

20102402/A

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 22 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 小川 郁

平成 23(2011)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 22 年度 総括・分担研究報告書

目 次

I. 平成 22 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. 診断基準改定案	17
小川 郁 (慶應大)	
IV. 分担研究報告	
1. 難治性内耳疾患の遺伝子バンク構築 —突発性難聴の遺伝子バンクプロジェクト—	27
西尾 信哉 (信州大)	
2. 難治性内耳疾患の遺伝子バンク構築 —データベースの構築とサンプルの分与法に関する検討—	33
鬼頭 良輔 (信州大)	
3. 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	38
井上 泰宏 (慶應大)	
4. 突発性難聴における酸化ストレスの検討—多施設共同研究の集計結果について—	42
菊池 淳 (岩手医科大)	
5. 突発性難聴の発症前のストレス状況、発生状況に関する予備的調査	48
佐野 肇 (北里大)	
6. 急性低音障害型感音難聴の診断基準改定案について	50
佐藤 宏昭 (岩手医科大)	
7. 突発性難聴に対する鼓室内ステロイド注入療法の有効性の検討	54
武市 紀人 (北大)	
8. 突発性難聴 grade4 の症例に対するステロイド鼓室内注入の検討	57
渡辺 裕之 (北里大)	
9. 北里大学病院における過去 16 年間の突発性難聴治療の総括	59
大橋 健太郎 (北里大)	
10. 亜急性期、慢性期の突発性難聴に対する 2 次治療としての 高気圧酸素療法の検討	63
大野 十央 (東京医科歯科大)	
11. 急性感音難聴の臨床および基礎的研究	68
山嵜 達也 (東京大)	
12. 感音難聴と血液所見に関する研究	76
神崎 晶 (慶應大)	

13. CADL を用いた難聴者の日常的コミュニケーション評価に関する研究……………	78
	菅谷 明子 (岡山大)
14. 造影 3T-MRI による内耳動脈の検討……………	80
	水川 敦裕 (岩手医大)
15. Vogt-小柳-原田病に伴う聴力障害の診断と予後……………	83
	小原 修幸 (北海道大)
16. ファブリー病患者における感音難聴……………	88
	山本 浩志 (名古屋大)
17. SLC26A4、ATP6V1B1、SIX1 変異による前庭水管拡大症の聴平衡覚所見……………	92
	野口 佳裕 (東京医科歯科大)
18. 遺伝性難聴例を対象としたミトコンドリア DNA 変異網羅的検出法による遺伝子解析 第 2 報……………	97
	加藤 智史 (東京医科歯科大)
19. 本邦におけるアッシャー症候群タイプ 1 患者の遺伝子解析……………	101
	中西 啓 (浜松医科大)
20. Slc26a4-null mutant mice における内耳・甲状腺の形態と機能……………	105
	吉田 忠雄 (名古屋大)
21. In vivo イメージングを用いた、薬剤の内耳への到達のリアルタイム可視化の試み —GFAP-Luc マウスを用いた、内耳神経への薬剤到達の可視化—……………	108
	藤岡 正人 (慶應大)
22. AM-111 投与による虚血性内耳障害の防御—組織学的検討……………	111
	表原 慶典 (愛媛大)
23. 内耳虚血・再灌流障害に対する人工酸素運搬体の有用性に関する研究……………	115
	岡山 昌活 (愛媛大)
24. 内耳におけるグルココルチコイドによる遺伝子発現制御に関する研究……………	119
	前田 幸英 (岡山大)
25. Cre/lox と調節性 Caspase を用いたモザイク様細胞死モデルの樹立 —両側特発性難聴の初期を再現するツールの開発—……………	121
	藤岡 正人 (慶應大)
26. 内耳有毛細胞への自己免疫寛容破綻による自己免疫性難聴モデルの樹立 —キラーT 細胞における有毛細胞への免疫寛容の破綻を作用機序として—……………	124
	藤岡 正人 (慶應大)
27. 質量顕微鏡による 5 種類のホスファチジルコリンの蝸牛における局在……………	127
	瀧澤 義徳 (浜松医科大)
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表 ……………	135

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	光永 明弘	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 ras-shinanomachi-kourou@adst.keio.ac.jp	

II. 総括研究報告

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、老人性難聴（加齢性難聴）、騒音性難聴）の高度感音難聴として、高度感音難聴を呈する疾患の難聴発症メカニズムを解明して、各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ことを大きな目標の一つとする。

