

難治性内耳疾患の遺伝子バンク構築研究

分担研究者：宇佐美真一（信州大学医学部耳鼻咽喉科）
共同研究者：工穰、鬼頭良輔、西尾信哉（信州大学医学部耳鼻咽喉科）
共同研究者：小川郁（慶應大学医学部耳鼻咽喉科）
共同研究者：渡辺行雄（富山大学大学院医学薬学研究部(医学)耳鼻咽喉科頭頸部外科学講座）
共同研究者：喜多村健（東京医科歯科大学医学部耳鼻咽喉科）
共同研究者：中島務（名古屋大学医学部耳鼻咽喉科）
共同研究者：岡本牧人（北里大学医学部耳鼻咽喉科）
共同研究者：暁清文（愛媛大学医学部耳鼻咽喉科）
共同研究者：福田諭（北海道大学医学部耳鼻咽喉科）
共同研究者：佐藤宏昭（岩手医科大学医学部耳鼻咽喉科）
共同研究者：山唄達也（東京大学医学部耳鼻咽喉科）
共同研究者：福島邦博（岡山大学医学部耳鼻咽喉科）
共同研究者：水田邦博（浜松医科大学耳鼻咽喉科）
共同研究者：池園哲郎（日本医科大学医学部耳鼻咽喉科学）
共同研究者：伊藤壽一（京都大学大学院医学研究科耳鼻咽喉科・頭頸部外科学）
共同研究者：柿木章伸（東京大学医学部附属病院耳鼻咽喉科）
共同研究者：肥塚泉（聖マリアンナ医科大学耳鼻咽喉科学）
共同研究者：鈴木衛（東京医科大学耳鼻咽喉科）
共同研究者：高橋克昌（群馬大学大学院医学系研究科聴平衡覚外科学）
共同研究者：工田昌也（広島大学病院耳鼻咽喉科頭頸部外科）
共同研究者：武田憲昭（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部耳鼻咽喉科分野）
共同研究者：土井勝美（大阪大学大学院医学系研究科耳鼻咽喉科学）
共同研究者：山下裕司（山口大学大学院医学系研究科耳鼻咽喉科学分野）
共同研究者：高橋正紘（横浜中央クリニック・めまいメニエール病センター）
共同研究者：青木光広（岐阜大学医学部附属病院耳鼻咽喉科・頭頸部外科）
共同研究者：長沼英明（北里大学病院 耳鼻咽喉科・神経耳科）

研究要旨

本研究では、突発性難聴、特発性両側性感音難聴、メニエール病、遅発性内リンパ水腫に加え、急性低音障害型感音難聴および良性発作性頭位めまい症を対象に、原因の特定および新たな治療法を開発するために必要な「遺伝子バンク」の構築を目的としている。本年度は急性高度難聴に関する調査研究班および前庭機能異常に関する調査研究班と連携して、サンプルおよび臨床データの収集を行い、遺伝子バンクを構築することで、短期間で充実したDNAバンクの構築を目指して研究を実施した。

研究目的

突発性難聴、特発性両側性感音難聴、メニエール病、遅発性内リンパ水腫は特定疾患（難病）に含まれ、患者のQOLを著しく低下させるため疾患の克服が期待されている。これらの疾患に関して、従来から種々のアプローチで研究されているにもかかわらず、未だ発症メカニズムは不明である。

本研究では、突発性難聴、特発性両側性感音難聴、メニエール病、遅発性内リンパ水腫に加え、急性低音障害型感音難聴および良性発作性頭位めまい症を対象に、原因の特定および新たな治療法を開発するために必要な、発症メカニズムの解明等の基礎研究の推進に必要な遺伝子バンクを構築することを目的としている。

研究方法

突発性難聴、特発性両側性感音難聴、メニエール病、遅発性内リンパ水腫は、従来から種々のアプローチで研究されているにもかかわらず、未だ発症メカニズムが未解明である。近年の分子遺伝学的手法の進展により、遺伝学的アプローチにより発症メカニズムの解明や薬剤効果などを解析することが可能となってきたため、分子遺伝学的手法をこれらの疾患に応用することを目的としている。このような分子遺伝学的研究を実施するためには、生体試料（DNA）バンクと臨床情報データベースが必要不可欠である。そこで、本研究では下記の方法により遺伝子バンクおよび臨床データベースの構築を実施した。（図1）

(1) 臨床情報収集のための調査項目の検討

本研究により構築されるDNAバンクは、ゲノムワイドの相関解析や薬剤効果の違いに基づいたファーマコゲノミクス解析に利用されることが想定されるため、DNAの収集とともに臨床情報を収集する必要がある。また、多施設共同研究の体制により研究を行うため、試料収集に先立ち、調査する患者の選定基準を統一するとともに、調査する臨床情報項目を統一する必要がある。

本研究の対象とする疾患は、遺伝的要因と環境的要因の複合により発症すると考えられているため、収集する臨床情報としては、経過・発症から受診までの期間・治療前の聴力・薬剤の種類・投与量・投与期間・聴力の改善の程度・既往歴などの臨床情報とともに、喫煙歴・飲酒歴などの環境情報を含めた。

(2) 遺伝子バンクの技術基盤整備

遺伝子バンクの構築に必要な、コンピュータ等のハードウェアおよびデータベースソフトウェアを整備する。また、安定して増幅可能な全ゲノム増幅キットの選定を行なった。

(3) DNAおよび臨床情報の収集

上記(1)で確定した患者選定基準に基づき、突発性難聴、特発性両側性感音難聴、メニエール病、遅発性内リンパ水腫と診断された患者を対象に、十分な説明の上、書面で同意を得て臨床情報調査項目の調査・採血を行う。各研究機関において採血時に匿名化を行い個人情報保護に

配慮を行う。匿名化された血液は委託業者で DNA 抽出を行った後、信州大学に搬送されバンクする。集積された DNA 試料は、全ゲノム増幅を行い、希少な DNA 試料を安定に供給可能な体制を整えた。

