

201024245A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

新規診断マーカーCTP を用いた
難治性内耳疾患の多施設検討に関する 研究

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 池園 哲郎

平成 23 (2011) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告	
新規診断マーカーCTP を用いた難治性内耳疾患の多施設検討	3
池園 哲郎	
II. 分担研究報告	
外リンパ瘻確実例の検討 検査精度の評価と精度向上への取り組み	27
池園 哲郎	
特当施設における外リンパ瘻疑い症の臨床像およびCTP 検出結果	42
宇佐美 真一	
新規診断マーカーCTP を用いた難治性内耳疾患の多施設検討に 関する研究	48
小川 郁	
内耳関連蛋白解析の臨床応用 外リンパ瘻診断に関する研究	51
小川 洋	
手気腫症例の聴力像とその予後に関する研究	54
小林 俊光	
手術を行った外リンパ瘻症例の臨床像と神経耳科的所見に 関する研究	60
鈴木 衛	

外傷性外リンパ瘻の CTP 検査に関する研究	67
高橋 克昌	
CTP 陽性の突発性難聴と髄液漏に関する研究	71
武田 憲昭	
上半規管裂隙症候群に対する手術治療に関する研究	79
東野 哲也	
外リンパ瘻に関する研究	81
内藤 泰	
新規診断マーカーCTP を用いた難治性内耳疾患の多施設検討	85
萩森 伸一	
特発性外リンパ瘻の中耳洗浄液中における CTP 検出に関する研究	89
松田 秀樹	
新規診断マーカーCTP を用いた難治性内耳疾患の多施設検討に 関する研究	94
山下 大介	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	99
IV. 研究成果の刊行物・別刷	105

I. 総括研究報告

「新規診断マーカーCTP を用いた難治性内耳疾患の多施設検討」

1. 診断基準改定
2. 診療ガイドライン
3. 検査精度の評価と精度向上
4. 基礎研究

研究代表者 池園 哲郎 日本医科大学准教授

研究要旨

1. 診断基準改定

外リンパ瘻の診断基準は、厚生労働省特定研究急性高度難聴班と協力しながら、研究班横断的な取り組みを行っている。外リンパ瘻の診断基準は昭和 58 年(1983 年)に厚生省特定研究急性高度難聴班によって作成された。その後、平成 2 年度の同研究班において訂正され、現在の診断基準となっている。しかし、外リンパ特異的蛋白 Cochlin-tomoprotein(CTP)が、外リンパ瘻の診断に用いられるようになり、急性高度難聴調査研究班において、確実例または疑い例に中耳洗浄液にCTPが検出されたものを加えることとなり、今年度、診断基準の改訂を予定している。

2. 診療ガイドラインへの取り組み

本邦で外リンパ瘻と言え、特発性外リンパ瘻が想起され突発性難聴が鑑別診断となる。しかしながら、北米では外リンパ瘻といえ外傷性外リンパ瘻をさすことが多く、メニエール病が鑑別診断となる。また国内に於いても、年間に数十例の特発性外リンパ瘻症例に手術をしている施設もあれば、全く手術を行わない施設もある。このように、外リンパ瘻の診療は国によって大きく異なるし、担当医の考え方に大きく左右される。

当研究班では診断基準のこの改訂に基づき診療指針の作成に取り組んでいきたい。

3. 検査精度の評価と精度向上への取り組み

CTP検出法を基準化して、検出限界をヒトリコンピナントCTP蛋白0.27ngと設定した。その検査法を用いて、蛋白安定性、ヒト外リンパ検出感度、臨床検体の検出感度を測定した。

国際基準 (STARD statement : STAndards for the Reporting of Diagnostic Accuracy studies) では、検査の精度、診断精度、検査の欠点を明らかにすることが求められている。そこで我々も、CTP検出検査の方法、精度管理について検討を加えた。その結果、CTP検出法は、ほぼ臨床実用化レベルに達しており、現状の検査は臨床検査として十分な精度管理がなされていると考えられた。

内耳疾患のほとんどは特発性であり、内耳組織生検が禁忌であるため原因診断が確定されるケースは限られている。患者さんは、まず、正確な原因診断を望んでおり、その診断に基づく診療を望んでいる。CTP検出法は、ほぼ臨床実用化レベルに達しており、正確な診断により外科的治療の適応の判断に寄与することが期待されている。

4. 基礎研究への取り組み

外リンパ瘻とは、外リンパが蝸牛窓、前庭窓、内耳骨折部、minor fissureなどから中耳へ漏出して、難聴、耳鳴、平衡障害などをきたす疾患である。内耳障害のなかでも、内耳窓閉鎖や瘻孔部位の修復など外科的治療が可能な特異的疾患である。しかしその診断にあたっては、外リンパ漏出の有無に対する客観的診断法がないのが現状であり、また聴力型や聴力経過も多様な臨床所見を呈するのが特徴である。そこで本研究では、外リンパ瘻の生化学的確定診断法の確立およびその病態解明が目的であり、またその結果に基づいて、外リンパ瘻の予防や治療についても検討したいと考えている。