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の2倍程度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。一方、遺伝性難聴や個人差の大きい老人性難聴（加齢性難聴）も遺伝子または遺伝子の変異がその発症にどのように関与するのかを明らかにすることは、その予防上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。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されれば、通常の社会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。

本研究では3年間に多施設横断的研究で各高度感音難聴を来す疾患の1) 疫学調査、2) 発症に関連する遺伝子または遺伝子異常の検出、3) QOLへの影響、4) 発症と予後に関わるバイオマーカーの検索、5) 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した。

1. 診断基準の見直し：本研究班の大きな目標は診断基準の見直しであり、これまで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。突発性難聴診断の手引きは昭和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が、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これまで3回の全国疫学調査も行われている。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（昭和59年作成）では突発性難聴の重症度基準についての改定案を作製した。平成11年作成された急性低音障害型感音難聴の診断基準（案）改訂については高音域の閾値上昇を認めるが左右差の少ないものを「正確実例」として診断基準に加えるとする意見が多かった。ムンプス難聴診断基準では抗ムンプスIgM抗体がキット改訂され、これを用いたムンプス難聴診断基準の改訂の可能性が示唆された。特発性両側性感音難聴の診断基準についても検討を行った。
2. 臨床研究では突発性難聴、特発性進行性感音難聴のQOL調査を多施設横断的に行った。データ収集は終了し、現在データ解析中で

あるが、突発性難聴による難聴残存例が推定年間20,000人発生しており、かつSF36はこれら後遺障害を有する症例のQOLが極めて悪いことが分かった。また、特発性進行性感音難聴は突発性難聴に比べ両側70dB以上の高度難聴になる割合が46%もあり、社会的にもQOL上も問題が大きいことが示された。データ解析を待つて、QOL改善のための施策を検討する予定である。また、今回の横断的研究の最も大きなテーマは突発性難聴をはじめとする急性高度難聴患者の疾患関連遺伝子の検索である。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解析するにあたり、必要なサンプル数や解析対象遺伝子数のシミュレーションを行なった結果、解析のためには各疾患少なくとも200-400サンプル必要である事が明らかとなり、多施設研究として遺伝子バンク構築を行うためサンプルの収集を開始した。初年度(平成22年)で約150症例のサンプルが収集されたが、次年度以降の3年間で計約1,000例のデータ解析を目指す。

3. 急性感音難聴では発症や予後を予測する指標となるバイオマーカーは全く判明していない。このため、酸化ストレス度と抗酸化力によるストレスマーカーの動態調査を多施設で行った。その結果、突発性難聴の酸化ストレス度はコントロールに比べ有意に高いことがわかったが、酸化ストレス度、抗酸化力と突発性難聴の重症度や聴力改善度には関連がなく、治療前後における酸化ストレス度の変化は認めなかった。その他のバイオマーカーも臨床的に有用なものは現時点では不明である。
4. 急性高度難聴の鑑別診断はすべて診断基準によって行われてきたが、画像検査による客観的診断基準項目は皆無であった。近年、高分解能3T-MRIによる内耳画像診断法が進歩しており、その診断的有用性を検討した。その結果、メニエール病との鑑別や蝸牛神経炎の診断、内耳動脈・総蝸牛動脈病変の診断に応用が可能であることが示唆され、今後のさらなる診断精度の向上が期待される。

5. 急性高度難聴の治療法として鼓室内ステロイド注入療法が国内外で注目されている。副腎皮質ステロイドの全身投与が標準治療であるが、突発性難聴でも治癒率が約40%と不良であり、新しい治療法が望まれている。本研究の成果は平成22年10月開催の第20回日本耳科学会パネルディスカッションとして発表したが、今後、鼓室内ステロイド注入療法の標準化を本研究班で作成する予定である。
6. 基礎研究は継続中の課題が多いが、急性高度難聴のモデル動物の開発や、モデルを用いた新しい治療法の開発が進んでいる。しかし、これらモデル動物を用いた研究結果を臨床治験など次のステップに進めるためには経済的および組織的支援が不可欠であり、今後の大きな課題である。

研究の必要性

後天的後急性発症し高度難聴をきたす代表的な疾患に突発性難聴と急性低音障害型感音難聴がある。これらの疾患の病因・病態は解明されていないが、両疾患とも治癒しうる感音難聴である。本研究事業では、両疾患の難聴発症メカニズムを解明して、標準的な治療方針を定めて、治療・予防を行うのが目標である。