(4) 臨床情報データベースの構築

構築された DNA バンクは、将来的にゲノムワイドの相関解析や薬剤効果の違いに基づいたファーマコゲノミクス解析に利用されることが想定されるため、臨床情報のデータベースを構築して、経過・発症から受診までの期間・治療前の聴力・薬剤の種類・投与量・投与期間・聴力の改善の程度・既往歴などの臨床情報、喫煙歴・飲酒歴などの環境情報のどちらでも検索可能なデータベースを構築して、解析対象 DNA サンプルを効率的に選び出せるシステムを用意し、DNA バンク構築後の利用を促進する必要がある。本研究では信州大学医学部耳鼻咽喉科の管理運する日本人難聴遺伝子データベースを基にカスタマイズを行い、各疾患の調査項目でクロス検索可能なデータベースの構築を行った。

(倫理面への配慮)

研究の実施に先立ち主任研究機関および共同研究機関とも遺伝子解析倫理委員会に倫理審査の申請を行い、承認を受けた上で実施している。試料の採取に際しては、患者用説明書を用いて十分な説明を行った上、書面で同意を得てから実施する。また、個人情報の保護に配慮し、採血を行う時点で各施設において匿名化を行い個人を特定できないようにし

た後でDNA抽出およびバンクを行う手順を遵守して実施している。

結果と考察

(1) 臨床情報収集のための調査項目の検討

本研究により構築される DNA バンクは、ゲノムワイドの相関解析や薬剤効果の違いに基づいたファーマコゲノミクス解析に利用されることが想定されるため、DNA の収集とともに聴力像や治療効果などの臨床情報を収集する必要がある。また、多施設共同研究の体制により研究を行うため、試料収集に先立ち、調査する患者の選定基準を統一するとともに、調査する臨床情報項目を統一する必要がある。そこで研究分担者および研究協力者を対象に研究会議を行い、患者選定基準および調査項目に関する検討を行った。検討結果を基に別紙のように各疾患ごとに臨床情報調査用紙（DNA 採血時チェックリスト）を作成した。臨床調査用紙には患者選定基準を要約したものを掲載することで、試料収集時に用紙が複数にわたることで生じる混乱を回避するよう配慮を行った。また、機能検査に関しても同様に同一様式内に判定基準を掲載することで、共同研究機関での記載の統一化・簡素化につながるよう配慮した。

調査項目としては、患者基本情報（採血日、性別、発症年齢、慎重、体重、生年月日、年齢）、診断基準情報（診断基準による症例の評価、罹患側）、問診調査項目（めまいの有無、耳鳴の有無、家系内罹患者の有無、糖尿病の既往、高脂血

症の既往、腎疾患の既往、脳梗塞の既往、心疾患の既往、喫煙習慣の有無、飲酒習慣の有無など)、治療内容(ステロイド、ビタミン製剤、循環改善薬等の薬剤治療の内容など)、聴力検査の結果(初診時聴力、固定時あるいは最新聴力)、機能検査項目(カロリック検査、VEMP、グリセロールテストなど)など、各疾患の特徴に併せて項目を選定した。

(2) 遺伝子バンクの技術基盤整備

遺伝子バンクの構築に関しては、信州大学医学部耳鼻咽喉科学教室が従来より管理・運営している日本人難聴遺伝子データベースが、クロス検索や絞り込み検索も可能であり聴力像や臨床像を基に様々な条件での検索が可能なプラットフォームを利用しており優れていること、また研究期間が短いためゼロからデータベースを構築する時間が無いため既存のデータベースを基盤に整備した方が効率的であることをふまえ、本研究では、日本人難聴遺伝子データベースを基に上記(1)で確定した調査項目に対応するようにカスタマイズを行い、各疾患の調査項目でクロス検索可能なデータベースの構築を行った。

また、本研究により構築されるDNAバンクは、発症メカニズムの推定や薬剤効果の解明などを研究する複数のプロジェクトでの利用が想定される。希少疾患のDNAバンクであるため、できるだけ多くの研究プロジェクトにDNA分与を行うためには、TaqMan法やマイクロアレイを用いたSNPタイピングなどの比較的

短いDNAでも解析可能な研究に関しては、全ゲノム増幅法(Whole Genome Amplification: WGA)で増幅したゲノムDNAを分与することで、貴重な試料をより多くのプロジェクトに分与することが今後重要となってくる。

現在、候補遺伝子や関連遺伝子解析のツールとして主に用いられているのは、マイクロアレイを用いたSNPタイピングによるゲノムワイド相関解析(Genome Wide Association Study: GWAS)やTaqMan法を用いた候補遺伝子解析であるため、これらのアプリケーションに対応可能な全ゲノム増幅キットの使用が望ましい。現在、全ゲノム増幅キットとしてはillustra GenomiPhi DNA Amplification Kit (GEヘルスケアバイオ)とTITANIUM DNA Amplification Kit (Clontech)がillumina・Affimetrix社のDNAマイクロアレイを用いる際の基盤技術として比較的良く用いられている。TITANIUM DNA Amplification KitはPCRベースの技術であるため技術的信頼度は高いが、反面増幅産物の平均塩基長が非常に短くなる傾向があるため、増幅産物を直接シーケンス法などの比較的長いDNAが必要な研究に汎用することが困難となる。そこで、本研究ではillustra GenomiPhi DNA Amplification Kitを採用し全ゲノム増幅を行なった。また、サンプル間のばらつきを軽減し等しい効率で全ゲノム増幅を行うためには、正確なDNA濃度の測定が必要である。本研究ではインターカレーター法を用いた2本鎖DNA特異的定量法であるQuant-iT PicoGreen ds DNA定量キット