分担研究者：

宇佐美真一 信州大学
小川 郁 慶應義塾大学
小川 洋 福島県立医科大学
小林俊光 東北大学大学医学部
鈴木 衛 東京医科大学
高橋克昌 群馬大学医学部
武田憲昭 徳島大学医学部
東野哲也 宮崎大学医学部

内藤 泰 神戸市立医療センター中央市民病院

萩森伸一 大阪医科大学

松田秀樹 横浜市立大学医学部

研究協力者：

山下大介 神戸大学医学部

新藤 晋 日本医科大学

松田 帆 海老名総合病院

関根久遠 日本医科大学
椎葉恭子 日本医科大学
坂本 圭 日本医科大学

B. 研究方法

厚生省特定研究急性高度難聴班（班長：小川 郁（慶應義塾大学）、班員：宇佐美真一（信州大学）、岡本牧人（北里大学）、喜多村健（東京医科歯科大学）、暁 清文（愛媛大学）、佐藤宏昭（岩手医科大学）、福島邦博（岡山大学）、福田 諭（北海道大学）、水田邦博（浜松医科大学）、山嵜達也（東京大学））にて外リンパ瘻の診断基準の改訂（案）を作成し、本研究班での意見を集約して最終改訂（案）として、1年間パブリックコメントを得て改訂版とする。

（倫理面への配慮）

本研究は外リンパ瘻の診断基準の改訂であり倫理面への配慮には該当しない。

1. 診断基準改定

A. 研究目的

外リンパ瘻の診断基準は昭和58年（1983年）に厚生省特定研究急性高度難聴班によって作成された。その後、平成2年度の同研究班において訂正され、現在の診断基準となっている。しかし、外リンパ特異的タンパクCochlin-tomoprotein（CTP）が外リンパ瘻の診断に用いられるようになったことから、診断基準の見直しを行う必要がでてきた。そのため外リンパ瘻の診断基準とその改訂について検討した。

C. 研究結果

特発性外リンパ瘻診断基準（案）

（厚生省特定疾患急性高度難聴調査研究班および新規診断マーカーCTPを用いた難治性内耳疾患の多施設検討に関する研究班、2012年改訂）

1. 確実例

- (1) 手術（鼓室開放術）、内視鏡などにより蝸牛窓・前庭窓のいずれか、または両者より外リンパ、あるいは髄液の漏出を確認できたもの。または瘻孔を確認できたもの。
- (2) 中耳洗浄液からCochlin-tomoprotein（CTP）が検出できたもの。

2. 疑い例

髄液圧、鼓室圧の急激な変動を起こすような誘因の後に、難聴、耳鳴、耳閉塞感、めまい、平衡障害などが生じた。

問診所見

注 1：力み、重いものを持ち上げた、鼻かみ、努責、潜水、飛行機旅行などが誘因となる。

注 2：“水の流れるような耳鳴”あるいは“水の流れる感じ”がある。

注 3：パチツという音 (pop) を伴うことがある。

検査所見

注 1：原因の明らかでない一側性感音難聴が数日間、数日かけて生じた。ときに変動する。

注 2：難聴、耳鳴、耳閉塞感、めまい、平衡障害などが短期間に著明に変動した。

注 3：外耳・中耳の加圧・減圧などでめまいを訴える。または、眼振が記録できる。

注 4：動揺感が持続し、患側下で頭位眼振がみられる。

注 5：(中耳洗浄液から Cochlin-tomoprotein (CTP) が検出できた。)

D. E. 考察と結論

従来の外リンパ瘻診断基準を特発性外リンパ瘻診断基準(厚生省特定疾患急性高度難聴調査研究班および新規診断マーカーCTPを用いた難治性内耳疾患の多施設検討に関する研究班)として改訂(案)を作成した。中耳洗浄液から Cochlin-tomoprotein (CTP) が検出できたものを確実例または疑い例に加えるかどうかは、本研究班でのCTPによる診断率(感度と特異度)によって決定したい。その結果で診断基準の英文版も作成する予定である。今後、約1年間で班員から広くパブリックコメントを得て最終改訂版を作成する。詳細は分担研究報告書(小川郁分担研究者)に記載した。

従来の外リンパ瘻診断基準は「特発性外リンパ瘻」の診断基準である。現在我々が研究を進めているその他の疾患カテゴリーの外リンパ瘻については、新たな診断基準の作成を検討する。

・外傷性外リンパ瘻(アブミ外傷、側頭骨

外傷、全身打撲など)

