

Table 1. Gene-specific primers for PCR of rat transient receptor potential cation channel superfamily V type 1 (TRPV1) and β -2 microglobulin (B2m)

TRPV1 (accession no. NM_031982)	
Forward primer	5'-ACTCCTGACGGCAAGGATGAC-3'
Reverse primer	5'-ACCCACATTGGTGTCCAGGTAG-3'
Estimated size	81 bp
B2m (accession no. NM_012512)	
Forward primer	5'-CCTGGCTCACACTGAATTCACAC-3'
Reverse primer	5'-AACCGGATCTGGAGTAACTGGTC-3'
Estimated size	163 bp

0.8 μ l of each gene-specific primer (5 μ M), 6.8 μ l of dH₂O, 0.4 μ l of 50 $\times$ ROX Reference Dye and 2 μ l of cDNA (250 ng) in a final volume of 20 μ l. The conditions used were 95 $^{\circ}$ C for 10 s, 40 cycles at 95 $^{\circ}$ C for 5 s and 60 $^{\circ}$ C for 30 s, 95 $^{\circ}$ C for 15 s, 60 $^{\circ}$ C for 1 min and 95 $^{\circ}$ C for 15 s. The amplification plots from fluorescent emission data collected during PCR were constructed using the ABI7900 model software (Applied Biosystems).

The number of PCR cycles was recorded until the fluorescence intensity exceeded the pre-determined threshold. The quantification of the initial amounts of template molecules relied on this number of PCR cycles, which is termed the cycle threshold (CT). The dCT represents the CT of the target gene normalized to the rat endogenous B2m ($dCT = CT_{\text{target}} - CT_{\text{B2m}}$). Relative quantification of the mRNA levels of target genes (=fold range) was calculated using the 2^{-ddCT} method, where $ddCT = (CT_{\text{target}} - CT_{\text{B2m}})_A - (CT_{\text{target}} - CT_{\text{B2m}})_B$ (Schmittgen et al., 2000). For example, changes in gene expression of TRPV1 among groups CONT, SA2H, SA12H, SA24H and SA72H (GROUP_x) within each region were quantified as the fold range: 2^{-ddCT} ($ddCT = (CT_{\text{TRPV1}} - CT_{\text{B2m}})_{\text{GROUP}_x} - (CT_{\text{TRPV1}} - CT_{\text{B2m}})_{\text{CONT}}$).

Protein examination

TRPV1 protein levels were assayed using standard western blotting techniques (Kitahara et al., 2005a,b). Briefly, tissues of each region (SG, DCN, BRCx) were obtained from a saline i.p. injection control group, a 2 h post-salicylate i.p. injection group and a 24 h post-salicylate injection group ($n=8$ in each group) through the same procedure for real-time PCR in the present study. Then, the tissues were added to lysis buffer (1% NP-40, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 10 mM PBS (pH 7.4), 0.25 mM DTT, 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride, 10 μ g/ml aprotinin, 10 μ g/ml leupeptin) and homogenized gently on ice using a Polytron tissue homogenizer (Brinkmann Instruments, Westbury, NY, USA). The samples were boiled for 1 min, transferred to clean Eppendorf tubes on ice and centrifuged at 10,000 g for 30 min. Supernatant was transferred to clean tubes, and protein concentration was determined using a protein assay kit (Pierce, Rockford, IL, USA). The protein extracts (20 μ g for each lane) were subjected to 12% SDS-polyacrylamide gel electrophoresis and transferred to nitrocellulose filters (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, USA) at 500 mA for 1 h. The filters were pre-blocked in 0.1 M PBS containing 0.2% Tween 20 and 5% non-fat dried milk for 3 h at room temperature (RT), probed overnight with TRPV1 primary antibody (anti-rabbit polyclonal; diluted 1:1000; Alpha Diagnostic International, San Antonio, TX, USA) and then washed with Blotto solution (50 mM Tris (pH 7.4), 0.9% NaCl, 0.5% Tween 20) for 1 h. Filters were then incubated with HRP-conjugated secondary antibody (Dako, Carpinteria, CA, USA) for 1 h and washed with Blotto solution for 1 h. Protein bands were visualized using Supersignal Ultra chemiluminescence substrate (Pierce), assessed on ECL film (Amersham Biosciences) and quantified by laser densitometry (Quantity One Software, Bio-Rad Lab, Hercules, CA, USA). The density of staining with anti- β actin monoclonal anti-

body (Oncogene Research Products, Boston, MA, USA; diluted 1:500) was used to normalize the TRPV1 densitometric determination of each sample.

Tissue preparation procedures for immunohistochemistry have already been described in our previous papers (Kitahara et al., 2005a,b). Temporal bones were obtained from two adult male rats from each of a saline i.p. injection control group and a 2 h post-salicylate i.p. injection group. The animals were euthanized with sodium pentobarbital (100 mg/kg i.p.) and perfused transcardially with 0.1 M PBS, followed by paraformaldehyde-lysine-periodate fixative. Temporal bones were post-fixed in 4% paraformaldehyde for 24 h at RT, decalcified in 10% formic acid, neutralized overnight in 5% sodium sulfate, infiltrated with OCT compound and sectioned on a cryostat at 5 μ m in a plane that produces mid-modiolar sections. The sections were thaw mounted on slides. The 5 μ m cryostat sections were incubated sequentially in the following solutions at RT: 0.1% TritonX-100 and 2% bovine serum albumin (BSA) in 0.1 M PBS for 2 h; antisera against TRPV1 (anti-rabbit polyclonal; diluted 1:1000; Alpha Diagnostic International) in the above solution for 48 h; 0.1 M PBS for 15 min; biotinylated goat anti-rabbit IgG (diluted 1:250; Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) in 2% BSA in 0.1 M PBS for 24 h; 0.1 M PBS for 15 min; Vectastain ABC reagent (Vector Laboratories) for 1 h; 0.1 M PBS for 15 min; 5 mg/ml diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB)/0.01% H₂O₂ in 0.05 M Tris buffer for 5 min. Sections were then examined under a light microscope. For negative controls, primary antibodies were either pre-absorbed with each control peptide (1:50) or the primary antibody was omitted.

Antagonist treatment

To elucidate the direct involvement of TRPV1 in the mechanism of tinnitus generation, a specific antagonist of TRPV1, capsazepine (Sigma) and its vehicle, 50% dimethyl sulfoxide (DMSO) (Sigma) were used. Group I was a saline+DMSO group, group II was a salicylate+DMSO group, group III was a salicylate+capsazepine group and group IV was a saline+capsazepine group. DMSO or capsazepine was administered 0.5 h after the first injection of saline or salicylate. Effects of capsazepine within the dose range of 0–10 mg/kg (De Schepper et al., 2008) were evaluated behaviorally by counting false positive responses (cf. 2.1 in Experimental Procedures) and morphologically by real-time PCR (cf. 2.3 in Experimental Procedures).

