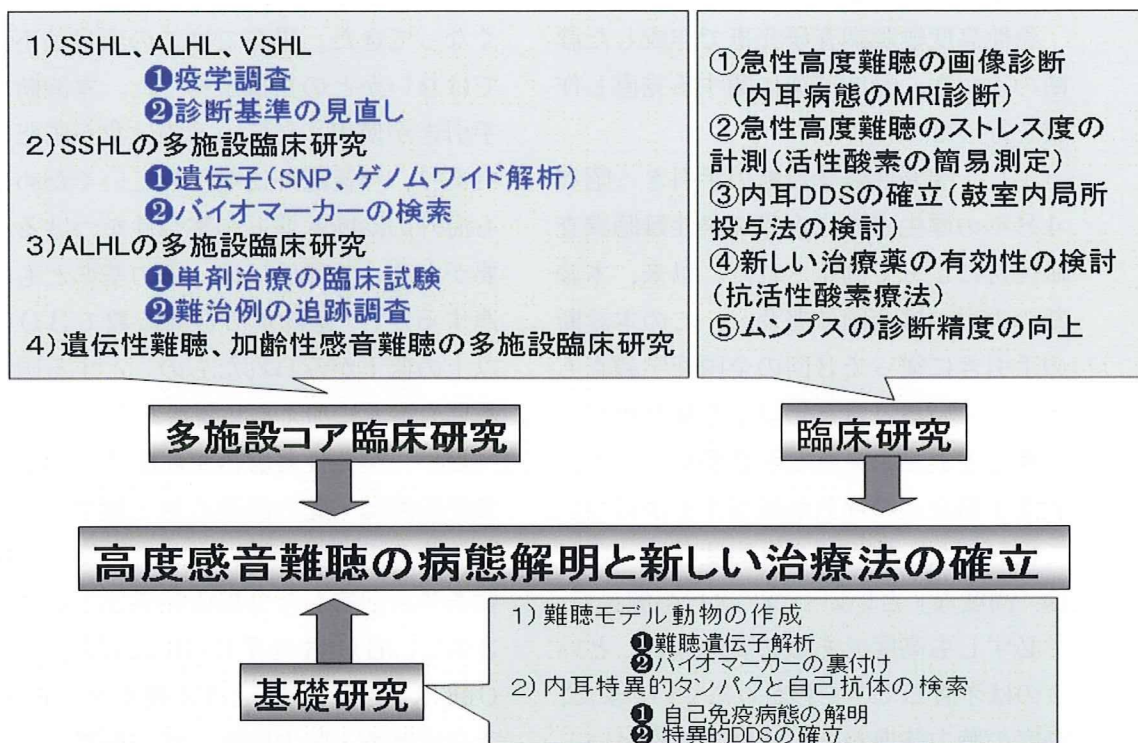
#### 研究の特色と独創性

突発性難聴などの急性高度感音難聴を来す疾患の定義は国際的にも統一されていない。また、治療法に関しても明らかかなエビデンスの得られた治療法はない (Conlin AE ら: Treatment of sudden sensorineural hearing loss: I. A systematic review. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2007)。本研究の特徴は多施設での横断的研究が行えることであり、この特徴を利用して突発性難聴の疫学調査、QOLの調査、新しい治療法の確立など、国際的にも不明な事項について明らかにする。突発性難聴の発症に関わ

る遺伝子の解明も新しい課題である。

遺伝性難聴のみならず加齢性難聴に関わる遺伝子または遺伝子変異も人種により異なる可能性もあり、日本人における特徴を明確にしてその観点からの予防法を確立することも、これまでにない独創的なアプローチである。難聴は両耳に発症すると、重篤なコミュニケーション障害を来す。しかし、このハンディキャップが適切に克服できれば、多くの難聴者は全身疾患を伴っていないため、通常の社会生活に復帰可能である。従って、国民の健康増進という厚生労働行政上の観点からも、その病態解明および治療法・予防法の確立は重要な研究テーマのひとつである。突発性難聴および急性発症する難聴で頻度が高い疾患である急性低音障害型難聴の多施設でのシステムティックな疫学調査は今後の臨床成績の解析ならびに病態解明の基本データとなり、また国際的な疾患疫学の比較調査のデータとしても不可欠である。