- ・原因の明らかな外リンパ瘻(真珠腫*、腫瘍*、梅毒、奇形、カナルデヒーゼンス、医原性)
- ・内耳と脳脊髄液腔との交通に関して(内耳道底の異常、ガッシャー、蝸牛小管など)

2. 診療ガイドライン

A. 研究目的

診療ガイドラインの作成。

B. 研究方法

客観的生化学的診断法であるCTP検出法を用いて外リンパ瘻疑い症例に検査を行い、CTP陽性例(生化学的確実例)と疑い例の検討を行い、診療ガイドラインの作成へ向けて臨床所見、検査所見を検討する。

C. 研究結果

結果の詳細は各分担研究報告に記載した。各外リンパ瘻疾患カテゴリーと担当分担研

究者は下記の通りである。

- ・特発性外リンパ瘻<池園哲郎、宇佐美真一、鈴木衛、高橋克昌、武田憲昭、内藤泰、萩森伸一、松田秀樹>
- ・外傷性外リンパ瘻・迷路気腫<池園哲郎、小林俊光>
- ・内耳奇形（髄液漏、上半規管裂隙症候群）<武田憲昭、東野哲也>

- ・外科的外リンパ瘻（人工内耳手術例）<小川洋>

研究成果報告会で診療ガイドライン作成へ向けて進めていく具体的な議論がなされた。その成果の一部を、「外リンパ瘻FAQ Frequently Asked Questions」という形でまとめた。

外リンパ瘻FAQ Frequently Asked Questions

外リンパ瘻一般

Q. 外リンパ瘻にはどのようなものがありますか？

Ans.

特発性外リンパ瘻（狭義の特発性、軽微な圧外傷<はなかみ、ダイビング、飛行機搭乗、りきみなど>）

外傷性外リンパ瘻（アブミ外傷、側頭骨外傷、全身打撲など）

原因の明らかな外リンパ瘻（真珠腫*、腫瘍*、梅毒、奇形、カナルデヒーセンス*、医原性）

*Leakageの無いFistulaも外リンパ瘻と呼ばれています。

文献)

Labyrinthine fistulae: pathobiology and management. Minor LB. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg. 2003 Oct;11(5):340-6. Review

Neurotology, 2nd Edition, Robert K. Jackler, Derald E. Brackmann ed. Elsevier 2005

Q. 外リンパ瘻診断基準は特発性外リンパ瘻を対象にしていますか？

Ans. 厚生省特定疾患急性高度難聴調査研究班 平成2年度研究業績報告書（p20、1991）に、「外リンパ瘻の診断基準平成2年度（案）」が掲載されています。ここには、「海外では外傷や内耳奇形によるものも含めた報告が多いが、本研究班の対象は原因不明なものである」と記載されています。すなわち本邦で有名な診断基準は、“特発性外リンパ瘻”を対象としています。今年度予定されている改定では、「特発性外リンパ瘻診断基準」とされる予定です。

Q. 鼻かみを契機に発症したのに特発性外リンパ瘻という診断名は不適切ではないですか？

Ans. 「軽微な圧外傷（はなかみ、ダイビング、飛行機搭乗、りきみなど）で発症したという明らかなエピソードがあるのに、これを特発性と呼ぶのは不適切。」という指摘をよく耳にしません。1993年にMeyerhoffは論文で同様の指摘をしており、その議論は今でも続いています。そこで我々は発症エピソードが思い当たらない症例は「真の特発性」、エピソードがある場合を「広義の特発性」と呼んで区別しています。

文献)

Spontaneous perilymphatic fistula: myth or fact. Meyerhoff WL. Am J Otol. 1993 Sep;14(5):478-81.

Q. 北米では特発性外リンパ瘻という疾患が批判されていると聞きます。日本とは考え方が違うのですか、それとも人種差でしょうか。

Ans. 1980年代には、特発性を含めた“外リンパ瘻”が大変注目を集めました。しかし、特発性外リンパ瘻の確定診断法が開発されず、もっぱら、外リンパ漏出・瘻孔を視認する方法に頼っていたため、これが主観的と批判されました。1990年代初頭には外リンパ瘻はmyth(神話、作り話)であると言われ、ついには耳鼻咽喉科の癌とまで呼ばれました。これは主に特発性外リンパ瘻に対する論争であったにもかかわらず、その他の外傷性、奇形に伴うものなどのカテゴリーも一緒に否定されることとなり、PLFは“嫌われる用語”となっています。最近の北米の学会では外リンパ瘻という用語を用いた発表はほとんど見受けられません。

一方国内においては、外リンパ瘻の存在は否定されることなく、優れた研究が行われ、主に突発性難聴の鑑別診断として常に念頭におかれる疾患となっています。

文献)

The myth of spontaneous perilymph fistula. Shea JJ. Otolaryngol Head Neck Surg. 1992 Nov;107(5):613-6.