を用いて2本鎖 DNA の濃度を正確に計測して増幅を行う前の定量を行った。

(3) DNA および臨床情報の収集

本研究は、急性高度難聴に関する調査研究班および前庭機能異常に関する調査研究班と連携して試料および臨床情報の収集を行う研究体制であるため、各班の研究打合せの際に共同研究の詳細な内容説明を行うとともに、倫理委員会申請およびサンプル収集の流れに関して打合せを行った。共同研究各施設では試料収集に先立ち、遺伝子解析倫理委員会に倫理審査の申請を行い、承認を得られた施設から順次試料の収集及び臨床情報の収集を開始している状況である。

本研究では、抽出された DNA の品質がその後の解析に影響を及ぼす可能性を十分に考慮し、常に安定した高品質の DNA を得ることを目的に、血液試料の回収および血液試料からの DNA の抽出を外部委託で実施している (図2)。

倫理委員会で承認の得られた施設では、上記(1)で確定した患者選定基準に基づき、突発性難聴、特発性両側性感音難聴、急性低音障害型難聴、メニエール病、遅発性内リンパ水腫、良性発作性頭位めまい症と診断された患者を対象に、患者用説明用紙を用いて十分な説明を行った上、書面で同意を得て、臨床情報調査項目の調査・採血を行った。研究期間が6ヶ月と短いため、多くの施設が倫理委員会の承認待ちあるいは承認が得られたばかりという状況であり、本格的な試料の収集はこれからであるが、現在までに、信州大学を中心に 250 例以上の収集が

行われており、今後さらに多くの試料の収集が可能であると考えられる。また、本研究での収集対象試料が DNA であることより、過去に突発性難聴、特発性両側性感音難聴、急性低音障害型難聴、メニエール病、遅発性内リンパ水腫、良性発作性頭位めまい症に罹患し、共同研究各施設で加療を受けた患者に対する後ろ向きの試料収集も可能であるため、今後バンク症例数の増加が期待出来る。

結論

本年度の研究により、特定疾患 (難病) に含まれている希少な疾患である、突発性難聴、特発性両側性感音難聴、メニエール病、遅発性内リンパ水腫の DNA 試料収集のための基盤体制となる臨床調査項目の決定、試料収集システムの開発、全ゲノム増幅キットの選定、データベースの構築を行い、DNA バンクを構築するための基盤を整備することができた。また、実際に 250 症例を超える試料を収集することができた。

参考文献

1. Dean, F. et al., Genome Research 11, 1095-1099 (2001).
2. Lizardi, P. et al., Nat. Genet. 19, 225-232 (1998).
3. Estaban, J.A. et al., J. Biol. Chem. 268, 2719-2726 (1993).
4. Nelson, J.R. et al; BioTechniques 32, S44-S47 (2002).

研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表
3. その他の発表

(1) 宇佐美真一、鬼頭良輔、鈴木伸嘉、西尾信哉 難治性内耳疾患の遺伝子バンク構築 2009年10月8日 急性高度難聴に関する調査研究班 研究経過報告会（新宿）

(2) 西尾信哉、鬼頭良輔、鈴木伸嘉、工穰、宇佐美真一 難治性内耳疾患の遺伝子バンク構築 2010年2月13日 急性高度難聴に関する調査研究班 研究成果報告会（信濃町）

知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

図1 研究の流れ

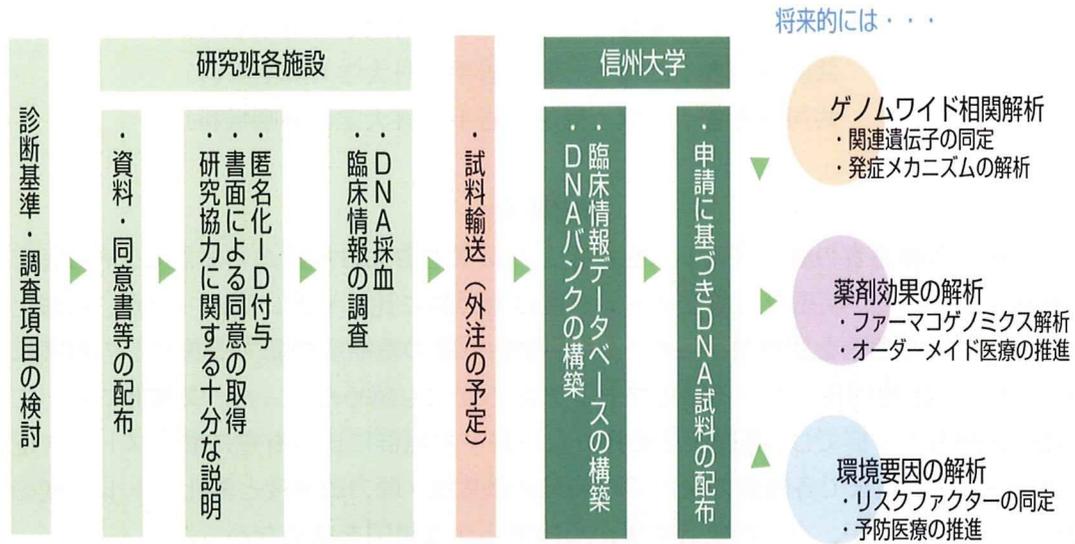
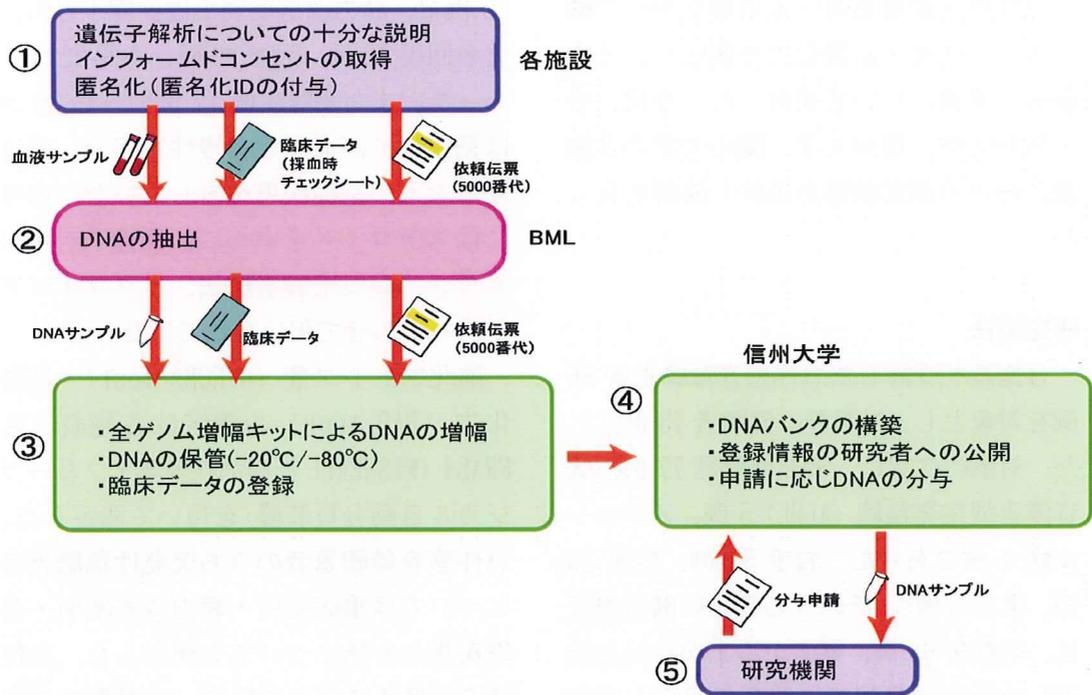