本研究事業による広報・啓蒙活動により、ムンプスのワクチン接種率を向上して、ムンプス難聴者の罹患者数を減少すること音響や騒音暴露を低減し、急性音響性難聴や騒音性難聴の罹患者数を減少することが可能である。



SSHL=突発性難聴、ALHL=急性低音障害型感音難聴、VSHL=ウイルス性感音難聴

## 診断基準の見直し

急性高度難聴調査研究班で作成した診断の手引き、診断基準に関する見直し作業を行った。

(1) 突発性難聴診断の手引き：昭和48年の厚生省特定疾患突発性難聴調査研究班によって制定された。以来、本診断の手引きは全国に普及し、この本診断の手引きに従って3回の全国疫学調査も行われている。35年以上を経た現在、診断の手引きの見直しが必要かどうか、見直す場合どの部分が相当するかについて検討した。主症状の「高度」については「高度な」といいつつ、次行の解説で、「必ずしも高度である必要は無い」というのは矛盾していてわかりにくい。また、高度の聴力基準があいまいであるといった指摘があった。主症状の「原因不明」についても、どこまで検査した上での「原因不明」かがあいまいで、結果として後に診断名が変更されることによる訴訟なども生じている。副症状については診断の手引きの「確実例」は副症状の「全事項をみたすもの」とあるが、耳鳴りはほぼ全例に認められるものの「めまい、および吐き気、嘔吐」は30%程度(20-70%)であり、みだされない可能性がある。参考の「recruitment現象」について、当時は本疾患が内耳性かどうかを含めて議論され、それに関連して「recruitment現象」の有無の報告も見られたが、そもそも本検査は内耳性難聴で必ずしも100%出現するものではない。その後、CT、MRIなどの画像診断やABRなどの検査により、後迷路性のものは否定されるようになったので、必ずしも

「recruitment現象」にこだわる必要もなくなってきた。現在ではこの項目は不要ではないかとの指摘があった。本診断の手引きが使用されているのは我が国だけであり、今後海外に発信していくためにも海外の診断基準との整合性をつける必要がある。具体的には、聴力基準とも関連するが、「連続する3周波数で30dB以上の低下がみられたもの」とする国際基準も参考に加える必要がある。

(2) 突発性難聴の重症度基準および突発性難聴・聴力回復の判定基準：突発性難聴の重症度基準について、変更の必要ありと回答した分担研究者は10名中3名で、60dBを70dBに変更、100dB以上をGrade5とする提案等である。突発性難聴・聴力回復の判定基準については、変更の必要ありと回答した分担研究者は10名中4名で、著明回復と回復で定義している5周波数の算術平均値の30dBの値の妥当性、高度難聴では、聴力レベルの改善の数値が大きくなっても、実用に値する聴力レベルに達しない症例が、著明回復と判定される問題点等が提起された。

(3) 急性低音障害型感音難聴の診断基準：平成11年度に作成<sup>1)</sup>された急性低音障害型感音難聴の診断基準(試案)改訂の要否について、調査研究班の研究分担者所属10施設を対象としてアンケート調査を行った。5施設(50%)が改訂の必要ありと回答し、高音域の閾値上昇を認めるが左右差の少ないものを「準確実例」として診断基準に加えるとする意見が4施設と最も多かった。当施設および過去の報告から確実例と準確実例の

比は約3：1

(4) ムンプス難聴診断：抗ムンプスIgM抗体がキット改訂され、デンカ生研も2009年12月から新しいキットを導入した。これを用い、ムンプス難聴診断基準の改訂の可能性が示唆され、具体的に準備した。

(5) 特発性両側性感音難聴の診断基準：両側性であり発作を繰り返す疾患として「特発性両側性感音難聴」の診断基準が昭和53年に作られた。特発性両側性感音難聴は免疫異常を伴っているもの、また遺伝的な問題も否定できない、という点が問題として残されている。特に最近の分子生物学的技術の進歩により、孤発例においても遺伝性難聴と診断されることが増えてきており、このような背景をもとに診断基準の改定を検討した。その結果、「A. 診断基準」を大幅に改定する必要性はないと考えられたが、「B. 註」の改定、特に「原因不明であること」の内容を改定すべきという意見が多くみられた。難聴の進行速度についてこれまで「進行の速度は問わない」との記載があり、一方で「原因について」の項に「年齢変化と思われるものは除く」という記載がある。「進行の速度は問わない」という記載のみでは、通常より早期に発症した加齢性難聴も含めてしまう可能性がある。このため、少なくとも年齢の要素をこの項目に含めることは妥当と思われた。今後これらの改定について、さらに意見を集約する必要がある。