Myths in neurotology. Schuknecht HF. Am J Otol. 1992;13:124-126.

Spontaneous perilymphatic fistula: myth or fact. Meyerhoff WL. Am J Otol. 1993;14:478-81.

Perilymph fistula: concept, diagnosis and management. Nomura Y. Acta Otolaryngol Suppl. 1994;514:52-4.

Q. 外リンパ瘻診断基準は今後改訂されるのでしょうか？

Ans. 外リンパ瘻の診断基準は昭和58年（1983年）に厚生省特定研究急性高度難聴班によって作成されましたが、来年度の改訂版において、「GTP検査陽性」が含まれる予定です。確実例の要件に含まれるか、参考所見に含まれるかは平成23年度に検討されることになっています。

Q. 外リンパ瘻の診断基準の項目には「内耳窓閉鎖術によって聴力改善が得られる」という記載がありませんが、これを取り入れては如何でしょうか。

Ans. このような診断を、治療的診断と言います。診断的治療とは症状の原因が明らかになっていない場合、特定の原因を想定して、治療を行い、予想通りの治療結果が得られたら、想定した疾患が正しいと考える、というものです。日常臨床ではしばしば行われていますが、“診断基準”には通常そぐわない考え方です。

検討中項目

Q. 突難、メニエール病など特発性疾患に占める外リンパ瘻の割合はどの程度ですか？

検査・症候・診断

Q. 外リンパ瘻の生理学的検査・症候の診断精度は？ 特異度・感度は？

Ans. 外リンパ瘻に関連した生理学的検査・症候としては下記が挙げられています。その診断精度があきらかになっているものはまだありません。

- ・ 座位、臥位での聴力変動検査
- ・ 瘻孔眼振 瘻孔症状
- ・ ポップ音 流水耳鳴
- ・ その他

Q. 瘻孔眼振の検査方法や結果の表記のしかたは標準化されていますか？

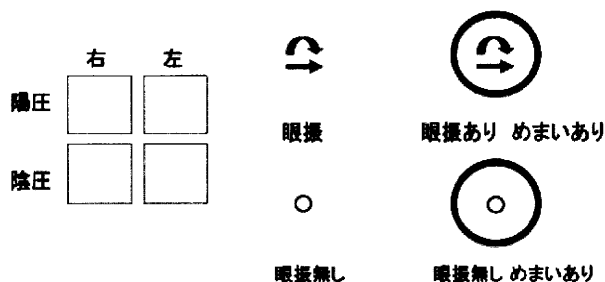
Ans. 外耳道に陽圧、陰圧をかける検査ですが、その検査適応、手技、結果の表記は標準化されていません。

施設によって、ポリツェル球、加圧球付き耳鏡（ジーゲル耳鏡、ブリューニング耳鏡）、手動式ティンパノメトリー等が使われています。

「加圧球付き耳鏡」を用いた場合、鼓膜の状態を確認しながら加圧出来るのでより安全です。既製品では加圧球が小さく、十分加圧できないため、その容量を大きくした製品もあり、研究班ではこの機器をもちいた評価を行う予定になっております。通常ゴム球23ccのところ特注ゴム球は70ccです。

また手動式ティンパノメトリーを用いれば圧を定量的に変化させることができます。北米ではかつて外耳道加圧による重心動揺検査 (a fistula test with dynamic posturography) が行われていました。

表記の方法ですが、下記の表記法が案として提案されております。



文献)

Black FO, Lilly DJ, Peterka RJ, Shupert C, Hemenway WG, Pesznecker SC. The dynamic posturographic pressure test for the presumptive diagnosis of perilymph fistulas. *Neurol Clin.* 1990 May;8(2):361-74.

Q. 外リンパ漏出の生化学的検査にはどのようなものが知られていますか？

Ans. 今まで報告され、多くの論文で使用されてきた外リンパ瘻の診断マーカー（候補）は下記の通りです。

- ・ Beta 2 transferrin
- ・ Beta-trace protein (prostaglandin D synthase)
- ・ GTP
- ・ その他

以下解説（下記文献より引用）

Previously tested candidate markers such as beta-2 transferrin, Beta-trace protein (prostaglandin D synthase), or intrathecal fluorescein, are markers of CSF leakage. An electrophoretic assay of middle ear fluid for the presence of beta-2 transferrin, a protein unique to CSF, aqueous humor and human perilymph was introduced for the diagnosis of PLF [Bassiouny et al., 1992; Buchman et al., 1999]. In children suspected to have PLF, beta-2 transferrin was detected in 6 of 9 operated ears, all 10 control patients were negative [Weber et al., 1994]. Although this technique holds promise, the dilutional effect of sample handling in preparation may lower beta-2 transferrin concentration below the detection limits of the assay. Because of the relative amount of serum and perilymph in a mixed sample, electrophoretic separation of transferrin variants may not be diagnostic [Levenson et al., 1996; Rauch, 2000].