図2 サンプルの流れ



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—

分担研究者：佐藤 宏昭（岩手医科大学耳鼻咽喉科）

共同研究者：菊池 淳（岩手医科大学耳鼻咽喉科）

共同研究者：山崎 一春（岩手医科大学耳鼻咽喉科）

共同研究者：大塚 尚志（岩手医科大学耳鼻咽喉科）

研究要旨

急性感音難聴患者の酸化ストレスを測定した結果を参加3施設から集計し、その臨床的意義を検討した。疾患群の酸化ストレス度は対照群に比べ有意に高かったが、抗酸化力については有意差を認めなかった。また突発性難聴の重症度や聴力改善度との相関は認められず、治療前後における酸化ストレス度の変化も認めなかった。突難群において基礎疾患を有する群では、基礎疾患を持たない群や対照群に比べ有意に酸化ストレス度が高かった。これまで各施設の検討では突難の重症度・聴力改善度と酸化ストレス度の関連が示唆されたが、今回の集計結果からは明らかな相関を認めなかった。

研究目的

急性感音難聴患者の末梢血を用いて酸化ストレス度・抗酸化力を測定し、その臨床的意義について検討した。今回、岩手医科大学、信州大学、慶応大学の3施設における測定結果を集計し検討を行った。

研究方法

3施設を受診した急性感音難聴患者 86 例を対象とし、対照群は健聴者 13 例とした。対象の内訳は、突発性難聴 77 例、低音障害型突発難聴 (ALHL) 5 例、メニエール病 4 例であった (岩手 57 例、信州 26 例、慶応 3 例)。そのうち突難症例の内訳は、新鮮例 68 例、発症から 1 か月以上経過した陳旧例 9 例で、前医で何らかの治療歴を有していたものは 26 例、治療歴を持たないものは 44 例、不明 7 例であった。重症度別では grade 1 が 7 例、grade

2 が 22 例、grade 3 が 26 例、grade 4 が 22 例で、聴力改善度別では治癒 19 例、著名回復 16 例、回復 20 例、不変 22 例であった。また突難症例 77 例のうち 30 例は糖尿病や高血圧症、慢性腎不全、悪性腫瘍などの基礎疾患を有していた。治療にはステロイドを中心に、低分子デキストラン、高気圧酸素療法、イソソルビドが組み合わせて用いられていた。

酸化ストレス度 (d-ROMs test)・抗酸化力 (BAP test) の測定は各施設とも FRAS4 (WISMERLL 社製活性酸素・フリーラジカル自動分析装置)を用いて測定した。急性感音難聴患者のうち突発性難聴患者については重症度別・聴力改善度別・基礎疾患の有無についても検討した。急性感音難聴患者群と対照群、突難群と対照群の統計学的有意差検定には Student' s t-test を用い、突難群における重症度別・聴力改善度別・治療前後の変化につ

いての検定には分散分析を用いた。また突難群における基礎疾患の有無についての検定にはマン・ホイットニー検定を用いた。

(倫理面への配慮) 本研究は各施設において倫理委員会で承認を受けた上で行われた。また対象者には研究内容を十分に説明し同意を得た。

研究結果

1) d-ROMs test は、急性感音難聴群で 319 ± 97.3 U. CARR、対照群で 264.1 ± 59.9 U. CARR と急性感音群で有意に高かった ($p < 0.05$)。またALHL、メニエール病を除いた突難群も 317.8 ± 100.8 U. CARR と対照群と比べて有意に高かった ($p < 0.05$)。BAP test は、急性感音難聴群で $2636.1 \pm 730.7 \mu\text{mol}/\ell$ 、対照群で $2704.7 \pm 342.6 \mu\text{mol}/\ell$ と統計学的に有意差を認めなかった ($p > 0.05$)。突難群も $2672.9 \pm 745.8 \mu\text{mol}/\ell$ と対照群との間に有意差を認めなかった ($p > 0.05$)。(図1)

2) 突難群の重症度別に d-ROMs test の結果を比較したが、各群間に有意差を認めなかった ($p > 0.01$) (grade1 322.6 ± 49.7 U. CARR、grade2 309.7 ± 96.1 U. CARR、grade3 337.4 ± 128.3 U. CARR、grade4 302.6 ± 84.8 U. CARR)。