遺伝性難聴が主と考えられる特発性両側性感音難聴や個人差の大きい加齢性難聴を対象に、難聴遺伝子の変異を手がかりにして、難聴発症機構を分子細胞レベルで解明し、難聴の治療・予防法を確立する。

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。臨床症状から本疾患の予後の推定は可能となっているが、病因・病態の解明はいまだなされておらず、標準的な治療方針も定まっていない。本研究事業では、難聴発症メカニズムの解明を第一の目標として、急性高度感音難聴の病態解明を行う。

ムンプス難聴は、一旦発症すると治癒することが少ないウイルス性疾患であるが、T他のウイルス性難聴を含めてワクチン接種による予防について再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1,000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。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必要がある。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。これら難聴に関係する遺伝子または遺伝子変異を明らかにすることは、その予防上きわめて重要である。

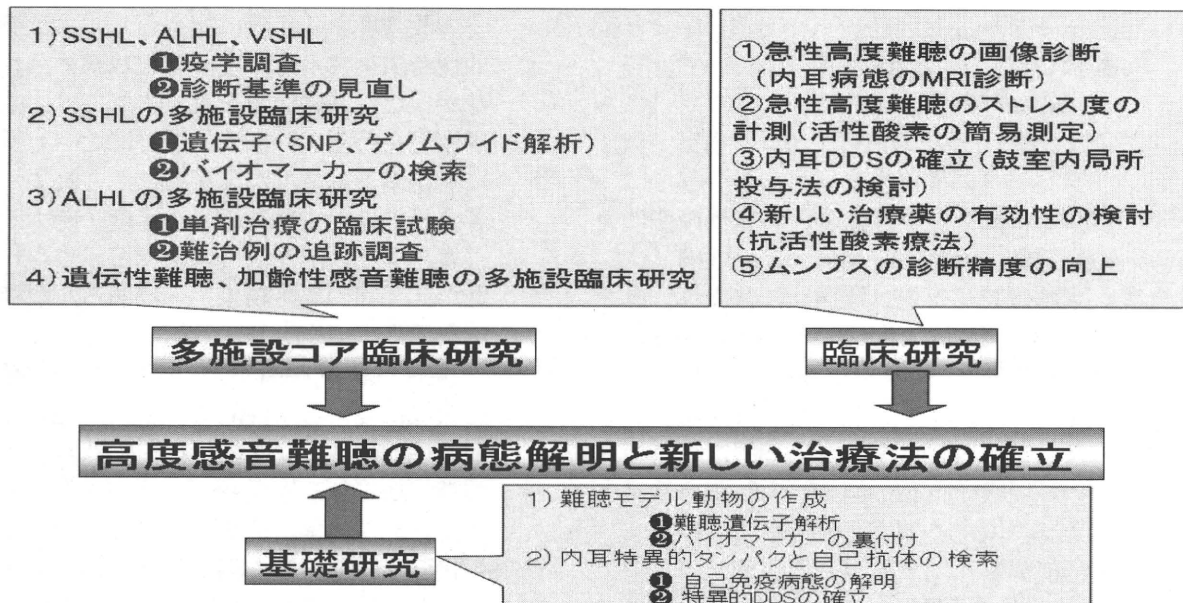
研究の特色と独創性

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引き続き行った。診断基準の改定（案）と英文版（案）を作成した。国際基準も参考に加えて、これから1年間、改定（案）と英文版（案）とを公開してパブリックコメントを得て、改訂版を作製する。

臨床研究

- 1 難治性内耳疾患の遺伝子バンク構築～突発性難聴の遺伝子バンクプロジェクト～：突発性難聴をはじめとする内耳疾患のいくつかは、従来から種々の研究がされているが未だにメカニズムをはじめ不明な点が多いのが現状である。現在急性高度難聴に関する調査研究班の各施設との共同研究として難治性内耳疾患について遺伝子バンク構築を行っている。近年、従来原因の特定が困難とされてきた複数の疾患において疾患感受性遺伝子の検索が進行しており、遺伝子バンクの構築により、難治性内耳疾患の原因の特定や発症メカニズムの解明が期待される。今回は上記遺伝子バンク構築の状況について報告するとともに、突発性難聴の発症における遺伝的背景を同定するための予備的な解析を実施し、酸化ストレス関連遺伝子であるGST遺伝子やSOD遺伝子など複数の遺伝子の遺伝子多型において、統計学的な有意差を認めた。
- 2 難治性内耳疾患の遺伝子バンク構築～データベースの構築とサンプルの分与法に関する検討：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。従来から種々のアプローチにより研究がなされているが、未だにメカニズムをはじめ不明な点が多いのが現状である。本研究では、「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」の各施設との共同研究として難治性内耳疾患について遺伝子バンク構築を行っている。