Statistical analysis

In the present paper, the statistical significance of changes among groups was analyzed using one-way ANOVA with Bonferroni *t*-test except for capsazepine treatment. Two-way ANOVA with Bonferroni *t*-test was used to test the hypotheses that salicylate effect is blocked by capsazepine. All the data were presented as mean $\pm$ SE and *P*-values under 0.05 were considered significant (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

RESULTS

Behavioral assessment

In pilot experiments, animals were divided into four groups ($n=6$ in each group) according to conditioned stimuli of 4, 10, 16 or 40 kHz (60 dB SPL), and false positive responses were measured on the third day after salicylate injection. Each number of false positive responses was 0.6 ± 0.4 (4 kHz), 2.8 ± 0.8 (10 kHz), 4.2 ± 0.9 (16 kHz), or 0.6 ± 0.4 (40 kHz) and increased significantly when the conditioned stimulus was 16 kHz (* $P=0.004$) (Fig. 2A). Then, animals were also divided into three groups ($n=6$ in each group) according to conditioned stimuli of 20, 60 or 80 dB SPL (16

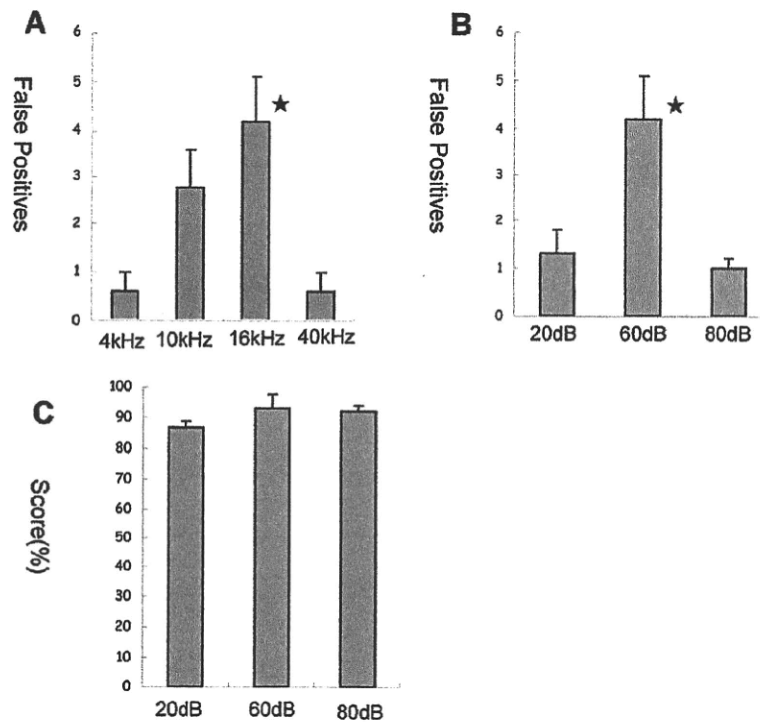


Fig. 2. The most appropriate kHz and dB sound pressure level (SPL) for the conditioning stimulus in the rat salicylate-induced tinnitus model. (A) Animals were divided into four groups ($n=6$ in each group) according to conditioning stimuli of 4, 10, 16 or 40 kHz (60 dB SPL). The number of false positives were measured on the third day after salicylate injection and increased significantly when the conditioning stimulus was 16 kHz (* $P<0.005$). (B) Animals were divided into three groups ($n=6$ in each group) according to conditioning stimuli of 20, 60 or 80 dB SPL (16 kHz). The number of false positives between these groups on the third day after salicylate injection increased significantly when the conditioning stimulus was at 60 dB SPL (* $P<0.05$). (C) The percentage of correct responses (score %) to sound of 20, 60 or 80 dB SPL (16 kHz) (active avoidance score). There were no significant differences between all three groups.

kHz) and false positive responses were measured as above. Each number of false positive responses was 1.3 ± 0.5 (20 dB SPL), 4.2 ± 0.9 (60 dB SPL), or 1.0 ± 0.2 (80 dB SPL) and increased significantly when the conditioned stimulus was 60 dB SPL (* $P=0.013$) (Fig. 2B). The active avoidance score showed no significant change among all these groups, though (Fig. 2C). From these

experiments, a 16 kHz and 60 dB SPL pure tone sound was adopted as the most appropriate conditioned stimulus for the present Wistar rat study.

Animals in the control group showed no significant change either in the active avoidance score (Fig. 3A) or in the false positive responses (Fig. 3B) from day 0 to day 4. The active avoidance scores of control and experimental

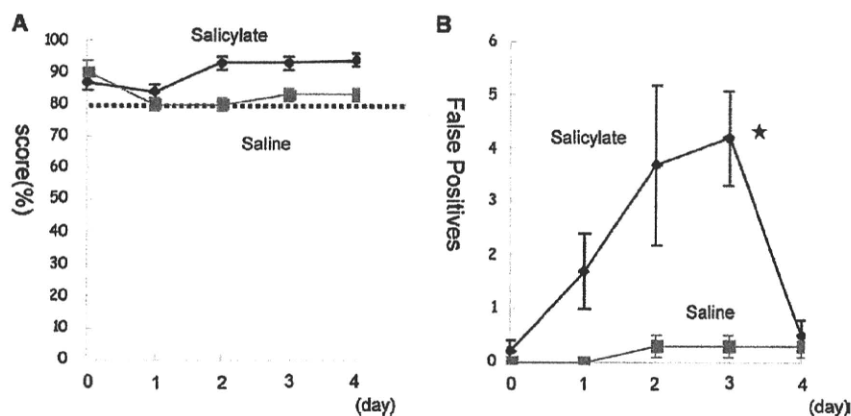


Fig. 3. The active avoidance score (A) and false positive responses (B) in salicylate-treated rats. (A) The percentage of correct responses to sound (active avoidance score %) measured before (day 0), during (day 1–3), and after injections of saline or salicylate (400 mg/kg i.p.) (day 4). The active avoidance score % remained stable ($\geq 80\%$) in both groups during the experimental period. (B) The number of abnormal responses during silent periods (false positives). Injections of salicylate significantly increased the number of false positives on the third day (day 3) (* $P<0.005$). A complete recovery was seen when the treatment was stopped on the fourth day (day 4).

animals remained stable ($\geq 80\%$) during the whole period of saline and salicylate administration. This suggests that salicylate application did not cause any obvious functional damage to cochlear endo-organs. False positive responses increased gradually after salicylate treatment with a maximum at day 3 (day 1: 0.2 ± 0.2 , day 2: 1.7 ± 0.7 , day 3: 4.2 ± 0.9 , day 4: 0.5 ± 0.3 , $*P=0.002$) and returned to the control value at day 4. This suggests that salicylate treatment caused a phantom sound sensation or “tinnitus” in rats, with a maximum at day 3 that endured for one day at most.

ABR assessment

We examined if the salicylate induced the inner ear dysfunction by means of ABR. We used the III wave in the measurement of ABR threshold, because this was most detectable at lower-intensity stimuli reference. No remarkable differences were observed between mean ABR threshold of control and salicylate-treated rats (data not shown). This suggests that salicylate treatment did not cause any obvious functional damage to cochlear endo-organs.

Morphological assessment

Neither hair cells nor SG cells showed any remarkable changes between control and salicylate-treated rats (data not shown). This suggests that salicylate treatment did not cause any obvious morphological damage to cochlear endo-organs.

Expression of TRPV1 in the auditory pathway and BRCx

TRPV1 mRNA levels in the SG were significantly upregulated 2 h (2.39 ± 0.18 fold: $*P=0.0005$), returned to control

levels 12 h (0.81 ± 0.02 fold: $P=0.105$), significantly suppressed 24 h (0.35 ± 0.03 fold: $**P=0.0002$) and returned to control levels 72 h post-treatment (0.91 ± 0.05 fold: $P=0.130$) (Fig. 4A). TRPV1 mRNA levels in the DCN were significantly suppressed 2 h (0.53 ± 0.03 fold: $*P=0.0001$) and 12 h (0.64 ± 0.03 fold: $*P=0.0001$) post-treatment, respectively and returned to control levels 24 h post-treatment (1.01 ± 0.05 fold: $P=0.810$) (Fig. 4B). TRPV1 mRNA levels in the BRCx did not show any significant change after salicylate treatment (Fig. 4C).