#### 多施設横断的研究

(1) 突発性難聴のQOL調査：突発性

難聴による片側高度難聴によるQOL低下とハンディキャップの程度に関してはこれまで大規模な調査は行われていなかった。今回、QOL評価法としてSF36-ver. 2を、ハンディキャップ評価法としてHHIA (hearing handicap inventory for adult)が提案された。幼少児から片側高度難聴になった者その他の要因（聴神経腫瘍術後）で後天性に片側高度難聴になった者を比較対象者とした。各施設における倫理委員会提出のための資料、実際のアンケート調査実施説明書・調査用紙、必要症例数提示等の準備を進め、各施設に配布し調査を開始した。

(2) 突発性難聴患者のSNP解析：疾患関連遺伝子として細胞内シグナル伝達を担う蛋白質リン酸化酵素で、血管攣縮、アテローム動脈硬化で上昇するPKC(Protein Kinase C)の発現遺伝子であるPRKCHがコントロール群と比較して有意に上昇していることが明らかとなった。また、加齢性難聴におけるミトコンドリア遺伝子多型の検索を行った。平成17年度～19年度に登録した96名（加齢性難聴者48名、健聴高齢者48）に加えて、あらたに61名（加齢性難聴者28名、健聴高齢者33名）を追加登録し、解析対象は157例となった。398のSNPsのうち難聴者に有意に多いSNPsは9箇所あり、うち2箇所のSNPs(A3434G、G11696A)は非同義置換であった。D-loop領域の解析ではC16290T、A235Gの2箇所のSNPsが難聴者に有意に多く認められた。

(3) 突発性難聴に影響する遺伝子解析：平成21年度は突発性難聴に影響する遺伝子解析として、ステロイド剤によ

る治療成績（治療効果判定基準：厚生省班研究基準1984）により、著明回復以上群と回復以下群を分けて臨床情報の収集を行なうとともに遺伝子解析を開始した。また、突発性難聴、急性低音障害型難聴、特発性両側性感音難聴の遺伝的背景を調べるために、研究体制を多施設共同研究に拡大して遺伝子バンク構築を行う研究班を新たに立ち上げ、試料収集の流れ、収集する臨床情報の策定を行い、共同研究施設も含めて試料の収集を開始した。さらに、収集した臨床情報を管理するためのデータベースの構築を行い、その運用を開始した。

（4）急性感音難聴に関するストレスマーカーの動態調査：急性感音難聴54例（突発性難聴47例、急性低音障害型感音難聴4例、メニエール病急性期3例）を対象として、治療開始時に酸化ストレス度（d-ROMs test）、抗酸化力（BAP test）を測定した。対照として耳疾患の既往のない健聴者13例の測定値と比較した。酸化ストレス度はメニエール病急性期が最も高く、次いで低音障害型感音難聴、突発性難聴の準であったが、各疾患間に有意差を認めていない。また、突発性難聴では対照に比べ、酸化ストレス度は高く、抗酸化力は低い傾向がみられたが有意差はない。本年度より測定機器（FRAS4）を保有する3大学（慶應大、信州大、岩手医大）で多施設共同試験を開始した。

（5）突発性難聴における血清サイトカイン値と聴力予後に関する検討：突発性難聴新鮮例を対象に、各調査参加施設が炎症サイトカイン関連の血液検査（TNF、IL-6、高感度CRP、NK細胞活性）を行っ

た結果について検討した。その結果、発症から初回採血までの期間が短ければ、有意にNK細胞活性が低い、またTNF、高感度CRP、NK細胞活性はステロイド投与後に有意に低下していた。突発性難聴病態解明のため、さらに検討が必要と考えられた。

（6）低音障害型感音難聴に対する単剤治療における共同研究：急性低音障害型感音難聴新鮮例を対象に、各調査参加施設が単一の治療薬を選択して、一定期間治療を行った結果について比較検討した前研究班の研究を受けて、本研究班でも、さらに症例数を増やして検討を続けることとした。以前の検討では、単剤投与を2週間行った直後の聴力改善は、プレドニゾロン、イソバイド投与群に比べ、ATP投与群に良好な傾向が認められたが、統計学的有意差は認められなかった。しかしながら、この結果には、各群間に症例数の偏りがあること等のいくつかの問題点があったことから、本研究班では、対象症例を各薬剤で同じになるように調整し、さらに検討を行うこととする。