今回は上記遺伝子バンク構築の状況について報告するとともに、サンプルの分与に関する方法を検討した。

- 3 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。今回の検討では、単剤投与開始後1週間後、および2週間後の聴力改善は、プレドニゾロン、ATP投与群に比較して、イソバイド投与群がやや不良な傾向が認められた。しかしながら、本研究では薬剤の振り分けが無作為に行われていないこと、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ることから、さらに慎重に検討を行う必要があると考えられた。
- 4 突発性難聴における酸化ストレスの検討～多施設共同研究の集計結果について～：突発性難聴患者の酸化ストレス度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、治療前後で酸化ストレス度の変化は認められなかった。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発性難聴の重症度・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。
- 5 突発性難聴の発症前のストレス状況、発生状況に関する予備的調査：突発性難聴の発症前のストレスの状況を質問紙にて調査した。約55%の症例がストレス有りと考えられた。また突発性難聴の症状の発生状況を質問紙にて調査した。初発症状は耳鳴が最も多く、難聴を最初から自覚していた症例は36%で、受診まで難聴を自

覚していなかった例も認められた。以上を踏まえて、現在研究班として本格調査を進めており、突発性難聴とストレスの関連を明確にして行きたい。

- 6 急性低音障害型感音難聴の診断基準改定案について：平成11年度に作成された急性低音障害型感音難聴の診断基準（試案）の要否について、昨年度に行ったアンケート調査の結果を基に、①正確実例の診断基準、②メニエール病非定形例（蝸牛型）との関連、を明記した急性低音障害型感音難聴の診断基準改訂案を作成した。
- 7 突発性難聴に対する鼓室内ステロイド注入療法の有効性の検討：2004年1月から2010年2月までの間に当科において鼓室内ステロイド注入療法1コース施行後に6ヶ月以上の経過観察できた突発性難聴症例83例を対象にその有効性について検討した。83例中、71例は全身ステロイド投与が無効であった救済治療例、12例は初期治療例。結果は治癒が26例（31.3%）、著明回復が5例（6.0%）、回復が21例（21.5%）、不変が31例（37.3%）であった。治療後の副作用・合併症は認めなかった。有効であった症例の大部分が初診時平均聴力60dB以内、治療開始時期が発症より8週以内であった。全身ステロイド投与が困難な症例および無効であった症例に対し鼓室内ステロイド注入療法は検討する価値のある治療法の一つと考える。
- 8 北里大学病院における過去16年間の突発性難聴治療の総括：1994年より2009年末までに当科で治療を行ったgrade2～4の突発性難聴症例578例について、行われた治療法、最終治療成績、治療法の違いによる治療成績への影響について検討した。各群に行われていた治療内容では、入院治療および高気圧酸素療法（HBO）を施行した割合はgradeが上がるのに伴って増加していた。各gradeにおける固定時聴力の分布は、grade2と3ではピークは10～20dB台にあったが、grade4では60dB台にピークを持つ正規分布型を呈しており、grade2、3

とは明らかに異なる分布を示した。grade2における外来治療と入院治療、grade3、4の入院治療例におけるHBO併用の有無が治療成績に与える影響について多重ロジスティック回帰分析を用いて検討したが、いずれも有意な影響は認められなかった。

- 9 突発性難聴 grade4の症例に対するステロイド鼓室内注入の検討：一般的にステロイドの内耳への薬剤投与は経口、もしくは注射により行われる。最近、より高濃度のステロイドを内耳のみに移行させる方法として、鼓室内投与が注目されている。我々は過去に突発性難聴 grade4に対して高気圧酸素療法（HBO）、エダラボンなどによる追加治療を行い治療成績の改善を検討したが、有用な結果は得られなかった。今回突発性難聴 grade4症例に対して、リン酸デキサメタゾンナトリウム（商品名 デカドロン注射液）鼓室内投与を加え、その有用性をヒストリカルコントロールと比較して検討した。
- 10 亜急性期、慢性期の突発性難聴に対する2次治療としての高気圧酸素療法の検討：亜急性期、慢性期の突発性難聴患者に対する2次治療としての高気圧酸素療法（以下、HBOT）の効果について検討を行った。HBOT開始前の重症度がGrade4の症例は他のGradeの症例と比較して有意に効果があったが、全体として評価すると、亜急性期、慢性期における突発性難聴の2次治療としてのHBOTの効果は統計学的には証明されず、HBOTの適応については十分に考慮する必要があると考えられた。
- 11 急性感音難聴の臨床および基礎的研究：臨床では内リンパ水腫の非侵襲的検査の検討を行い、急性低音障害型感音難聴、メニエール病、遅発性内リンパ水腫に対してmultiple-frequency tympanometryを応用し、感度は高くないが特異度は良く、有用であることが示唆された。急性感音難聴のMRIを用いた画像診断では、3D-FLAIRの造影前には明らかな陰影変化は稀であるが、造影後には蝸牛内血管の破綻や神経炎による陰影増強が多数に見られること、めまいを伴う例ほどこの異常