TRPV1 protein levels in the inner ear

Fig. 5 illustrates western blot results for TRPV1 and the relative protein levels (TRPV1/actin in CONT=1) in the rat SG, DCN and BRCx. Similar to the results for mRNA levels, TRPV1 protein levels in the SG were significantly increased 2 h after salicylate treatment (2.94 ± 0.72 : $*P=0.022$) and returned to control levels 24 h after salicylate treatment (0.89 ± 0.65 : $P=0.068$) (Fig. 5A). In spite of a slight reduction 2 h after salicylate treatment (0.61 ± 0.48 : $*P=0.044$), TRPV1 protein levels in the DCN were significantly increased 24 h after salicylate treatment (1.56 ± 0.60 : $**P=0.038$) (Fig. 5C). TRPV1 protein levels in the BRCx did not show any significant change after salicylate treatment (Fig. 5D).

TRPV1 immunoreactivity in the salicylate-treated group was clearly enhanced in almost all SG cells compared with that in the saline-control group (Fig. 5B). The dense immunoreactivity extended beyond the perinuclear region and into the somata of ganglion cells. All TRPV1 immunoreactivity was eliminated by pre-absorption with an excess of blocking peptide (data not shown).

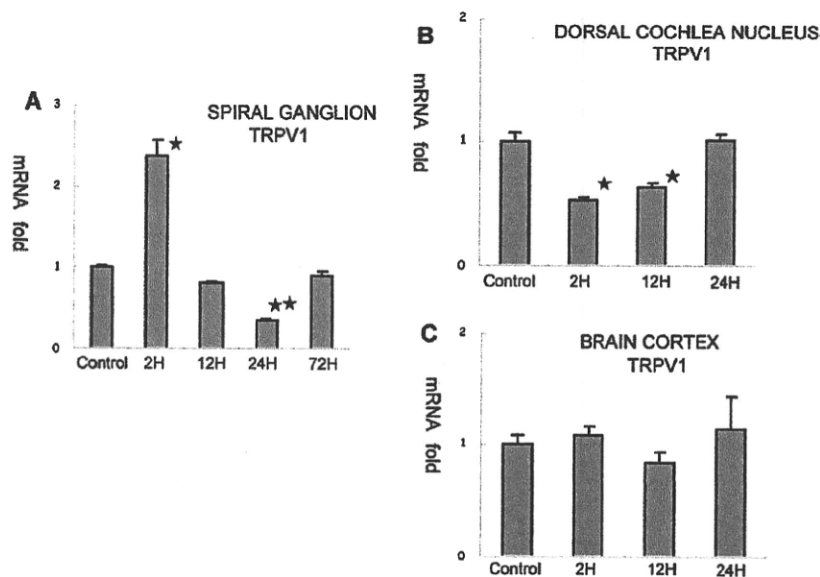


Fig. 4. Salicylate-induced changes in transient receptor potential cation channel superfamily V-1 (TRPV1) mRNA levels in the rat spiral ganglion (SG) (A), dorsal cochlear nucleus (DCN) (B) and brain cortex (BRCx) (C). (A) TRPV1 mRNA levels in SG were significantly upregulated 2 h ($*P<0.001$), returned to control levels 12 h, significantly suppressed 24 h ($**P<0.0005$) and returned to control levels 72 h post-treatment. (B) TRPV1 mRNA levels in the DCN were significantly suppressed at the 2 and 12 h post-treatment ($*P<0.0005$) and had returned to control levels 24 h post-treatment. (C) TRPV1 mRNA levels in the BRCx did not show any significant change after salicylate treatment.

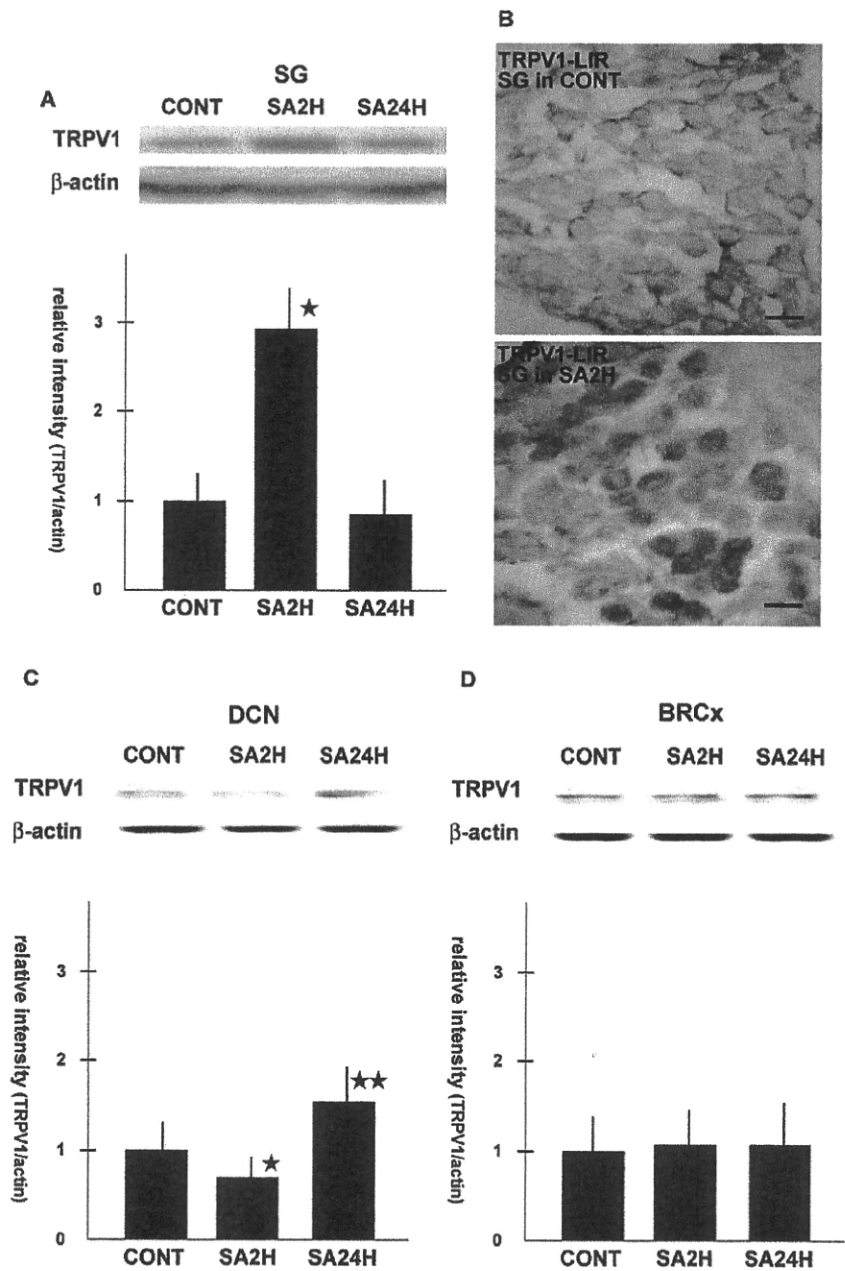


Fig. 5. Western blot analysis (A, C, D) and immunohistochemistry (B) of salicylate-induced changes in TRPV1 protein levels in the rat SG, DCN and BRCx. (A) TRPV1 protein levels in SG were significantly increased 2 h after salicylate treatment (SA2H) (* $P<0.05$) and had returned to control levels (CONT) 24 h after salicylate treatment (SA24H). (B) TRPV1-like immunoreactivity (LIR) in the salicylate-treated group (SA2H) was clearly enhanced in almost all SG cells compared with that in the saline-control group (CONT). (C) In spite of a slight reduction 2 h after salicylate treatment (SA2H) (* $P<0.05$), TRPV1 protein levels in the DCN were significantly increased 24 h after salicylate treatment (SA24H) (** $P<0.05$). (D) TRPV1 protein levels in the BRCx did not show any significant change after salicylate treatment.