Beta-trace protein (prostaglandin D synthase) has been used as a CSF leakage marker [Bachmann et al., 2002]. Since beta-trace protein is detectable in inner ear fluids in an even higher concentration than in CSF, it is a potential marker for perilymph leakage. However, there are some drawbacks that are pointed out by the author: the normal concentration of beta-trace protein in perilymph and proper cut-off of perilymph detection is not known yet, and it is impossible to distinguish CSF leakage from PLF leakage [Olaf et al., 2005a, 2005b; Risch et al., 2005].

There have been reports of fluorescein use as an exogenous marker for PLF diagnosis. Although it is appealing as a marker, visual detection of faint fluorescence in a small-volume middle ear fluid sample may be subjective, which is the same drawback in conventional visual detection of perilymph leakage. The wide, rapid distribution throughout all physiological fluid compartments makes it an unreliable marker substance in the differential diagnosis of PLF [Poe et al., 1993; Rauch, 2000; Gehrking et al., 2002].

GTP is the first substance that is present in the perilymph, but not in other body fluids such as the CSF, serum and saliva. Therefore, it can be a sensitive biochemical marker for perilymph leakage. Once a well-standardized GTP detection test is established, it could be a definitive objective test for the diagnosis of PLF.

文献)

Ikezono T et al. Cochlin-tomoprotein (GTP), a novel perilymph-specific protein and a potential marker for the diagnosis of perilymphatic fistula. *Audiol Neurotol.* 14: 338-344, 2009.

Q. GTP検出法の診断精度は？ 特異度・感度は？

Ans. ウェスタンブロット法を用いたGTP蛋白検出法の検出限界を泳動1 wellあたりhrGTP蛋白0.27(ng/well) と設定し、これをspiked standardとすることで精度が管理されています。この標準化した検査法を用いて、蛋白安定性、ヒト外リンパ検出感度、臨床検体の検出感度が報告されています（数値は現在改訂中）。

Q. ウェスタンブロット法を用いたGTP検出法の欠点はどのようなところですか？

Ans.

1. 中耳洗浄液には蛋白量が極めて少ないサンプルと、溶血や膿の混入により蛋白濃度が高いサンプルがあります。ウェスタンブロット法を用いた検出法では、蛋白濃度が高いサンプルでは擬陽性が出やすい傾向にあることが知られています。炎症や感染の無い中耳から採取された中耳洗浄液55検体を用いた場合の偽陽性率は1.8%ですが、炎症や感染を伴う中耳の中耳洗浄液では6.5%となります。
2. 現行の検査法ではある一定の蛋白濃度を越えたサンプルについては希釈して検査します。高濃度サンプルでは泳動の乱れや隣のレーンへのはみ出し、プロットング効率の低下などが生じるからです。希釈されたサンプル中にGTPが含まれていても、検出感度以下となってしまう場合があります。
3. 2次抗体に抗免疫グロブリンH鎖抗体を使用しているため、サンプル中に含まれる免疫グロブリンH鎖は陽性バンドとして検出されてしまい、これを消すことは不可能です。幸いなことにGTPは16kDaと低分子のため、免疫グロブリンに対する反応が偽陽性的の原因となることはありません。

免疫グロブリンのサイズ (Sigma社HPより引用)

Human Immunoglobulin Properties									
Property	IgG				IgA		IgM	IgD	IgE
H chain class (heavy chain)	γ				α		μ	δ	ε
H chain subclasses	γ1	γ2	γ3	γ4	α1	α2	None	None	None
H chain MW	50 kDa	50 kDa	60 kDa	50 kDa	55 kDa	55 kDa	70 kDa	62 kDa	70 kDa
L chain MW* (light chain κ & λ)	23 kDa	23 kDa	23 kDa	23 kDa	23 kDa	23 kDa	23 kDa	23 kDa	23 kDa
Total MW	150 kDa	150 kDa	170 kDa	150 kDa	160 kDa (serum) 600 kDa (secretory)	160 kDa (serum) 600 kDa (secretory)	570 kDa	180 kDa	190 kDa
Ext. Coeff. 0.1% @ 280nm	1.4	1.7	1.4	1.4	1.32	1.32	1.18	1.7	1.53
Complement fixation	weak	weak	strong	no	no	no	strong	no	no
Fc receptor binding	strong	weak	strong	weak	yes	yes	yes	no	yes
Mast cell / basophil degranulation	no	no	no	no	no	no	no	no	yes
Placental transfer	strong	weak	strong	strong	no	no	no	no	no