3) 聴力の改善度別に比較したが、有意差は認められなかった ($p > 0.05$) (治癒 344.0 ± 84.3 U. CARR、著名回復 340.5 ± 158.4 U. CARR、回復 331.5 ± 95.7 U. CARR、不変 270.9 ± 49.9 U. CARR)。

4) 突難症例において基礎疾患の有無で d-ROMs test の結果を比較した結果、基礎

疾患あり 349.3 ± 129.6 U. CARR、基礎疾患なし 298.2 ± 75.8 U. CARR と基礎疾患のある群は、基礎疾患のない群及び対照群と比較して有意に高かった ($p < 0.05$) (図2)。基礎疾患を持たない突難群(新鮮例)の d-ROMs test の結果は 298.1 ± 77.8 U. CARR と対照群との間に有意差は認めなかった ($p > 0.05$)。

5) 治療前後の比較では、初診時 350.9 ± 74.2 U. CARR、1週後 308.1 ± 43.0 U. CARR、3週後 336.3 ± 59.5 U. CARR と有意差は認めなかった ($p > 0.05$)。

考察

これまでの各施設の検討では、突難の重症度や聴力改善度などと酸化ストレス度の関連が示唆されていたが、今回3施設の測定結果を集計した結果はそれらのいずれとも相関を示さなかった。また初診時の酸化ストレス度はこれまでの報告と同様高かったものの、基礎疾患の検査に与える影響を除外して検討してみると有意差は認めないという結果だった。ただし項目を細分化しての検討では未だ症例数が少なく、詳細を結論づけるには至っていない。FRAS4を用いた酸化ストレスの測定は簡便・短時間で行える検査であり、臨床的な意義を見出すことができれば有用性は高いと考えられる。今後も引き続き症例を蓄積し重症度別の聴力改善度、各疾患群の比較など、より詳細な検討が必要と思われる。

結論

急性感音難聴患者における酸化ストレスについて、3施設の測定結果を集計し

検討した。疾患群における酸化ストレス度は有意に高かったが、基礎疾患を有する群を除外した検討では有意差が認められなかった。また突難の重症度や聴力改善度との相関は認められなかった。急性低音障害型感音難聴、メニエール病の症例数はまだ少なく、さらに症例を蓄積したうえでの比較検討が必要と考えられる。

健康危険情報

なし

研究発表

論文発表

なし

2. 学会発表

第 24 回いわて耳のセミナー 盛岡市、
2010 年 3 月

知的財産権の出願・登録状況

なし

図 1

突難症例の酸化ストレス

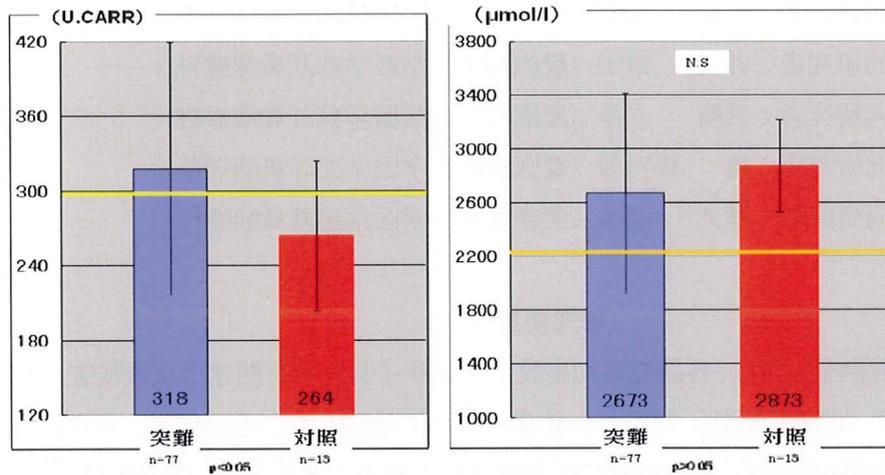
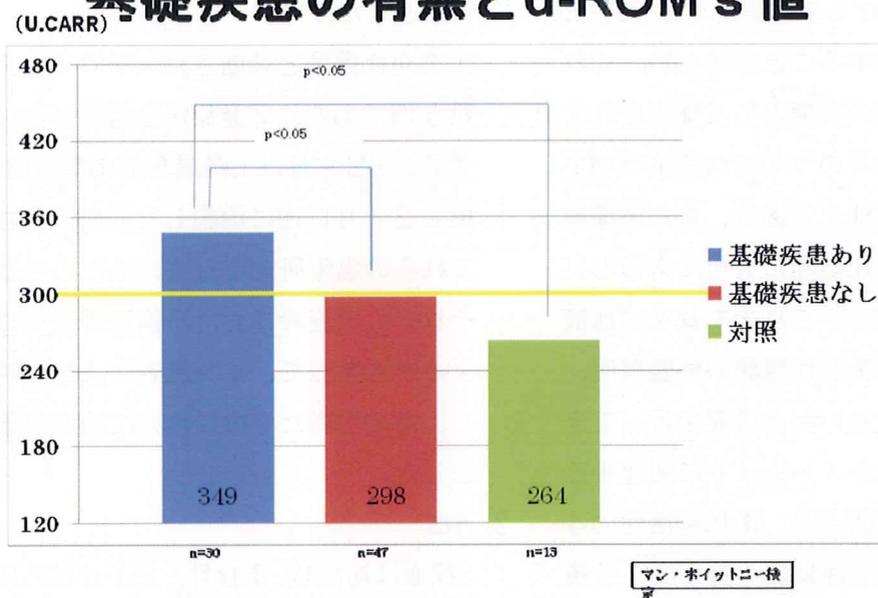