Effect of TRPV1 antagonist

Behavioral assessment showed that false positive responses were increased 2 h post-treatment in group II (salicylate+DMSO) (3.7 ± 1.2 responses) compared with control group I and that this increase was significantly suppressed in group III (salicylate+capsazepine) (0.8 ± 0.5 responses, * $P=0.015$) (Fig. 6A). Examination

of TRPV1 mRNA levels in the SG showed that mRNA was upregulated 2 h post-treatment in group II (salicylate+DMSO) (3.38 ± 1.13 fold) compared with the control group I and that this upregulation was significantly suppressed in group III (salicylate+capsazepine) (0.85 ± 0.07 fold, * $P=0.020$) (Fig. 6B). Capsazepine suppressed the salicylate-induced molecular changes in the SG in a dose dependent manner (Fig. 6C).

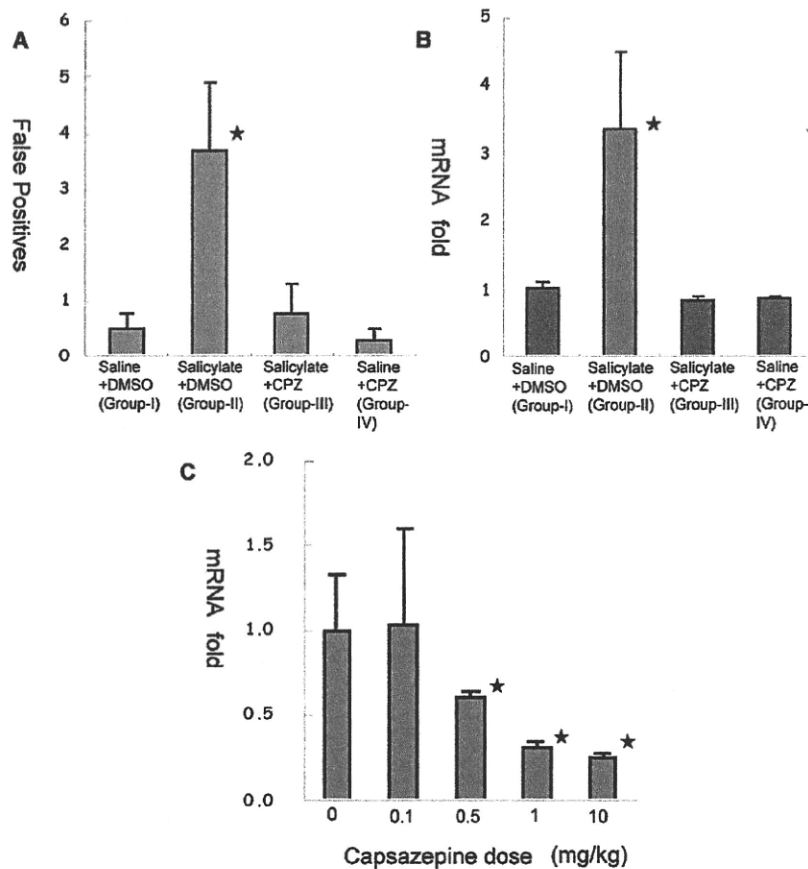


Fig. 6. Capsazepine (CPZ) blocked both the salicylate-induced increase of false positives and upregulation of TRPV1 mRNA in the rat SG. Dimethyl sulfoxide (DMSO) or CPZ (10 mg/kg i.p.) was administered 0.5 h after the first injection of saline or salicylate. (A) False positives were increased 2 h post-treatment in group II (salicylate+DMSO) and this increase was significantly suppressed in group III (salicylate+CPZ) (* $P < 0.05$). (B) TRPV1 mRNA was upregulated in the SG 2 h post-treatment in group II (salicylate+DMSO) and this upregulation was significantly suppressed in group III (salicylate+CPZ) (* $P < 0.05$). (C) CPZ (0–10 mg/kg) suppressed the salicylate-induced upregulation of TRPV1 mRNA in the SG in a dose dependent manner (* $P < 0.05$).

DISCUSSION

One of the reasons why it is still so hard for clinicians to cure intractable tinnitus is that appropriate animal models of tinnitus have not yet been established. To overcome this deficiency, we present here an animal behavioral model of tinnitus. Validating a behavioral procedure in animals to assess the presence of tinnitus is an unusual and difficult task to which many research groups have devoted many years. Among these groups, Jastreboff and Sasaki (1994) proposed an animal model based on an active avoidance paradigm; animals were conditioned by electrical footshock to drink water when hearing a sound. Recently, Guitton et al. (2003) demonstrated an animal model involving escape to a climbing pole to avoid electrical footshock when hearing a sound. In the present study, we further developed Guitton's model with modifications of a much easier active avoidance task of escaping to the next room instead. Adult or even aged animals were able to quickly step over the wall to move to the other side of the box. The conditioning box should also be set in a soundproof room, be-

cause it was important for animals to clearly hear both the conditioned sound and salicylate-induced phantom sound.

Previous studies in tinnitus kHz have revealed that salicylate induces an acute, relatively high frequency and transient type of tinnitus. It ranges from 10 to 16 kHz (Bauer et al., 1999; Guitton et al., 2003; Zheng et al., 2006; Yang et al., 2007). In the present study, false positive responses increased significantly when the conditioned stimulus was 16 kHz compared with 4, 10 and 40 kHz. Previous studies in tinnitus dB SPL have also shown that salicylate caused tinnitus of around 60 dB SPL (Bauer et al., 1999; Guitton et al., 2003; Rüttiger et al., 2003; Zheng et al., 2006; Yang et al., 2007). In the present study, false positive responses also increased significantly when the conditioned stimulus was 60 dB SPL compared with 20 dB SPL and 80 dB SPL. Judging from these pilot experiments, together with previous papers, 16 kHz and 60 dB SPL pure tone sound was the most similar to the sound of 400 mg/kg salicylate-induced tinnitus in the present Wistar rat study.

Another reason why it is still so hard for clinicians to cure intractable tinnitus is that the molecular mechanism of tinnitus generation in the auditory pathway has not yet been clarified. We therefore aimed to establish such a molecular marker. The history of TRP channels in hearing and balance is characterized at great length by the hunt for the elusive transduction channel of sensory hair cells. Such pursuit has not resulted in unequivocal identification of the transduction channel, but nevertheless revealed a number of candidates, such as TRPV4, TRPN1, TRPA1, and TRPML3. Based on mutations in the corresponding mouse genes, TRPV4 (Tabuchi et al., 2005; Cuajungco et al., 2007) and TRPML3 (van Aken et al., 2008) are possible candidates for human hearing, and potentially also balance disorders. In the present study, we focused especially on TRPV1, a member of the non-specific cation ion channel receptor family, which responds to various kinds of noxious pain, such as capsaicin, inflammation, heat, low pH and hypo-osmolarity (Caterina et al., 1997; Benham et al., 2003), because it is expressed in the mouse inner ear ganglia and is upregulated by noxious challenges of kanamycin (Kitahara et al., 2005a). Interestingly, tinnitus is the sensation of a sound in the ear without an external source, similar to phantom pain (Bartels et al., 2007).