所見が多いことがわかった。さらに特発性両側性感音難聴の診断基準について検討を行い、診断基準自体は変更しないものの、注釈として 1) 進行性について、と 2) 原因不明について、に改訂を加えることを提唱した。

- 1 2 感音難聴と血液所見に関する研究：内耳障害の反応を血液検査からさぐるものが可能かどうか検討した。内耳に大きな刺激を与えるほど、内耳への損傷の程度も大きくなり、内耳血液関門も障害を受ける機会が大きくなることで、血中に活性酸素が漏出しやすくなる可能性がある。その結果、血液中の活性酸素が上昇するという仮説が成立するかもしれない。ただし、音響によるストレスによって、内耳以外の脳組織からも活性酸素が発生することが考えられる。この血清中活性酸素が内耳から発生したかどうかは不明であるが、活性酸素が高値である場合には、聴力障害が大きく、バイオマーカーとして利用できる可能性を期待することができる。
- 1 3 CADL を用いた難聴者の日常的コミュニケーション評価に関する研究：聴覚障害に伴うコミュニケーション障害を評価するための手段を開発した。実用コミュニケーション能力試験 (CADL) のうち、音声言語によるコミュニケーションに関わる質問項目だけを選択・抽出した。さらにこの質問項目についての PCM 音源を作成し、音圧レベルを調整しながら提示出来るものを作成した。
- 1 4 造影 3T-MRI による内耳動脈の検討：既往に聴力障害のないボランティア 12 名で造影 3T-MRI で内耳動脈の描出を試みた。内耳動脈は 24 耳中 7 耳 (29.2%)、総蝸牛動脈は 24 耳中 10 耳 (41.7%) で描出可能であった。2 種類の撮影条件を試行したが、両者の描出率に差は認められなかった。
- 1 5 Vogt-小柳-原田病に伴う聴力障害の診断と予後：Vogt-小柳-原田病 (以下原田病) はメラノサイトを標的とする自己免疫疾患と考えられているが、詳細については依然不明なところも多い疾患である。難

聴の有無の判定については、当疾患による難聴が軽度で両耳発症であることも多く、特に加齢に伴う聴力障害と区別することが困難であることを度々経験する。今回我々は当疾患に伴う聴力障害の診断を正確に行うための試みとして、聴覚的検討を行った。対象は 1996 年から 2010 年 12 月までに北海道大学病院眼科において原田病と診断され鼓膜所見正常で聴覚・前庭機能障害の既往が無い 71 例 142 耳を対象とした。全例に対してステロイド投与前 (初診時) に難聴・耳鳴・めまい等の自覚症状の有無について問診および診察を行い、純音聴力検査・平衡機能検査等を施行した。初診時の 250-4000 Hz 5 周波数平均聴力レベルが 25 dB を超えるものは全体の 48% であった。予後規定因子として初診時平均聴力、年齢、自覚症状の有無について検討したところ、初診時聴力の改善がみられた群で有意に聴力が低かった。

- 1 6 原田病による聴力障害は比較的予後良好であるが、聴力に変化がみられない症例に対する対応を今後検討したい。また、難聴の自覚症状のない群でも、約半数の症例で聴力の改善がみられており、両耳とも聴力低下を来している症例では診断に苦慮するため、今後診断基準の作成などが必要と考える。
- 1 7 ファブリー病患者における感音難聴：ファブリー病は、X 連鎖性遺伝性糖脂質代謝異常症である。α-ガラクトシダーゼ A (α-GAL) の欠損により細胞内に蓄積されるグロボトリアオシルセラミド (GL-3) は、各臓器でさまざまな障害を引き起こすことが知られている。本研究では、ファブリー病患者 31 名 (男性 13 名、女性 18 名) に対し、聴覚、平衡機能に関する問診と聴覚検査 (純音聴力検査：PTA, ティンパノメトリ) を行い、加齢と聴力閾値の変動の関連を調査した。31 例中、突発性難聴をきたした患者が 2 名あった。ファブリー病患者は、日常的に聴覚、平衡覚に異常を経験し、時に高度の聴覚障害を発症する可能性があることが推測された。また、聴力検査結果では、加齢と