図 2

突難症例における 基礎疾患の有無とd-ROM s 値



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

主任研究者：小川 郁（慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科）

分担研究者：佐藤 宏昭（岩手医科大学医学部耳鼻咽喉科）

共同研究者：井上 泰宏（慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科）

共同研究者：神崎 晶（慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科）

共同研究者：南 修司郎（慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科）

共同研究者：渡部 高久（慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科）

研究要旨

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。

研究目的

突発性難聴とは突然発症する感音難聴のなかで、明らかな原因が存在しないものであり、いまだその病態は不明であり、その予後を推測することは難しい。これまで突発性難聴の病態として推測されているものは、内耳のウイルス感染や蝸牛の血流障害など様々であり、また循環障害の治療が突発性難聴に有用であるという報告もみられる。これまで我々は血液検査所見により突発性難聴の病態解明、予後判定ができないかと研究を行ってきた。今回は炎症サイトカインに関連するTNF、IL-6、高感度CRP、NK細胞活性の4つについて、突発性難聴の重症度、予後別に検討を行った。

研究方法

1. 対象

以下①～⑤の条件を満たした症例を対象とした。

①突発性難聴と診断されステロイド未投与例である、②発症後2週間以内の受診、③2ヶ月以上経過を追えた症例、但し2ヶ月以内に治癒した症例を含む。これらの臨床研究を行うにあたっては、それぞれの施設における倫理委員会による承認を得て、また患者によく説明し、承諾を得たものについてのみ対象とした。

2. 方法

採血は初診時、7日目、21日目の3時点とした。各項目の測定はSRLに委託した。治療はステロイド、血管拡張剤、

ビタミン12の内服投与を行った。なお、調査期間は平成14年11月～平成21年12月とし、さらに調査終了後に規定の調査用紙に下記調査・観察項目を各施設の担当者が記載して、センター施設（慶應大学）に送付し、これをまとめることとした。

調査・観察項目

① 患者情報

カルテ番号、氏名(イニシャル)、性別、年齢、職業

② 突発性難聴情報

発症年月日、初診日、治療開始日(病日) 発症誘因、発症時状況、随伴症状、初診時オーディオグラム、眼振所見、既往歴、合併症

③ 治療情報

入院の有無、治療薬、併用薬、治療期間、治療開始時、1週後、3週後、2ヶ月後、固定時のオーディオグラム

3. 結果

登録された症例は全38例(男性22例、女性16例、平均年齢54±15歳)であった。厚生労働省急性高度感音難聴研究班の基準に則り、初診時の重症度別に予後(治療、改善、不変、悪化)に分類し検討した結果を表1に示す。

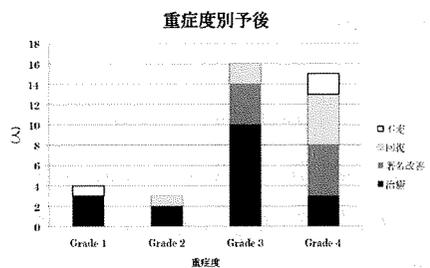


図1

初診時のTNF、IL-6、高感度CRP、NK細胞活性を発症からの日数、重症度、予後別に検討した。有意差を認めたのは、発症からの日数とNK細胞活性に正の相関を認めた(図2)。

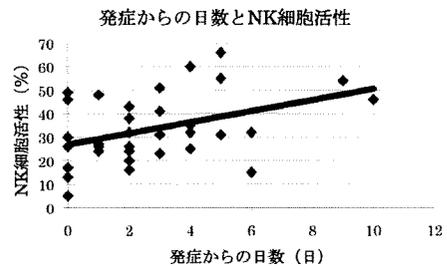


図2

またTNF、高感度CRP、NK細胞活性はステロイド投与終了後の7日目は有意に初日より低下していた。

結論

今回の検討では、突発性難聴患者に対して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)の検討を行い、初診時期とNK細胞活性の相関、TNF、高感度CRP、NK細胞活性の経過に有意な結果を得た。予後判定にはこれらの結果は不十分であったが、突発性難聴の病態解明にはつながるのではないかと考えられた。

健康危険情報

なし

研究発表

なし

知的財産権の出願・登録状況

なし

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

主任研究者：小川 郁（慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科）
分担研究者：宇佐美 真一（信州大学医学部耳鼻咽喉科）
分担研究者：岡本 牧人（北里大学医学部耳鼻咽喉科）
分担研究者：喜多村 健（東京医科歯科大学医学部耳鼻咽喉科）
分担研究者：暁 清文（愛媛大学医学部耳鼻咽喉科）
分担研究者：佐藤 宏昭（岩手医科大学医学部耳鼻咽喉科）
分担研究者：中島 務（名古屋大学医学部耳鼻咽喉科）
分担研究者：福島 邦博（岡山大学医学部耳鼻咽喉科）
分担研究者：福田 諭（北海道大学医学部耳鼻咽喉科）
分担研究者：水田 邦博（浜松医科大学医学部耳鼻咽喉科）
分担研究者：山嵜 達也（東京大学医学部耳鼻咽喉科）
共同研究者：井上 泰宏（慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科）
共同研究者：神崎 晶（慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科）

研究要旨

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。

研究目的

急性低音障害型感音難聴（以下ALHLと略す）に対しては、いまだその標準的治療法は確立されていない。その原因としては

1) 原因が不明である

2) 自然治癒する例が少ない

3) 再発する例が少ない

4) メニエール病に移行する例がある

などがあげられる。これまでALHLが突発性難聴に類似した病態であるという考えから副腎皮質ステロイド薬が、メニエー

ル病に類似した病態であるという考えから利尿薬、循環改善薬が用いられてきたが、明確なエビデンスは得られていない。本調査ではALHLに対するこれらの薬剤の治療効果を明らかにすることを目的とした。なお、今回の検討では疾患の特殊性や調査参加施設の多様性、薬剤の剤型などから2重盲検試験の実施は困難と考え、各調査参加施設が単一の治療薬を選択して、一定期間当該薬剤の治療効果について検討し、各調査参加施設の検討結果を比較することにより各薬剤の治療効果を判定した。