In the present study, TRPV1 mRNA levels in the SG were significantly upregulated 2 h post-treatment, significantly downregulated 12–24 h post-treatment and had returned to control levels by 72 h post-treatment. The reasons of discrepancy in these molecular results of mRNA and protein level could be explained by the time lag between mRNA and protein synthesis and/or different sensitivity in mRNA and protein experiments. According to the animal behavioral model of tinnitus, salicylate-induced tinnitus was maximal 2 h post-injection and had disappeared by 24 h post-injection. Furthermore, capsazepine, a TRPV1 antagonist, demonstrated a significant suppression of false positive response increase and of TRPV1 mRNA upregulation in the SG. Taken together, these data suggest that tinnitus in salicylate-treated animals could be caused through the activation of the nociceptive receptor, TRPV1 in the SG. Therefore, we hypothesize that tinnitus is a type of phantom pain sensation in the inner ear (Bartels et al., 2007). The mechanism of TRPV1 regulation in the SG has not been clarified yet. However, TRPV1 is auto-regulated via neurotrophic factors in damaged dorsal root ganglia (Acheson et al., 1995; Anand et al., 2006; Szallasi et al., 2006). In the present study, the blockade of salicylate-induced TRPV1 upregulation in the SG by capsazepine suggests that TRPV1 was also auto-regulated via neurotrophic factors in the salicylate-treated SG (Hansen et al., 2001; Zha et al., 2001; Shepherd et al., 2005; Kitahara et al., 2006). Known TRPV1 antagonists (capsazepine, BCTC and thio-BCTC) were also able to block the response of TRPM8 (Behrendt et al., 2004), which shares many functional and pharmacological properties with TRPV1 (Weil et al., 2005). Although TRPM8 has never been reported to be located in the inner ear, the possible role of TRPM8 in hearing and/or tinnitus should be discussed after further studies of TRPM8 in the inner ear.

The following mechanisms of salicylate-induced TRPV1 activation and tinnitus generation are suggested: TRPV1 and 5-lipoxygenase are co-expressed by SG cells in the inner ear (Balaban et al., 2003). Salicylate, an active component of aspirin, inhibits cyclo-oxygenase activity (Christie et al., 1998) and this cyclo-oxygenase inhibition leads to an excess of intracellular arachidonic acid, which is metabolized by 5-lipoxygenase pathways (Fosslien, 1998). These findings suggest that the resultant increase in arachidonic acid products, such as hydroperoxyeicosatetraenoic acid and hydroxyeicosatetraenoic acid, has the potential to depolarize SG cells by activation of TRPV1 (Hwang et al., 2000). This may either lower their threshold for spike generation or increase their sensitivity to suprathreshold activation and mimic the discharge pattern during low level natural stimulation. Actually, a couple of physiological studies of TRPV1 in the cochlea were reported. Zheng et al. revealed that activation of TRPV1 increases the threshold of the cochlear action potential, but decreases both cochlear microphonic and electrically-evoked otoacoustic emissions (Zheng et al., 2003). Zhou et al. demonstrated that perfusion with capsaicin alone produced a dose-dependent increase of the 900 Hz peak ratio (power normalized re the overall spectrum) of the ensemble background activity (Zhou et al., 2006). The capsaicin effect was attenuated during concurrent perfusion with capsazepine. These findings are consistent with the hypothesis that TRPV1 activation increases background activity of SG cells and support a role of TRPV1 in gating spontaneous and evoked auditory nerve excitability.

In contrast, the peak TRPV1 protein levels in the DCN were delayed relative to the peak levels in SG cells. This delay might indicate the mechanism for the alteration from peripheral tinnitus to central tinnitus and/or the mechanism of chronic tinnitus. There is an interesting case of a patient with intractable chronic tinnitus, who underwent temporal bone removal surgery, however, this treatment failed to cure the tinnitus (House, 1964). It is extremely difficult to identify the site of chronic tinnitus, because it may alternate between the periphery and the CNS, like phantom pain sensation. Further studies addressing the mechanisms of central tinnitus and/or chronic tinnitus are needed.

According to the morphological data, salicylate treatment caused no obvious morphological damage to cochlear hair cells or SG cells. Furthermore, from the behavioral study, the active avoidance score remained stable during the whole period of salicylate injections. Together with the ABR data, this suggests that salicylate application caused no obvious functional damage to the auditory system. However, Guitton et al. (2005) reported that administering salicylate led to transient hearing loss by means of compound action potential (CAP) threshold shifts, directional preponderance of otoacoustic emission (DPOAE) recordings and score measurements. This hearing loss was evaluated around 40 dB SPL at 16 kHz (Cazals, 2000; Guitton et al., 2005) and might not be comparable to the results in the present study, which used 60 dB SPL and 16 kHz sound stimuli.

CONCLUSION

In conclusion, we developed a rat behavioral model of salicylate-induced tinnitus and identified a molecular marker of salicylate-induced tinnitus in the rat auditory pathway. These findings could make "phantom tinnitus" clearly observable and easily accessible. We believe that these findings are important for understanding the mechanism of tinnitus generation and for elucidating de novo treatments for intractable tinnitus.

Acknowledgments—The authors wish to thank Professor Carey Balaban (Departments of Otolaryngology & Neurobiology, University of Pittsburgh, School of Medicine) and Associate Professor Hiroshi Hibino (Department of Pharmacology, Osaka University, School of Medicine) for helpful advice concerning experiments. We also thank Dr. Yasusuke Yamagiwa (a registered statistician, certificate number: 0540072) for helpful advice on statistical analysis. This study was supported, in part, by a Health Science Research grant for Specific Disease from the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan (2007–2009).