聴力閾値の上昇に関連があり、聴力障害の主体は高音障害型感音難聴であることが示された。更に、難聴の進行は、男性（ヘミ接合体）の方が女性（ヘテロ接合体）に比べ速い傾向であった。

- 18 *SLC26A4*、*ATP6V1B1*、*SIX1*変異による前庭水管拡大症の聴平衡覚所見：前庭水管拡大症（EVA）を合併する *SLC26A4*変異による DFNB4/Pendred 症候群5例、*ATP6V1B1*変異による遠位尿細管性アシドーシス1例、*SIX1*変異による BO 症候群（BOS3）2例の聴平衡覚所見を検討した。*SIX1*変異による BO 症候群2例は明らかな難聴の変動やめまいは認められず、これらの症状は EVA そのものよりも内耳 pH バランスの破綻が主因と考えられた。
- 19 遺伝性難聴例を対象としたミトコンドリア DNA 変異網羅的検出法による遺伝子解析 第2報：遺伝性難聴が疑われた患者373人の血液から抽出したDNAに対し、主要32種類のミトコンドリア DNA 変異の網羅的解析を施行した。結果は、7444G>A と 7472insC を1人ずつで検出した。この2名は難聴以外の症状を有さなかった。これらの結果からこの網羅的解析方法の有用性が確認され、同時に未診断の変異の存在が示唆された。
- 20 本邦におけるアッシャー症候群タイプ1患者の遺伝子解析：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1と診断した患者5人を対象として、*MYO7A*、*CDH23*の遺伝子解析を行った。5人中4人の患者において、*MYO7A*に3種、*CDH23*に2種の疾患原因と考えられる変異を同定した。その中で、*MYO7A*の1種（p. Ala 771Ser）、*CDH23*の1種（p. Tyr 1942SerfsX23）は新規であった。p. Tyr 1942SerfsX23は、*CDH23*のエキソン44-46を含む5087塩基が欠失する巨大欠失変異であった。

基礎研究

- 1 基礎研究ではアポトーシス予防効果を持つ FNK-PTD タンパクが培養蝸牛において蝸牛有毛細胞やラセン神経節のカナマイ

シンによる障害およびアポトーシス誘導を有意に予防すること、モルモットの中耳内投与で蝸牛内に6時間をピークに48時間ほど発現すること、エタクリン酸とカナマイシン投与による内耳障害を抑制することを見出した。また難治性中耳炎に頻用されるブロー氏液の内耳毒性について、モルモット中耳に投与して解析を行ったところ、蝸牛窓膜に炎症浸潤が起り、基底回転の有毛細胞障害およびチャージバリアーに影響が及ぶことが判明した。マウスの老人性難聴ではビタミンCの欠乏により難聴が加速することなど酸化ストレスが深く関与していること、CoQ10や α リポ酸などの抗酸化物質投与で老人性難聴が予防できること、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。

- 2 *Slc26a4*-null mutant mice における内耳・甲状腺の形態と機能：*Slc26a4*-null mutant mice における内耳の形態を μ -CTを用いて撮影し、内耳画像と内耳HE標本の比較検討を行った。また、甲状腺の形態と機能においてヨード欠損食の影響を評価した。 μ -CTは内耳形態の正確な評価が可能であり、今後の内耳障害の病態把握に有用と考えられた。また、甲状腺の形態と機能についてヨード欠損食の影響は、ホモ、ヘテロ、野生型間で差が認められなかった。
- 3 近年の内耳傷害に対する治療は薬剤の局所投与へとシフトしつつあるが、効率の良い薬剤分布を考えた際には、内耳局所への各種ドラッグデリバリー法(DDS)の定量的な比較検討が重要と考えられる。そこで今回我々は、ホタルの光の発光原理でもある Luciferase を介した酵素反応を定量する Xenogen 社の IVIS (In vivo imaging system) に注目し、内耳神経に Luciferase を発現する遺伝子改変動物を用いて、個体を殺すことなく薬剤の内耳への到達をリアルタイムに可視化することに成功した。今後はこの知見を生かして様々な網羅的 DDS スクリーニングツールの樹立を目指したい。
- 4 AM-111 投与による虚血性内耳障害の防御