研究方法

1. 対象

以下①～⑤の条件を満たした症例を対象とした。

①ALHL初発かつ未治療例である、②発症後1週間以内の受診、③年齢20歳以上の成人、④純音聴力検査において125, 250, 500kHzの聴力レベルの合計が70dB以上、⑤2, 4, 8kHzの合計が60dB以下、ただし、左右の聴力レベルが同程度の場合には60dB以上の症例を含む。

これらの症例に対して、単剤治験である旨の説明をし、患者の承諾を得たものについてのみ対象とした。なお、これらの治験を行うにあたっては、それぞれの施設における倫理委員会による承認を得ることも条件とした。

2. 方法

前研究班の検討では、各薬剤につい

て1施設1薬剤を担当することとし、プレドニゾロンを3施設、イソバイドを4施設、ATPを3施設にそれぞれ振り分けた。しかしながら、プレドニゾロン、ATPを投与された症例が少なかったため、これらを担当する施設を増やすこととした。

単剤による治療(1次基本治療)の期間は原則として14日間とし、投与終了後に難聴の改善が認められない症例に対しては2次基本治療法を行うこととした。

また、睡眠導入薬などは必要に応じて各自の判断で投与するが、ALHLの治療経過に影響する可能性のある薬剤は原則として投与しないこととした。

1次基本治療における各薬剤の投与量は

1) プレドニゾロン30mg/日より漸減内服投与

30mg/日朝1回 4日間

20mg/日朝1回 4日間

10mg/日朝1回 4日間

5mg/日朝1回 2日間

2) イソソルビド90ml/日

3) アデノシン3リン酸2ナトリウム300mg/日内服

とした。

さらに1次治療で改善が不十分であった症例に対する2次基本治療としては1次治療で使用しなかった1～3基本治療薬2種類の同時投与を行った。

なお、調査期間は平成20年10月～平

成 23 年 10 月とし、予定症例数が収集された時点で終了することとした。

さらに調査終了後に規定の調査用紙に下記調査・観察項目を各施設の担当者が記載して、センター施設（慶應大学）に送付し、これをまとめることとした。

調査・観察項目

① 患者情報

カルテ番号、氏名（イニシャル）、性別、年齢、職業

② 急性低音障害型感音難聴情報

発症年月日、初診日、治療開始日（病日）
発症誘因、発症時状況、随伴症状、初診時オーディオグラム、眼振所見、既往歴、合併症

③ 治療情報

入院の有無、治療薬、併用薬、治療期間、副作用、単剤治療終了後の治療法、治療開始時、2 週後、4 週後、固定時のオーディオグラム

3. 結果

現在までに登録された症例はプレドニゾロン 53 例、イソバイド 83 例、ATP45 例（計 181 例）である。うち、除外症例 24 例を除外した 157 例の性別、平均年齢、患側、発症から初診までの平均日数には、各薬剤間で明らかな偏りは認められなかった。

結 論

今回の検討では、前研究班で検討した症例に、新たにセンター施設に送付された症例を追加して検討した。その結果、前研究班の検討に比べて症例数がわずかに

増えただけということもあり、ほぼ同様の結果であった。すなわち ALHL に対して単剤投与を 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（表 1）。しかしながら、各群間に症例数の偏りがあることや、記載に不明確な症例があったこと等から、次年度は症例数を増やし、各群間の偏りを少なくしたうえで、再検討を行っていく予定である。

健康危険情報

なし

研究発表

なし

知的財産権の出願・登録状況

なし

(表1) 予後良好症例（治癒例+改善例）の割合

	治療開始 1 週後	治療開始 2 週後	治療開始 4 週後
ATP	27/32 (84%)	35/39 (90%)	34/39 (87%)
isosorbid	25/45 (53%)	49/67 (73%)	41/48 (85%)
PSL	24/35 (69%)	32/38 (84%)	25/29 (86%)

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

分担研究者：喜多村 健（東京医科歯科大学耳鼻咽喉科）
共同研究者：野口 佳裕（東京医科歯科大学耳鼻咽喉科）
共同研究者：大野 十央（東京医科歯科大学耳鼻咽喉科）
共同研究者：伊藤 卓（東京医科歯科大学耳鼻咽喉科）
共同研究者：有泉 陽介（東京医科歯科大学耳鼻咽喉科）
共同研究者：中村 裕之（東京医科歯科大学耳鼻咽喉科）
共同研究者：高橋 正時（東京医科歯科大学耳鼻咽喉科）
共同研究者：山田 雅人（東京医科歯科大学耳鼻咽喉科）

研究要旨

突発性難聴度分類 Grade 1 に分類される急性感音難聴が、突発性難聴と診断される上での妥当性について検討した。対象は、急性感音難聴軽症例 35 例であり、急性低音障害型感音難聴と診断された症例は除外した。対象を 5 周波数平均聴力レベルが 30dB 未満の 17 例（A 群）と 30dB 以上の 18 例（B 群）に分類した。発症時に突然の難聴を自覚した割合は全体の 71.4%であり、A 群においても 64.7%に難聴の自覚が認められた。一方、めまいの自覚は、全体の 22.9%に認められた。眼振検査が行われた症例の 48%に水平回旋混合性眼振が認められ、多くは刺激性眼振であった。聴力型の分類では高音障害型のオーディオグラムを示した例が 65.7%と多く、聴力予後は半数以上が不変であった。欧米の突発性難聴の診断基準との整合性を保つためにも、突然の難聴で発症した急性感音難聴軽症例は突発性難聴に含め検討していくことが妥当と考えられた。