## 臨床研究

（1）急性低音障害型感音難聴の診断法の検討：低音障害型感音難聴は内リンパ水腫によって起きるといわれているが、これまで臨床の間では直接同定するのは容易とはいえなかった。低音障害型感音難聴症例に対して2kHzの刺激音を使用して、アドミッタンス測定ティンパノメトリーを用い検討を行った。その結果、患者の患側耳では、対側耳より有意に2つのピーク間より有意に幅が広がった。ま

た他難聴症例や正常症例との比較でも、有意に広がった。これらの結果から、アドミッタンス測定ティンパノメトリーは、低音障害型感音難聴と内リンパ水腫に特異的な検査法であり、有用なツールと考えられた。

(2) メニエール病・急性低音障害型感音難聴における血漿 AVP 値の日内変動：急性低音障害型感音難聴症例では、血漿 AVP 値は 9:00 に 1 つのピークを認めその後夜を迎える前に (15:00) 既に比較的高い値を示す傾向、メニエール病では 12:00 に最低値、19:00 に最高値をとりその間はこの 2 つの値に徐々に変化する傾向が示唆され、どちらにしても一般的な夜間は高値で日中は低値をとるとは異なり血漿 AVP の日内変動は崩れる傾向にあることが示唆された。

(3) 急性低音障害型感音難聴とメニエールの画像診断：急性低音障害型感音難聴の病因は単一ではないが、メニエール病と同様に内リンパ水腫の関与が有力視されている。メニエール病の素因として挙げられている前庭水管の発育不良が本疾患にも認められるか、急性低音障害型感音難聴、メニエール病、対照症例それぞれの前庭水管外孔幅を 3D-CT を用いて測定し、比較した。症例数を増やし検討した結果、急性低音障害型感音難聴再発症例においては、メニエール病同様に前庭水管外孔幅の狭小傾向を認めた。また、メニエール病患者において静脈注射 4 時間後の 3 テスラ MRI 撮影を行い、内耳構造の判別や内リンパ水腫の判定が可能か研究を行った。内リンパ腔の描出には、3D-FLAIR と 3D-real-IR の両撮影法を組

み合わせた評価が必要となる。メニエール病では無症状の対側耳においても、水腫所見を認める症例が多かった。また、患耳の造影効果が高く、血管透過性の亢進が示唆された。

(4) 急性低音障害型感音難聴の長期予後に関する検討：長期的に再発、またはメニエール病に移行する症例の頻度と傾向を解析した。また、初発例に対する ATP 単独投与効果に関する研究を計画した。

(5) 高音急墜型/高音漸傾型難聴症例の臨床像と遺伝的背景：デジタル補聴器や人工内耳の発達には目覚ましいものがあり、個々の症例の聴力像に応じてより良い補聴効果が提供できるようになってきた。しかし、高音急墜型難聴に対しては補聴器の調整が難しく、実際には患者の望む補聴効果、語音弁別能の改善はなかなか得られないことも多い。また、低音域の聴力が残存しているため人工内耳の適応にはならない。従来有効な治療法がない高音急墜型難聴に関する原因、病態に関して研究が十分になされているとは言えないのが現状である。一方近年、補聴器併用型人工内耳 (Electric Acoustic Stimulation: EAS) が欧米を中心に臨床応用され高音急墜型難聴の患者に対しての治療が可能になりつつある。今回の研究では EAS の適応となると思われる高音急墜型/高音漸傾型感音難聴について、その臨床像および遺伝的背景について検討した。また、人工内耳我有効であったミトコンドリア 625G>A 変異の 1 症例が報告された。ミトコンドリア 625G>A 変異はこれまで報告がなく、貴重な症例であっ

た。

(6) 本邦における *USH2A* 高頻度変異の探索と変異スペクトラムの検討：アッシャー症候群の早期診断に有効な遺伝子診断システムの構築を目指し、臨床症状よりタイプ 2 と診断した患者 10 人を対象として、*USH2A* 遺伝子解析を行った。10 人中 8 人の患者において 14 種の疾患原因変異を同定し、11 種は新規の変異であった。このことより、本邦患者では欧米人とは全く異なる変異によりアッシャー症候群を発症している可能性が高いと思われた。また、c. 8559-2A>G 変異は 1 人の患者において同定され、本邦 *USH2A* 患者における高頻度変異である可能性が示唆された。