* Light chains are present on all immunoglobulin classes. In humans, κ chains are found 67% of the time, and λ chains are found 33% of the time. For ratios in other species (see Table, Immunoglobulin Light Chain Ratios)

Q. 特発性外リンパ腫疑い例におけるGTP検査の陽性率はどれくらいですか？

Ans. 厚生省特定研究急性高度難聴班の診断基準に基づいて特発性外リンパ腫疑いとされた症例で、GTP検査を施行した症例における陽性率は8%程度です。ですから、100例検査しても93例は陰性となる計算です。

Q. 中耳外傷性外リンパ瘻疑い例（耳かき外傷、平手打ち外傷）におけるのCTP検査の陽性率は？

Ans. 52%です。今まで検査した症例の中では、直達外力（耳かきや釘）のみ陽性となり、介達外力（平手打ち）では全例陰性です。

Q. CTP検査が陰性だった場合は、外リンパ瘻ではないのですか？

Ans. 検査結果が陽性の場合には、CTP検査上からは外リンパ瘻と診断できます。一方、結果が陰性だった場合下記の可能性が考えられます。

1. 漏出し 外リンパ瘻ではない
2. 瘻孔が自然治癒した 外リンパ瘻
3. 間欠的漏出であった 外リンパ瘻
4. 漏出した外リンパが微量で検出できず 外リンパ瘻

本検査を「参考所見」と考えて頂き、臨床所見からご診断するようにお願いします。

Q. CTP検出法の迅速検査が開発中と聞きましたがどんなものですか？

Ans. 現在エライザ法の開発が進んでいます。この方法のメリットは下記で、上記のウェスタンブロット法による検査のデメリットはほぼ全て解決されると考えています。

- ・ 検査サンプルを検査機関（日本医科大学）まで送付する手間がない
- ・ カットオフ値を定めるので、判定にヒューマンバイアスが入り込みにくい
- ・ 検査結果を術者施設で直接確認できる
- ・ 検査結果が出るまで今までのように数週間も待たなくて良い
- ・ 感度、特異度ともに向上する
- ・ 蛋白濃度の高いサンプルでも比較検査しやすい。

Q. CTP検出法の迅速検査はどの施設でも施行できますか？

Ans. 平成24年度には検査を開始する予定です。開始当初は厚労省研究班を中心としたコンソーシアムの中で行われます。そこで、検査の精度を確認してから一般に公開される予定です。

Q. CTP検出法で陽性であった症例の特徴を教えてください。

Ans.

1. 特発性外リンパ瘻（いわゆる鼻かみ型）では感音難聴が数日かけて生じる、徐々に進行する、聴力が変動する、変動しながら悪化する、一度治った難聴が再発する、などの特徴が7割の症例にみられました。残りの3割は突発性難聴とは区別がつかない経過でした。眼振・めまいは2/3の症例にみられ、突発性難聴の過去の臨床統計より頻度が高いようです。また、

末梢性眼振の方向が麻痺性・刺激性と頻繁に変動する特徴もあります。流水様耳鳴は25%、圧迫眼振は15%の症例にみられるという暫定的なデータがあります。これらの所見は外リンパ瘻診断における感度が高いとは言えないかもしれませんが、現在多施設検討を進めております。

2. 外傷性外リンパ瘻は、頭部打撲やアブミ骨直達外力で発症すると言われています。特に耳かき習慣が根付いている本邦においてその発生頻度が高く、海外からの報告は稀です。消防庁救急隊が扱う年間70万件の救急事故のうち、平均で77例が耳かき外傷という統計があります。CTP検査を行った症例からわかったことは、直達外力(耳かきなど)では当然ながらCTP陽性となった症例もありその頻度は、約50%です。一方介達外力(平手打ち)ではCTP陽性となった症例はありませんでした。直達外力症例では後上象限に鼓膜穿孔がある、難聴がありさらにめまいがあり回転性である、という2点が外リンパ瘻を積極的に疑う所見です。CTで迷路気腫(内耳に気泡)あれば外リンパ瘻と診断できます。手術を行うかどうかは、外リンパが漏れ続けているかどうかポイントです。漏れ続けている場合には、髄膜炎、内耳炎、失聴などのリスクがあります。CTによる迷路気腫の診断は難しく、骨迷路と外リンパの境界線ではアーチファクトによりCTが欠損値となりやすいことが知られています。気腫の診断のために体位を変換してCTを撮影する方法もあります。
3. 炎症性外リンパ瘻(中耳炎)は、真珠腫にともなう半規管瘻孔、蝸牛瘻孔などですが、その進達度診断に用いることが可能です。例えば、術後の骨導悪化要因の解析に用いることができます。また、中鼓室真珠腫においては蝸牛瘻孔からの漏出の有無が判定できます。
4. 奇形に伴う外リンパ瘻は、海外では小児進行性難聴の原因として注目されています。

文献)

Perilymph fistulas in infants and children. Supance JS, Bluestone CD. Otolaryngol Head Neck Surg. 1983;91:663-671.