研究目的

本邦で使用されてきた突発性難聴研究班による突発性難聴診断基準（昭和 48 年）において、難聴の性質は高度の感音難聴とされている。一方で、突発性難聴重症度分類では Grade 1（40dB 未満）、Grade 2（40dB 以上 60dB 未満）の分類がなされているが、これらは高度難聴ではないため昭和 48 年の診断基準との間に整合性が認められない。さらに、欧米では、連続する 3 周波数が 30dB 以上であるものを突発性難聴の聴力レベル上の規定としている。

本研究では、重症後分類上 Grade 1 に分類される急性感音難聴が、突発性難聴と診断される上での妥当性について検討した。

研究方法

2005年1月から2009年3月の間に東京医科歯科大学耳鼻咽喉科難聴外来を受診した急性感音難聴軽症例35例（男性18例、女性17例、年齢分布23-78歳、平均年齢46.5歳）を対象とした。軽症例の診断基準は、1) 突然に難聴もしくは耳鳴が発症、2) 発症後2週

間までの間に当科もしくは前医を受診、3) 5周波数平均聴力レベル (0.25、0.5、1、2、4 kHz) が40dB未満、4) 難聴の原因が不明なものとし、急性低音障害型感音難聴は除外した。また、紹介症例については、前医での初診時のオーディオグラムが判明しているものとした。対象を平均聴力レベルが30dB未満の17例 (A群: 男性7例、女性10例、年齢分布23-78歳、平均年齢42.7歳) と30dB以上の18例 (B群: 男性11例、女性7例、年齢分布27-71歳、平均年齢50.0歳) に分類し、臨床症状、検査所見について検討した。A群とB群の重ね合わせオーディオグラムを図1に示した。

なお、治療として、副腎皮質ステロイド剤投与が32例、ATP・ビタミンB₁₂投与が35例、プロスタグランジンE₁投与が9例、星状神経節ブロックが5例、高気圧酸素療法が18例に施行された。

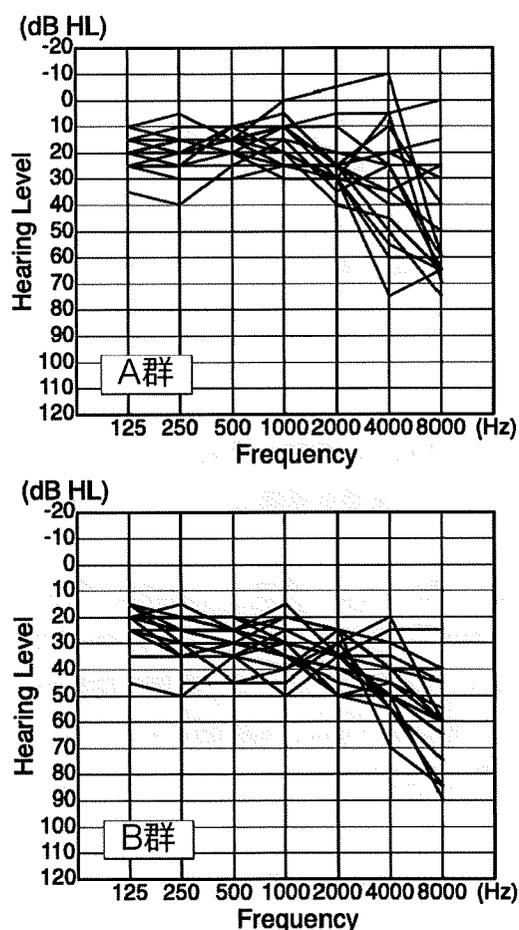


図1 A群、B群の重ね合わせオーディオグラム

結果

- 1) 難聴、耳鳴：全症例の71.4% (25/35) が発症時に難聴を自覚していた。群ごとに検討すると、A群では64.7% (11/17)、B群では77.8% (14/18) に難聴を認めた。一方、耳鳴については、病歴聴取を行った34例中31例(91.1%)が自覚し、A群の93.3% (15/16)、Grade 1症例の88.9% (16/18) に耳鳴の自覚を認めた。
- 2) めまい、眼振：全症例の22.9% (8/35) に浮動性もしくは回転性めまいを認めた。群ごとに検討すると、A群の23.5% (4/17)、B群の22.2% (4/18) にめまいの自覚を認めた。赤外線 CCD カメラもしくは Frenzel 眼鏡を用いた眼振検査は、25例に施行された。12例(48%)に水平回旋混合性眼振が認められ、9例が刺激性眼振、3例が麻痺性眼振であった。
- 3) 聴力型：全症例、A群、B群の聴力型の割合を図2に示した。全体の65.7% (23/35) が高音障害型を示した。
- 4) 聴力予後
突発性難聴・聴力回復の判定規準(1984年改正)に基づき聴力予後を判定すると、2つの予後判定に分類される症例が認められた(図3)。実際には、治癒+著明回復、治癒+回復、治癒+不変の2つに分類された症例は治癒と考えられた。そのため、実際の聴力予後は治癒40.0%、回復8.5%、不変51.4%であった(図4)。
- 5) 欧米の診断基準との整合性：平均聴力レベルが30dB未満のA群の中で、欧米の診断基準にて突発性難聴と診断される例は5例(29.4%)であった(図5)。

考察

今回の検討では、急性感音難聴軽症例の約70%が発症時に難聴を自覚していた。さらに、A群においても64.7%に難聴の自覚が認められ、高度感音難聴を示さなくても難聴は十分に気づきうる症状であると考えられた。

これまでに報告されてきた突発性難聴の特徴と比較すると、めまいの随伴は22.9%と低いこと、高音障害型のオーディオグラムを示す例が65.7%と多いこと、聴力予後不変例が51.4%と多いことは急性感音難聴軽症例の特徴と考えられた。一方、眼振が認められた症例の中で刺激性眼振を認めるものが多かった点については、長期的にみると内リンパ水腫疾患の初期像をみている可能性もあると考えられた。