(7) 急性高度難聴の治療法の検討：急性低音障害型感音難聴難治例に対する鼓室内ステロイド注入療法の効果を検討した。急性低音障害型感音難聴症例でステロイド剤全身投与による初期治療で改善の得られなかった 11 症例に対し、鼓室内ステロイド注入療法施行した。その結果、治癒が 4 例、改善が 4 例、不変が 3 例であった。また、聴力の高度障害例で単純ヘルペス抗体価高値例に対するバラシクロビル併用効果について検討した。現時点では明らかな有効性は示されていない。また、IL-1 受容体アンタゴニストが感音難聴の治療に奏功したクリオピリン関連症候群の一例が報告された。急性感音難聴の中には、聴力が変動しながら推移するタイプの自己炎症候群であるクリオピリン関連症候群に合併した感音難聴症例で IL-1 受容体アンタゴニストが奏功した。

(8) 遺伝性難聴の検討：変動する急性感音難聴のまれな病態の一つとして、CHINCA 症候群が報告された。現在この症例に対して IL-1 受容体アンタゴニストの投与を行っており、その経過中における聴力の推移について検討した。Gap junction proteins は 6 量体を形成してギャップ結合を形成し、少なくとも 16 種類のアイソフォームが存在する。*GJA1*、*GJB3*、*GJB6* の変異は非症候群性難聴、*GJB1* の変異は症候群性難聴、*GJB2* の変異は非症候群性難聴または症候群性難聴をきたす。マウス大脳皮質、嗅球、小脳皮質、橋、三叉神経節、蝸牛、前庭、眼球、下垂体、副腎、甲状腺、皮膚、小腸、肺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓での発現を RT-PCR で検討した。神経感覚組織では一様に *Gjal*、*Gjb2*、*Gjb6* の発現を認めた。また、副腎、小腸、肺では *Gjb2* (または *Gjb6*) を発現していても *GJB6* (または *GJB2*) を発現していなかった。以上の様にその変異が非症候群性難聴を呈する Gap junction proteins であっても多様な臓器で発現をみとめた。また、遺伝性難聴が疑われる 373 例の難聴者を対象として、蛍光ビーズ・アレイ Luminex 法を用いた mtDNA 変異の網羅的解析を施行した。遺伝性難聴の診断および疫学調査における本システムの有効性が示された。MELAS 例の側頭骨標本から、レーザーキャプチャーマイクロダイセクションにて内耳機能単位別の各コンポーネントを抽出した。リアルタイム PCR による mtDNA 定量解析から、組織学的所見と変異率がほぼ一致することを明らかにした。さらに、ヒト側頭骨標本における免疫組織化学的手法を確立

し、難聴遺伝子産生タンパクの内耳内局在を明らかにした。(4) 常染色体優性遺伝性難聴家系において、*WFS1* 新規変異を同定した。難聴遺伝子 *Vlgr1* 欠失マウスにおいて、聴源性痙攣と背景となるマウス系統、聴覚との関係を明らかにした。また、前庭誘発筋電位により、mtDNA1555A>G 例における球形嚢障害を明らかにした。

### 基礎研究

(1) 急性音響外傷マウスモデルにおける血清フリーラジカル測定の解析：近年、強大音響刺激による内耳障害において、蝸牛内での活性酸素およびフリーラジカルの産生が増加する事が報告されている。今回、WISMERLL社製Free Radical Analytical System4 F.R.E.E.を用いて、音響外傷モデルマウスから採取された血液より酸化ストレス度、抗酸化力を測定し、これまでに報告された音響外傷に伴う内耳での活性酸素(ROS)・フリーラジカルの増加を、血液検体にて検出できるのかを検証した。

(2) 難聴関連コネクシンの組織別発現パターン：コネクシンファミリーのうち、その遺伝子変異が難聴を引き起こすアイソフォーム (*Gjal*, *Gjb2*, *Gjb1*, *Gjb3*, *Gjb6*) の発現を成体マウスの全身各臓器で検討した、その結果、蝸牛に発現する主なコネクシンは *Gjal*, *Gjb2*, *Gjb6* であること、遺伝子異常による症状が非症候群性難聴であっても、その発現は全身各臓器にみとめられることがわかった。