—組織学的検討： アポトーシス抑制ペプチドである AM-111 を一過性内耳虚血の動物モデル（スナネズミ）に投与し、その内耳保護効果を生理学的ならびに組織学的に検討した。AM-111 はスイスの Auris Medical 社から提供を受けた。両側椎骨動脈を15分間遮断した後、1 μ M、10 μ M、100 μ MのAM-111含有ゲル(gel,ゼラチン)、もしくはコントロールとしてPBS含有ゲルを正円窓上に留置した。処置後4日目と7日目にABRを測定して聴力変化への影響を検討するとともに、生理学的実験終了後、蝸牛を採取して内有毛細胞の脱落率をカウントした。組織学的にはAM-111投与群の内有毛細胞脱落率はコントロール群と比べて有意に軽減されていた。昨年報告したABRの結果でもAM-111には聴力障害防御効果が示されているので、AM-111はアポトーシスを抑制することで、一過性内耳虚血による有毛細胞障害を阻止する効果のあることが生理学的にも組織学的にも証明された。

- 5 内耳虚血・再灌流障害に対する人工酸素運搬体の有用性に関する研究：人工酸素運搬体の一つである Liposome-encapsulated hemoglobin (LEH)は、輸血用赤血球の代用品として開発されたものだが、その優れた酸素運搬能のため、虚血性疾患への応用が検討されている。昨年、LEHの虚血前投与が、聴力閾値の上昇や内有毛細胞の脱落に対する保護効果を示すことを報告した。今回は、より臨床に即した検討のため、一過性内耳虚血後にLEHの投与を行い、内耳障害に対する保護効果について検討したので報告する。実験はスナネズミ一過性内耳虚血モデル（15分虚血）を用いた。虚血1時間後に生食、LEHのいずれかを2ml/kg静注した。聴力は、虚血前、虚血1・4・7日後にABRを用いて評価した。組織学的には虚血7日後の有毛細胞の脱落割合を算出し評価した。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。内有毛細胞脱落割合も同様の結果であった。LEHは虚血1時間後に投与しても虚血性内耳障害に対して有効であることが示

唆された。

- 6 内耳におけるグルココルチコイドによる遺伝子発現制御に関する研究：デキサメタゾンを含むグルココルチコイドは急性感音難聴の治療に用いられる。成体マウス鼓室内にデキサメタゾンを投与すると内耳で聴覚関連遺伝子 *Fkbp5*発現が誘導される事を示した。
- 7 高度感音難聴の克服に向け、病態の解明と新規治療法の樹立に向けた基礎研究を展開している。その基盤となる実験系として、遺伝子工学・発生工学を用いて少数の有毛細胞がまばらにアポトーシスを起こす有毛細胞特異的部分的アポトーシスモデルを樹立した。昨今の報告と考えあわせると、当該モデルは特発性難聴初期の病態を再現するモデルの一つとして有用であるものと考えられ、その病態生理の解明により「早期発見・早期治療」に向けた新規治療法探索が期待される。
- 8 高度感音難聴の克服に向け、病態の解明と新規治療法の樹立に向けた基礎研究を展開している。その基盤となる実験系として、遺伝子工学・発生工学を用い有毛細胞への免疫寛容が破綻する自己免疫性難聴モデルマウスを樹立し、キラーT細胞による内耳有毛細胞への自己免疫の作動は、高音急墜型の内耳性難聴を誘導することを示した。病態生理として自己免疫が難聴を誘導することが前向き(prospective)に示されるとともに、自己免疫の原因となる免疫担当細胞(subset)によって聴力型が異なる可能性が示唆された。
- 9 質量顕微鏡による5種類のホスファチジルコリンの蝸牛における局在：ホスファチジルコリン(PC)は、細胞膜二重層を構成するリン脂質の一つであり、コリンヘッドグループと二つの脂肪酸が結合した構造を持つ。脂肪酸には多くの種類があり、脂肪酸組成により異なる種類のPCが存在する。これまでに蝸牛におけるPCの局在を明らかにした報告はない。質量分析イメージングはここ数年で発展してきた研究分野であり、組織切片上で直接質量分析を行い、生体分子の同定とその局

在も明らかにできる手法である。我々が開発した、 $10\ \mu\text{m}$ の高い空間分解能と高精度な質量分析能を持つ質量顕微鏡を用いて蝸牛切片の解析を行ったところ、蝸牛のそれぞれの部位に局在する5つのPCを明らかにすることができた。