5. 耳科手術 下記のような用途が考えられます。
 - ・耳小骨の操作により外リンパ瘻をきたしたかどうかの判定
 - ・術中副損傷による内耳瘻孔の判定
 - ・内耳奇形での人工内耳電極挿入の指標
6. その他 通気 耳処置など

治療

Q. 外リンパ瘻の保存治療について教えてください。

Ans. 頭位挙上体位による安静臥床治療、ステロイド、ビタミンB12、利尿剤などの薬物治療などが報告されています。

Q. 外リンパ瘻の手術治療について教えてください。

Ans. 種々の術式が考えられます。

- ・ 内耳窓閉鎖術
- ・ 骨迷路骨折線の修復
- ・ アブミ骨外傷による前庭窓破綻の修復ならびに伝音再建
- ・ 半規管デヒーセンスのブラジング、リサーフェーシング

Q. 特発性外リンパ瘻に対する内耳窓閉鎖術について、手術適応、手術時期、手術方法、治療効果について教えてください。

Ans.

手術適応、手術時期 特発性外リンパ瘻診断基準に基づいて、外リンパ瘻が疑われる症例に手術が行われています。CTP検査は現在、術後に確定診断を下すために用いられています。検査の迅速性などのもんだいから、術前には行っていません。

従来は、発症後2週間以内に手術しないと治療効果が低いとされてきましたが、最近、発症後2ヶ月経過してから手術して著明な改善効果が得られた症例も報告されています。

手術方法 漏出の確認が出来たかどうかに関わらず、前庭窓、蝸牛窓を筋膜や結合組織で閉鎖します。前庭窓前方にあるmicrofissure (fistula ante fenestram) にも筋膜を置く場合があります。この手術は安全な手術ですが、頻度は低いものの味覚障害や聴力の悪化がみられることがあります。

治療効果 難聴を主訴とするCTP陽性13例の報告では、聴力改善が平均27dB、著明回復・治癒が4割にみられました。めまいは全例数日程度で改善しています。しかしながら、術後聴力が悪化する場合もあり、これは手術治療による効果が出ず、内耳障害の進行を止められなかったと考えられます。

Q. 内耳窓閉鎖術について、治療効果があるとすればそれはなぜですか。

Ans. 外リンパ瘻に置いては、外リンパ圧低下による相対的内リンパ水腫となっている、膜迷

路が虚脱している、などの病態が考えられ、手術による瘻孔閉鎖がこれを是正していると考えられます。有毛細胞などの障害がすでに進行している場合には手術によって改善することは考えづらいです。

検討中項目

Q. 特発性外リンパ瘻の自然治癒率について教えてください。

基礎・解剖

Q. ヒトで特発性外リンパ瘻が生じやすい部位を教えてください。

Ans. 前庭窓、蝸牛窓、microfissureなどです。

Q. 外リンパ瘻動物モデルの所見について教えてください。

Ans. 外リンパ腔と脳脊髄液腔の疎通性などに、ヒトと動物では異なる点も多く、また動物においても種差が大きいとおもわれます。この点について十分に留意しながら実験結果の臨床的意義について考えなければなりません。

正円窓の開窓のみでは、難聴がほぼ改善する、外リンパ瘻の吸引や前庭窓へのair 注入では難聴モデルが作成できる、などが知られています。

検討中項目

Q. 内耳と脳脊髄液腔との交通に関しては現在どのように考えられていますか？

Q. 外リンパの産生と内リンパの産生については現在どのように考えられていますか？

D. E. 考察と結論

特発性外リンパ瘻は、海外ではその存在すら否定されてきたが、本年度の研究によりその存在は間違いないものと考えられた。今まで曖昧とした疾患と考えられてきた外リンパ瘻の診断基準を整備し、各カテゴリーごとのガイドラインを作成することで、診断・治療に関するガイドラインをまとめて行きたい。

EBMの大家として知られるSackett博士は診断研究のPhaseを下記の4段階に分類している。

1. 正常者と患者でテスト結果が有意に異なるか
2. テストの結果から正常者と患者を区別出来るか
3. 疑い症例の中から診断を確定できるか
4. テストを受けた患者の治療成績はより良

いか

(The architecture of diagnostic research. British Med J 2002. Sackett DL)

我々研究班では、Phase4の「CTP検出検査を受けた症例の治療効果の向上」を最終的な目標として、研究に取り組んでいきたい。

3. 検査精度の評価と精度向上への取り組み

A. 研究目的

臨床検査には厳密な精度管理が求められる。さらにその検査を行うにあたり、国際基準 (STARD statement : STAndards for the Reporting of Diagnostic Accuracy studies) では、検査の精度、診断精度、検査の欠点を明らかにすることが求められている。