(3) 蝸牛における質量分析イメージングの試み：質量分析イメージングは生体分子の分子量を測定する質量分析法と、

従来からの顕微鏡法をあわせた近年開発された生体分子の解析方法である。組織切片を直接解析することで生体分子の質量という生化学的情報と、質量による切片上での分布という形態学的情報を同時に得ることが可能となった。この手法を用いた蝸牛における研究報告はなく、蝸牛で応用できるか検討した。

(4) 蝸牛有毛細胞障害の機序の検討：ラット蝸牛組織培養のゲンタマイシン障害モデルのマイクロアレイの結果を解析し、細胞障害、細胞保護に作用する可能性のあるタンパクのmRNA 量の変化を検討した。

(5) 一過性内耳虚血モデルを用いた治療効果：内耳虚血負荷後に低体温を施行した場合と施行しなかった場合のNOx濃度の測定を行い、両群を比較することで治療効果の機序に関与しているかどうかを検討した。結果、虚血後も常温を保つコントロール群は虚血前の約2.7倍の上昇が認められていたが、低体温群のNOx濃度は虚血後1時間から6時間後に低体温を負荷したいずれの群においてもNOx濃度の上昇は軽減されていた。以上のことより、内耳虚血負荷後の低体温ではNOx産生を抑制することにより、虚血性内耳障害に対する保護効果を持つことが示唆された。また、アポトーシス抑制ペプチド「AM-111」を虚血後投与し、その内耳保護効果を検討した。実験にはスナネズミを用いた。両椎骨動脈虚血30分後に正円窓上にAM-111含有ゲルもしくは生理食塩水含有ゲルを留置した。評価には生理学的検討として処置前後のABRを、組織学的検討として内有毛細胞の脱落率を



カウントした。AM-111 投与群では生食投与群に比較して ABR 閾値上昇および内有毛細胞の脱落率が有意差を持って抑制することが出来た。AM-111 は一過性内耳虚血に対して有効であることが示唆された

(6) 内耳虚血・再灌流障害に対する人工酸素運搬体の有用性：人工酸素運搬体の一つである Liposome-encapsulated hemoglobin (LEH) を用いて一過性内耳虚血に対する有用性を検討した。虚血30分前に生食、低酸素親和性 LEH (l-LEH)、高酸素親和性 LEH (h-LEH)、赤血球のいずれかを静注した。LEH 群は生食群と比較し虚血後の聴力閾値の上昇を有意に抑制した。また、h-LEH は l-LEH より有意に聴力閾値の上昇を抑制した。赤血球投与では同様の効果は得られなかった。内有毛細胞脱落割合も同様の結果であった。LEH は虚血性内耳障害に対して有効であることが示唆された。また、虚血下においては酸素親和性が高い方が有利であると思われた。

(7) 老人性難聴の発症におけるビタミン C の役割：老人性難聴の発症に酸化ストレスが関与していること、CoQ10 や $\alpha$ リポ酸などの抗酸化物質が予防に有効なこと、Bak 遺伝子が老化に伴う蝸牛有毛細胞やラセン神経節の障害に関与していることを見出した。ビタミン C 合成能の欠損した SMP30/GNL ノックアウトマウスを用いて、ビタミン C の欠乏・補充が加齢性難聴に及ぼす影響を検討した。ビタミン C の欠乏は加齢性難聴を促進する可能性があることと、ビタミン C の補充は加齢性難聴の予防にはならないことが示唆された。

(8) 選択的セロトニン再取り込み阻害薬によるマウス下丘神経細胞自発発火パターンの変化：中脳下丘は主に聴覚系の求心性神経中継核である。最近、セロトニンが神経調節物質として下丘の神経伝達に関わっているという報告が複数あり、神経細胞レベルでは GABA 作動性の抑制性入力を亢進させるとされている。本研究では、その結果を確認し、さらにグリシン作動性抑制性入力についての効果を調べた。さらに選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) の薬理学的効果についてパッチクランプ法を用いて調べた。その結果、SSRI の投与によって下丘神経細胞自発性抑制性シナプス後電流 (sIPSC) の頻度が増大した。

(9) ラット台形体におけるサリチル酸の効果—パッチクランプ法による検討：中脳下丘は主に聴覚系の求心性神経中継核である。最近、セロトニンが神経調節物質として下丘の神経伝達に関わっているという報告が複数あり、神経細胞レベルでは GABA 作動性の抑制性入力を亢進させるとされている。本研究では、その結果を確認し、さらにグリシン作動性抑制性入力についての効果を調べた。さらに選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) の薬理学的効果についてパッチクランプ法を用いて調べた。その結果、SSRI の投与によって下丘神経細胞自発性抑制性シナプス後電流 (sIPSC) の頻度が増大した。