REFERENCES

- Acheson A, Conover JC, Fandl JP, DeChiara TM, Russell M, Thadani A, Squinto SP, Yancopoulos GD, Lindsay RM (1995) A BDNF autocrine loop in adult sensory neurons prevents cell death. *Nature* 374:450–453.
- Anand U, Otto RW, Casula MA, Day NC, Davis JB, Bountra C, Birch R, Anand P (2006) The effect of neurotrophic factors on morphology, TRPV1 expression and capsaicin responses of cultured human DRG sensory neurons. *Neurosci Lett* 399:51–56.
- Balaban CD, Zhou J, Li HS (2003) Type 1 vanilloid receptor expression by mammalian inner ear ganglion cells. *Hear Res* 175:165–170.
- Bartels H, Staal MJ, Albers FWJ (2007) Tinnitus and neural plasticity of the brain. *Otol Neurotol* 28:178–184.
- Bauer CA, Brozoski TJ, Rojas R, Boley J, Wyder M (1999) Behavioral model of chronic tinnitus in rats. *Otolaryngol Head Neck Surg* 121:457–462.
- Behrendt HJ, Germann T, Gillen C, Hatt H, Jostock R (2004) Characterization of the mouse cold-menthol receptor TRPM8 and vanilloid receptor type-1 VR1 using a fluorometric imaging plate reader (FLIPR) assay. *Br J Pharmacol* 141:737–745.
- Benham CD, Gunthorpe MJ, Davis JB (2003) TRPV channels as temperature sensors. *Cell Calcium* 33:479–487.
- Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD (1997) The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 389:816–824.
- Cazals Y (2000) Auditory sensori-neural alterations induced by salicylate. *Prog Neurobiol* 62:583–631.
- Christie MJ, Vaughan CW, Ingram SL (1998) Opioids, NSAIDs and 5-lipoxygenase inhibitors act synergistically in brain via arachidonic acid metabolism. *Inflamm Res* 48:1–4.
- Cuajungco MP, Grimm C, Heller S (2007) TRP channels as candidates for hearing and balance abnormalities in vertebrates. *Biochim Biophys Acta* 1772(8):1022–1027.
- De Schepper HU, De Man JG, Ruysers NE, Deiteren A, Van Nassauw L, Timmermans JP, Martinet W, Herman AG, Pelckmans PA, De Winter BY (2008) TRPV1 receptor signaling mediates afferent nerve sensitization during colitis-induced motility disorders in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 294:245–253.
- Eggermont JJ, Roberts LE (2004) The neuroscience of tinnitus. *Trends Neurosci* 27:676–682.
- Fosslien E (1998) Adverse effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the gastrointestinal system. *Ann Clin Lab Sci* 28:67–81.
- Guillon MJ, Caston J, Ruel J, Johnson RM, Pujol R, Puel JL (2003) Salicylate induces tinnitus through activation of cochlear NMDA receptors. *J Neurosci* 23:3944–3952.
- Guillon MJ, Pujol R, Puel JL (2005) m-Chlorophenylpiperazine exacerbates perception of salicylate-induced tinnitus in rats. *Eur J Neurosci* 22:2675–2678.
- Hansen MR, Zha XM, Bok J, Green SH (2001) Multiple distinct signal pathways, including an autocrine neurotrophic mechanism, contribute to the survival-promoting effect of depolarization on spiral ganglion neurons in vitro. *J Neurosci* 21:2256–2267.
- Heller AJ (2003) Classification and epidemiology of tinnitus. *Otolaryngol Clin North Am* 36:239–248.
- House WF (1964) Transtemporal bone microsurgical removal of acoustic neuromas: report of cases. *Arch Otolaryngol* 80:617–667.
- Hwang SW, Cho H, Kwak J, Lee SY, Kang CJ (2000) Direct activation of capsaicin receptors by products of lipoxygenases: endogenous capsaicin-like substances. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:6155–6160.
- Im GJ, Jung HH, Chae SW, Cho WS, Kim SJ (2007) Differential gene expression profiles in salicylate ototoxicity of the mouse. *Acta Otolaryngol* 127:459–469.
- Jastreboff PJ, Sasaki CT (1986) Salicylate-induced changes in spontaneous activity of single units in the inferior colliculus of the guinea pig. *J Acoust Soc Am* 80:1384–1391.
- Jastreboff PJ, Sasaki CT (1994) An animal model of tinnitus: a decade of development. *Am J Otol* 15:19–27.
- Kitahara T, Li HS, Balaban CD (2005a) Changes in transient receptor potential cation channel superfamily V (TRPV) mRNA expression in the mouse inner ear ganglia after kanamycin challenge. *Hear Res* 201:132–144.
- Kitahara T, Li HS, Balaban CD (2005b) Regulation of mitochondrial uncoupling proteins in mouse inner ear ganglion cells in response to systemic kanamycin challenge. *Neuroscience* 135:639–653.
- Kitahara T, Kizawa K, Horii A, Kubo T, Balaban CD (2006) Changes in TRPV1 expression in the rat auditory pathway after salicylate challenge. In: Abstracts of the 36th Annual Meeting Society for Neuroscience. Program#/Poster# 45.12/E38.
- Paxinos G, Watson C (1986) The rat brain in stereotaxic coordinates. New York: Academic Press.
- Rüttiger L, Ciuffani J, Zenner HP, Knipper M (2003) A behavioral paradigm to judge acute sodium salicylate-induced sound experience in rats: a new approach for an animal model on tinnitus. *Hear Res* 180:39–50.
- Schmittgen TD, Zakrajsek BA, Mills AG, Gorn V, Singer MJ, Reed MW (2000) Quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction to study mRNA decay: comparison of endpoint and real-time methods. *Anal Biochem* 285:194–204.
- Shepherd RK, Coco A, Epp SB, Crook JM (2005) Chronic depolarization enhances the trophic effects of brain-derived neurotrophic factor in rescuing auditory neurons following a sensorineural hearing loss. *J Comp Neurol* 486:145–158.
- Szallasi A, Cruz F, Geppetti P (2006) TRPV1: a therapeutic target for novel analgesic drugs? *Trends Mol Med* 12:545–554.
- Tabuchi K, Suzuki M, Mizuno A, Hara A (2005) Hearing impairment in TRPV4 knockout mice. *Neurosci Lett* 382:304–308.
- van Aken AFJ, Atiba-Davis M, Marcotti W, Goodyear RJ, Bryant JE, Richardson GP, Noben-Trauth K, Kros CJ (2008) TRPML3 mutations cause impaired mechano-electrical transduction and depolarization by an inward-rectifier cation current in auditory hair cells of varitint-waddler mice. *J Physiol* 586:5403–5418.
- Weil A, Moore SE, Waite NJ, Randall A, Gunthorpe MJ (2005) Conservation of functional and pharmacological properties in the distantly related temperature sensors TRPV1 and TRPM8. *Mol Pharmacol* 68:518–527.

- Yang G, Lobarians E, Zhang L, Turner J, Stolzberg D, Salvi R, Sun W (2007) Salicylate induced tinnitus: behavioral measures and neural activity in auditory cortex of awake rats. *Hear Res* 226:244–253.
- Zha XM, Bisop JF, Hansen MR, Victoria L, Abbas PJ, Mouradian MM, Green SH (2001) BDNF synthesis in spiral ganglion neurons is constitutive and CREB-dependent. *Hear Res* 156:53–68.
- Zheng J, Dai C, Steyger PS, Kim Y, Vass Z, Ren T, Nuttall AL (2003) Vanilloid receptors in hearing: altered cochlear sensitivity by vanilloids and expression of TRPV1 in the organ of corti. *J Neurophysiol* 90(1):444–455.
- Zheng Y, Lee HS, Smith PF, Darlington CL (2006) Neuronal nitric oxide synthase expression in the cochlear nucleus in a salicylate model of tinnitus. *Brain Res* 1123:201–206.
- Zhou J, Balaban CD, Durrant JD (2006) Effect of intracochlear perfusion of vanilloids on cochlear neural activity in the guinea pig. *Hear Res* 218:43–49.

(Accepted 19 November 2009)
(Available online 1 December 2009)

綜 説

小児人工内耳医療の将来展望

土 井 勝 美
ど い かつ み

キーワード：小児人工内耳，両側人工内耳，ハイブリッド人工内耳

I. 小児人工内耳医療の現状

1) 人工内耳手術数の推移

厚労省の調査（2001年度）によると，日本国内における聴覚・言語障害者数は，成人で346,000人，小児（18歳未満）で15,200人であったとされる。その内，成人では両側90dB以上の高度難聴を有する身体障害3級相当以上のものが159,000人（46%），小児でも両側100dB以上の高度難聴を有する身体障害2級相当以上のものが7,200人（47.4%）を占めていた。内耳や聴神経の病変を原因とする高度感音難聴に対して従来有効な治療法はなく，補聴器装用のみでは十分な補聴効果は得られなかった。1980年代から開発された人工内耳手術（Cochlear Implantation；CI）の導入は，それまでの高度感音難聴に対する治療の概念を根本的に変えるまさに革命的な医療の幕開けとなった。

日本国内で人工内耳手術が初めて保険適応となったのは1994年，小児例に対する人工内耳手術が保険適応となったのが1997年であり，成人例，小児例ともにその後も手術数は順調に増加し，最近では年間約500例の人工内耳手術が施行されている（図1）。