B. 研究方法

我々は、検査結果を客観的な基準によって保証するため、下記3ポイントを実施しており、良好かつ適正な精度管理が得られている。

1. ヒト・リコンビナントCTPタンパクを内部標準として使用
2. 最新式イメージアナライザーで最適なSN比をもつ結果画像を選定
3. 臨床経過を知らない第三者的立場の担当者が結果判定

上記精度管理により達成された「検査精度」は、recombinant human CTPの検出下限は0.27ng/lane、ヒト外リンパの検出下限は0.161 μ l/laneであった。換算すると、中耳腔に約3 μ l外リンパが存在すれば検出で

きることになる。左図を採用する。

今年度改訂した、CTP検出法の測定手順書 <Standard operating procedure (SOP)> を報告した。

CTP検出検査の方法、精度管理について検討を加えた。

C. 研究結果

CTP検出法の診断能評価： 検出限界をヒトリコンビナントCTP蛋白0.27ngと設定し、検査を規準化した。その検査法を用いて、CTP発現特異性、蛋白安定性、ヒト外リンパ検出感度、臨床検体の検出感度を検討した。

①CTP発現の特異性を検討した。その結果、外リンパサンプル85検体中、80検体がCTP陽性、脳脊髄液80サンプルはすべてCTP陰性だった。そのほか、血清28検体、唾液29検体が陰性であったことを報告した (業績文献1)。

②CTP蛋白の診断マーカーとしての安定性を検討した。室温25度と冷蔵4度に55日間放置したサンプルを測定したところ、検出反応に大きな変化は無かった。また、解凍凍結を10回反復しても変化はみられず、非常に安定した蛋白であることが判明した (業績文献4)。

③ヒト外リンパの平均検出下限は0.161 μ l / lane (ウェスタンプロットの1レーンあたりの泳動量)であった。また外リンパ瘻が否定される症例(non-PLF caess)における本検査の感度は、非炎症耳55検体で98.2%、炎症・感染耳46検体で93.5%であった (業績文献4)。

④ヒトサンプルを用いたときに良く検出される非特異バンドの検討を行ったところ、非特異バンドは主に抗IgG抗体(2次抗体)に対する反応であった

⑤CTP検出法の欠点

- ・偽陽性：通常の偽陽性率は1.8%、炎症や感染を伴う中耳の中耳洗浄液では6.5%
- ・蛋白濃度：溶血、感染あるサンプルは蛋白濃度が高すぎるため、ウェスタンブロット法に適していない。このため希釈して泳動する必要があり感度が低下する恐れがある。
- ・検査時間：検査の実施には通常2日間を要し、サンプル数、検査の頻度により結果が出るまで1-3週間を要する。さらに精度管理上問題があれば再検査が必要となり、結果が出るまでそれ以上の時間を要する。

D. E. 考察と結論

このように、本検査の「検査精度」は実際に臨床で活用できるレベルに達した。内耳疾患のほとんどは特発性であり、内耳組織生検が禁忌であるため原因診断が確定されるケースは限られている。患者さんは、まず、正確な原因診断を望んでおり、その診断に基づく診療を望んでいる。CTP検出法は、ほぼ臨床実用化レベルに達しており、正確な診断により外科的治療の適応の判断に寄与することが期待されている。

詳細は分担研究報告書(池園哲郎)に記載した。

4. 基礎研究

A. 研究目的

本研究の目的は、動物を用いた基礎的研究からのアプローチにより、多彩な臨床所見を呈する外リンパ瘻の病態を明らかにすることである。また外リンパ瘻の生化学的診断マーカーであるCTPを質量分析の手法を用いて、その外リンパ発現の特異性を検討することにある。

B. 研究方法

モルモット(ハートレー系、オス、8週齢：250-300g)を用いた。外リンパ瘻モデル動物作製として以下の3つを検討する。1)正円窓開窓、2)アブミ骨摘出による卵円開窓、3)正円窓から4 μ lの外リンパ液吸引
機能的聴力の評価は、聴性脳幹反応 ABR (Auditory Brainstem Response)を用いる。外リンパを採取し、外リンパ液に含まれる内耳特異的蛋白であるCTPを質量分析で解析する。内耳形態評価として一側はsurface preparationにて有毛細胞評価、もう一側はcross sectionにて蝸牛の形態評価を施行する。

(倫理面への配慮)

本研究計画に基づき実施する動物実験は、神戸大学の動物実験倫理委員会の承認を得たものであり、諸規則に則り動物愛護の精神を持って行う。

C. 研究結果

モルモットにおけるモデル作製前(コントロール)の聴力測定を行った。各周波数