Ⅲ. 診斷基準改定案

突発性難聴：診断基準（案）

（厚生省特定疾患突発性難聴調査研究班、1973年）
（厚生労働省特定疾患急性高度難聴調査研究班、2012年改訂）

主症状

1. 突然発症
2. 高度感音難聴
3. 原因不明

参考事項

1. 難聴（参考：隣り合う3周波数で各30dB以上の難聴）
 - （1）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が多いが、数日をかけて悪化する例もある。
 - （2）難聴の改善・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
 2. 耳鳴
難聴の発生と前後して耳鳴を生ずることがある。
 3. めまい、および吐気・嘔吐
難聴の発生と前後してめまい、および吐気・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。
 4. 第8脳神経以外に顕著な神経症状を伴うことはない
- 診断の基準：主症状の全事項をみたすもの

Criteria for diagnosis of sudden deafness

[The Ministry of Health and Welfare, Sudden Deafness Study Group (1973)]
[The Ministry of Health, Labor and Welfare, Acute Severe Hearing Loss Study Group (revised in 2012)]

Main symptoms

1. Sudden onset
2. Sensorineural hearing loss, usually severe
3. Unknown etiology

For reference

1. Hearing loss (i.e. hearing level of 30dB or more over 3 consecutive frequencies)
 - 1) Sudden onset of hearing loss, but may be progressively deteriorated in a few days
 - 2) Without recurrent episodes
 - 3) Unilateral hearing loss, but may be bilateral onset
2. May be accompanied by tinnitus
3. May be accompanied by vertigo, nausea, and /or vomiting, without recurrent episodes
4. No cranial nerve symptoms other than from the VIII nerve

Definite diagnosis: All of the above main symptoms

突発性難聴・聴力回復の判定基準

(厚生省特定疾患急性高度難聴調査研究会議、1984年)

治癒 (全治)

1. 0.25 kHz、0.5 kHz、1 kHz、2 kHz、4 kHzの聴力レベルが20dB以内に戻ったもの

2. 健側聴力が安定と考えられれば、患側がそれと同程度まで改善したとき

著明回復

上記5周波数の算術平均が30dB以上改善したとき

回復 (軽度回復)

上記5周波数の算術平均が10～30dB改善したとき

不変 (悪化を含む)

上記5周波数の算術平均が10dB未満の改善のとき

Criteria for hearing recovery in sudden deafness

[The Ministry of Health and Welfare, Acute Severe Hearing Loss Study Group (1984)]

Complete recovery

Recovery to hearing level within 20dB at all 5 frequencies (0.25 kHz, 0.5 kHz, 1 kHz, 2 kHz and 4 kHz)

Recovery to the same hearing level as the contralateral (“good”) ear

Marked recovery

More than 30 dB recovery in mean hearing level at the 5 frequencies

Slight recovery

Recovery of 10-29 dB in mean hearing level at the 5 frequencies

No response

Recovery less than 10 dB in mean hearing level at the 5 frequencies

突発性難聴の重症度分類(案)

(厚生省特定疾患急性高度難聴調査研究会議、1998年)

(厚生労働省特定疾患急性高度難聴調査研究会議、2012年改訂)

重症度	初診時聴力レベル
Grade 1	40dB未満
Grade 2	40dB以上、60dB未満
Grade 3	60dB以上、90dB未満
Grade 4	90dB以上

注1 聴力は0.25 kHz、0.5 kHz、1 kHz、2 kHz、4 kHzの5周波数の閾値の平均とする。

注2 この分類は発症後2週間までの症例に適用する。

注3 初診時めまいのあるものではaを、ないものではbを付けて区分する(例: Grade 3a、Grade 4b)

Criteria for the grading of hearing loss in sudden deafness

[The Ministry of Health and Welfare, Acute Severe Hearing Loss Study Group (1998)]

[The Ministry of Health, Labor and Welfare, Acute Severe Hearing Loss Study Group (revised in 2012)]

Grade	mean hearing level (MHL) (dB)
Grade 1	MHL < 40dB
Grade 2	40 ≤ MHL < 60dB
Grade 3	60 ≤ MHL < 90dB
Grade 4	90 ≤ MHL

For reference

1. The mean hearing level (MHL) at the 5 frequencies (0.25 Hz, 0.5 Hz, 1 kHz, 2 kHz and 4 kHz)
2. This grading is applied in patients within 2 weeks after the onset
3. "a" is appended to patients with vertigo, and "b" is to patients without vertigo