2) 小児人工内耳手術の比率と低年齢化

世界的には人工内耳手術の半数以上（52%，2007年8月）は小児例であり，こうした小児人工内耳医療の発展により，先天性聾（両側高度感音難聴）の症例ではできるだけ早期に人工内耳手術を行い，臨界期（聴覚野の場合，5～6歳とされる）を迎える前に聴覚中枢路に電気信号を入れることが，言語聴取能や発語能力の発達のみならず，情緒，知能および社会適応能力の獲得に不可欠であることが確認さ

近畿大学医学部耳鼻咽喉科

れてきた。実際に，小児人工内耳症例の聴覚皮質誘発電位（CAEP；Cortical Auditory Evoked Response）による解析から，手術後の聴能訓練の進行に伴い，CAEPにおけるP1潜時が徐々に短縮し，特に，手術時年齢が3歳6ヵ月未満の小児例では，手術後わずか3～6ヵ月でP1潜時が正常聴力児と同等の範囲に回復することが示され，聴覚野を含む中枢神経回路網に急速な変化が生じることを示唆している¹⁾。

日本における小児人工内耳手術の比率は，人工内耳先進国に徐々に近づいてきており，2007年8月時点で37%まで上昇した。また，小児科医，産婦人科医と耳鼻咽喉科医との連携により「新生児聴覚スクリーニング」のシステムが稼働するようになり，国内の新生児120万人のうちの0.1～0.2%（約2,000人）とされる先天性聾症例を出生時に選別し，6ヵ月間以上の補聴器装用効果の有無を確認した上で，必要な症例に対して早期に人工内耳医療を提供することが可能となってきた。これに関連して，日本耳鼻咽喉科学会が定める「人工内耳適応基準」の

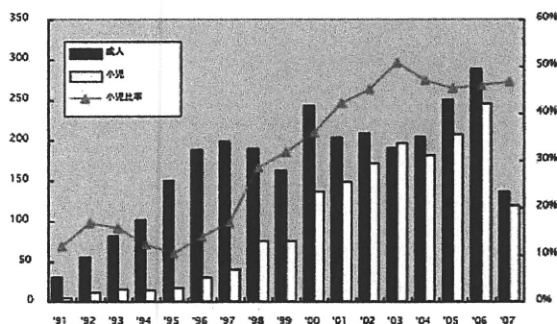


図1 国内の人工内耳手術数の推移

成人例・小児例ともに手術数は増加し，年間の小児例手術の割合も50%に近づいている。

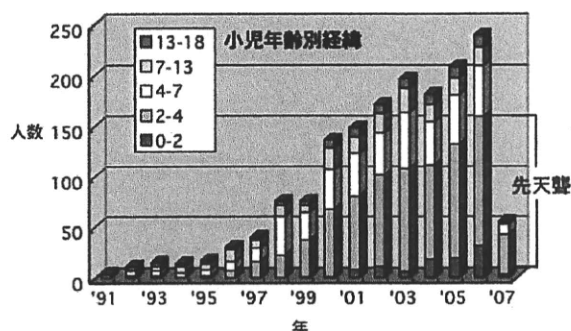


図2 国内の小児人工内耳手術症例の年齢構成
手術時年齢は低下傾向にあり、0～2歳、2～4歳の症
例群が徐々に増加してきている。

2006年1月改定では、小児人工内耳手術の適応年齢が「2歳」から「1歳6ヵ月」に引き下げられ、聴力レベルも従来の「両側100dB以上」から「両側90dB以上」に修正された。実際に、4歳未満の人工内耳手術の比率は年々上昇し（図2）、逆に、手術時平均年齢は2007年4月時点で3.7歳まで低下した。両側高度感音難聴で、補聴器装用で言語発達が十分でない症例に対しては、より積極的に人工内耳医療を導入していくという方向性である。

Ⅱ. 小児人工内耳医療の将来展望

1) 小児人工内耳医療のEBM

大阪大学（久保 武教授）では1991年に人工内耳手術が開始され、2010年3月末（著者が近畿大学へ異動）までに483例の人工内耳手術が施行された。2005年から2010年までの人工内耳手術数（大阪大学・近畿大学）の推移を見ると、年間の手術総数は30例前後とほぼ一定であるが、小児例と成人例の比率が2008年以降は逆転し、小児例がそれぞれ63%、57%、53%と成人例を上回るようになってきた（図3）。新生児聴覚スクリーニング検査の浸透により、高度難聴児の早期受診・早期診断のシステムが確立されたこと、また、人工内耳医療に関する社会的な啓蒙が推進され、小児例に対する同医療の有効性が広く認知されたことが大きな要因である。2009年度の国内における小児人工内耳手術の比率は約55%、3歳以下の人工内耳手術の比率も約30%まで上昇している（コクレア社）。一方で、国内の小児人工内耳の適応基準における手術年齢が1歳6ヵ月以上と規定されている影響もあり、3歳以下の新規人工内耳手術のうち1歳6ヵ月未満の手術

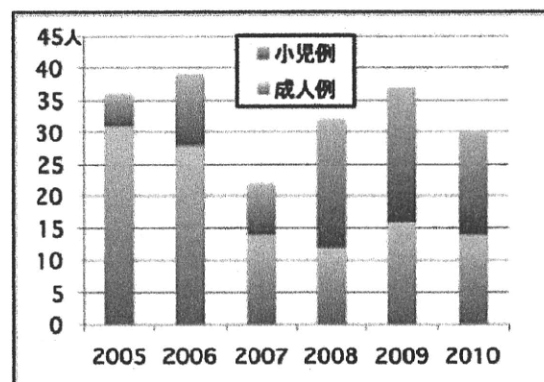


図3 大阪大学・近畿大学における人工内耳手術数
手術数は年間30例前後と安定しているが、2008年以
降は小児例が成人例を上回っている。

数の比率は、髄膜炎後の失聴などの医学的理由による症例を含めても10%台に留まっており、欧米での1歳6ヵ月までの手術数の同比率が50～60%台である事実を考慮すると、将来的な適応基準の改定を目指した小児人工内耳医療のEBMの確立が求められる。

小児人工内耳医療のEBMの確立を目指した取り組みは国内でもいくつか進行中であるが、厚労省科学研究感覚器障害研究事業「人工内耳を装用した先天性高度感音難聴小児例の聴覚・言語能力の発達に関するエビデンスの確立（2008～2010年度）」（研究代表者：東京大学 山嵜達也教授）に著者も参加させていただき、手術時年齢や内耳奇形の有無が人工内耳手術の成績に影響を与える因子となる可能性や、術後の聴能訓練における口話の重要性を報告した²⁾。術後の訓練方法については、音楽訓練による言語聴取や周波数弁別能の著明な改善が報告されており^{3,4)}、国内でも同様の評価を行う必要がある。欧米では、すでに複数の人工内耳センターによる共同研究が進められ、また、小児人工内耳に関する論文のsystematic reviewも盛んに行われている。この背景には、医療保険の適応審査や診療報酬支払いの判断のための基礎データを集積するという意味もあるが、より良い人工内耳医療の確立、高度難聴児のQOL向上にける医師・研究者の熱意が原動力となっている。