### Ⅲ. 分担研究報告

## 「突発性難聴」診断基準の見直しについて

分担研究者：岡本牧人（北里大学医学部耳鼻咽喉科）

### 研究要旨

突発性難聴診断基準は昭和48年の厚生省特定疾患突発性難聴調査研究班によって制定された（表1）。以来、本診断基準は全国に普及し、また、3回の全国疫学調査も行われている。35年以上を経た現在、診断基準の見直しが必要かどうか、見直す場合どの部分が相当するかについて検討した。

班員に本基準の改定の必要の有無について調査したところ、10施設中4施設で改定についての意見があった。必要無しは6施設で多数決では現行のまま、ということになるが、必要ありの4施設の意見を検討することとした。

1. 改定についての意見は以下のごとくである。

1) 主症状の「高度」について：

「高度な」といいつつ、次行の解説で、「必ずしも高度である必要は無い」というのは矛盾していてわかりにくい。また、高度の聴力基準があいまいである。

2) 主症状の「原因不明」について：

どこまで検査した上での「原因不明」があいまいで、結果として後に診断名が変更されることによる訴訟なども生じている。37年を経て、検査も普及してきたが、施設間でのばらつきもあり、ある程度の指針が必要と思われる。

3) 副症状について：

診断基準の「確実例」は副症状の「全事項をみたすもの」とあるが、耳鳴りはほぼ全例に認められるものの「めまい、および吐き気、嘔吐」は30%程度（20-70%）であり、みだされない可能性がある。

4) 参考の「recruitment現象」について：  
当時は本疾患が内耳性かどうかを含めて議論され、それに関連して「recruitment現象」の有無の報告も見られたが、そもそも本検査は内耳性難聴で必ずしも100%出現するものではない。その後、CT、MRIなどの画像診断やABRなどの検査により、後迷路性のものは否定されるようになったので、必ずしも「recruitment現象」にこだわる必要もなくなってきた。現在ではこの項目は不要ではないかと思われる。

5) その他：本疾患は我が国独自のものではない。今後海外に発信していくためにも海外の基準との整合性をつける必要があるという意見が寄せられた。具体的には、聴力基準とも関連するが、「連続する3周波数で30dB以上の低下がみられたもの」とするものである。

6) 反対意見：診断基準が変わると、これまでの疫学調査との整合性がなくなる。

1. 診断基準を改定する際のたたき台（表2）以上の議論を踏まえて、表2のような改定案を試作した。今後の議論（継続するかどうかも含めて）のたたき台としたい。

## 表 1. 突発性難聴診断基準

(厚生省特定疾患突発性難聴調査研究班、1973年)

### 主症状

#### 1. 突然の難聴

文字どおり即時的な難聴、または朝、目が覚めて気づくような難聴。

#### 2. 高度な感音難聴

必ずしも「高度」である必要はない、実際問題としては「高度」でないと突然難聴になったことに気づかないことが多い。

3. 原因が不明、または不確実つまり、原因が明白でないこと。

### 副症状

#### 1. 耳鳴り

難聴の発生と前後して耳鳴りを生ずることがある。

#### 2. めまい、および吐き気、嘔吐

難聴の発生と前後してめまいや、吐き気、嘔吐を伴うことがあるが、めまい発作を繰り返すことはない。

### 診断の基準

確実例：主症状、副症状の全事項をみたくすもの。

疑い例：主症状の1. 2. の事項をみたくすもの。

### 参考

1. recruitment 現象の有無は一定せず。
2. 聴力の改善・悪化の繰り返しはない。
3. 一側性の場合が多いが、両側性に同時罹患する例もある。
4. 第8脳神経以外に顕著な神経症状を伴うことはない。

### 参考文献

- 1) 三宅弘：突発性難聴の臨床. 日本耳鼻咽喉科学会第76回総会宿題報告・モノグラフ. 1975.
- 2) Stokroos RJ, et al :Antiviral treatment of idiopathic sudden sensorineural hearing loss: a prospective, randomized, double-blinded clinical trial. Acta Otolaryngol 1998;118: 488-495.