2) 人工内耳再埋め込み手術

人工内耳は現時点で最も成功した人工臓器の一つといっても過言ではなく、高度難聴症例のQOL向上のための究極の治療として、国内での手術数は年

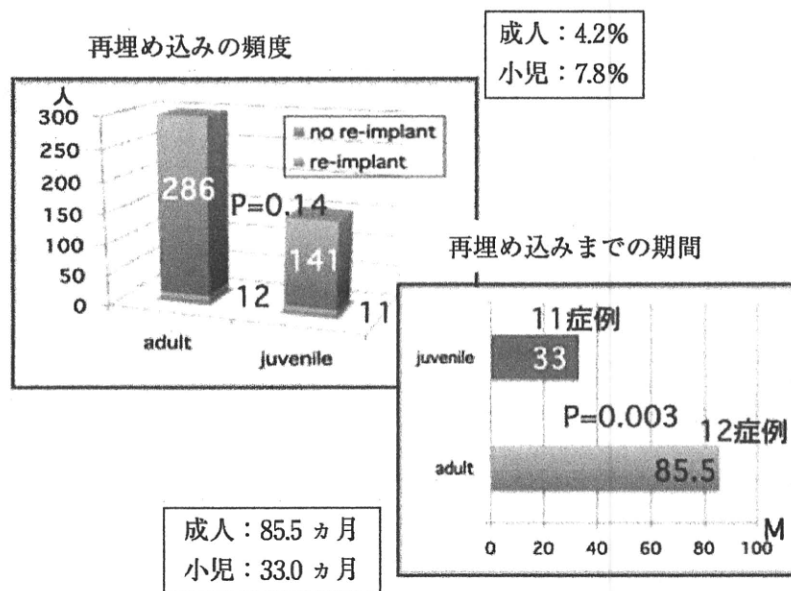


図4 人工内耳の再埋め込み手術

小児例では、再埋め込みの頻度が高く、再埋め込みまでの期間も短い。

間500例を越えるまでに発展した。インプラントの埋め込みは通常1回のみで、特別な問題が生じなければ、スピーチプロセッサやコード化法の進化に応じて、インプラントとプロセッサ間の機能的結合の調整を行いながら、大部分の症例は聴能訓練を継続していくことになる。しかしながら、医学的な理由やインプラントの機能的な問題等により、人工内耳の再埋め込み手術に至る症例も存在する⁵⁻⁷⁾。

大阪大学において1991～2009年に人工内耳手術を施行された成人298症例、小児152症例(合計450症例)の内、医学的な理由や体内装置の機能的な問題等により、人工内耳電極を摘出した後に同側の蝸牛内に新たな電極を再埋め込みする、あるいは、対側の蝸牛に新たな電極を埋め込みすることになった症例は、成人12症例(4.2%)、小児11症例(7.8%)であった。初回手術から再埋め込み手術までの期間(中央値)は、成人例では85.5ヵ月、小児例では33ヵ月と、小児例ではより短期間で再埋め込み術に至る傾向が見られた(図4)。再埋め込みを行った理由としては、「突然に人工内耳を装用しても音が聞こえなくなった」といういわゆる「device failure」が全体の74%と最も多かった。特に、小児例では91%(10/11症例)がdevice failureが再埋め込みの理由であり⁸⁾、小児例ではインプラントの保護に関してさらに十分な生活指導・教育が必要であると考えられた。それ以外の理由として、創部(耳後

部)・外耳道・中耳内の感染、体内装置の移動や電極の自然抜去、顔面痙攣等による再埋め込み症例が見られた。これらの結果は、欧米からの再埋め込み手術に関する報告とほぼ同様の内容であった⁵⁻⁷⁾。

人工内耳電極を摘出した後、同側の蝸牛内に新たな電極を再埋め込みした症例では、電極の再挿入には特別な困難はなく、ほとんどの症例で容易に全電極の挿入が可能であった。また、再埋め込み前後での聴取能の評価では、再手術前の安定していた時点での聴取能と比較して、再手術後にはさらに優れた聴取能を示す症例が多数を占め、再埋め込み手術の安全性・有効性を強く示唆することになった。インプラント・プロセッサとともに最新の人工内耳システムへ置換されることも要因の一つと考えられた。2歳前後での人工内耳手術が定着した今日、人工内耳システムの進化に応じて、小児例では一生の間に少なくとも数回の再埋め込み手術を受けることが予測される。

3) 小児人工内耳手術とインテグレート率

欧米では、人工内耳手術後10年以上が経過した小児例の長期成績が報告されるようになり、普通小学校に入学し、正常聴力児と同様に、普通中学校から高校へと進級していく割合(インテグレート率)は70～80%前後と高率で、大学へ進学する症例が数10%、通常の職種に就職する症例も数%存在するという。これらの症例の70～80%は口話による

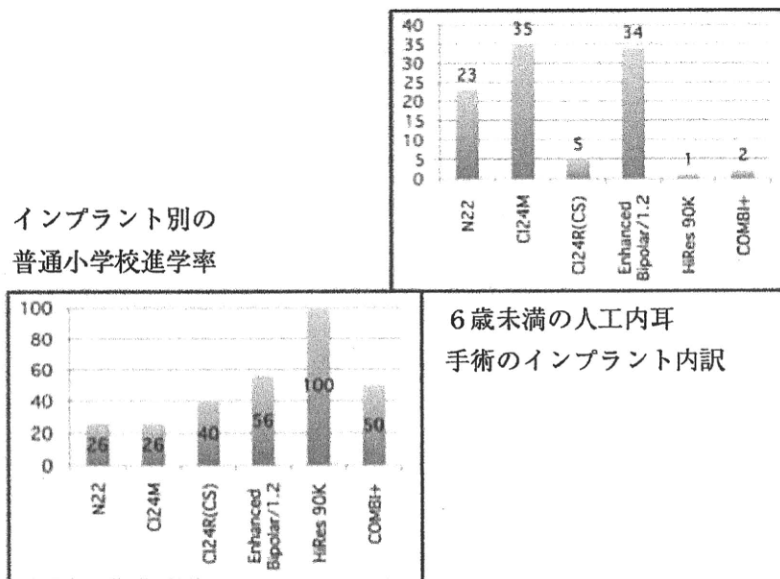


図5 小児人工内耳手術症例のインテグレート率

6歳未満に人工内耳手術を施行された症例のインプラント別のインテグレート率は、新型インプラントでより高い傾向にある。

会話を主体とし、40～70%は平均的なレベルの会話能力を有し、電話での会話も60～70%の症例で可能である^{9,10)}。術後の成績を規定する最も重要な因子が手術時の年齢であることは従来からの報告通りであるが、予想に反して、聴能訓練による術後の聴取能の改善能力は長期間にわたって維持され、手術直後、術後1年目、術後5年目と比較すると、聴性反応や会話能力に経年的な改善が確認された。

大阪大学において6歳未満で人工内耳手術を施行され、就学年齢まで経過観察が可能であった98症例を見てみると、普通小学校に入学したものは38例、インテグレート率は38%であり、欧米のデータと比較すると低値に留まっている(図5)。ただし、これらの症例の大部分は、1990年代後半から2000年代前半にかけてNucleus 22やClarionS等の比較的旧型のインプラントを埋め込まれた症例であり、手術時年齢も現在と比較するとかなり高い。2歳前後に新型インプランによる人工内耳手術を受けた症例が就学期を迎える時点での評価は、より欧米のデータに近づくものと期待される。

4) 12ヵ月未満の先天聾に対する人工内耳手術

欧米では、もともと小児人工内耳手術の適応となる手術時年齢が、国内よりも低年齢(ドイツ6ヵ月;米国1歳)に設定されていることもあり、最近では12ヵ月未満の人工内耳手術が盛んに行われて

いる。世界的に見ると、3歳以下の新規人工内耳手術症例の内、6ヵ月未満の症例は数%、12ヵ月未満の症例は約10%を占めている(コクレア社)。12ヵ月未満の手術症例の成績が報告され、それらの論文のsystematic reviewも出ている¹¹⁻¹³⁾。報告によると、12ヵ月未満の人工内耳手術の成績は極めて良好とされ、術後のIT-MAIS等による聴性行動・発達検査、MUSS等による言語表出や発声の評価において、正常聴力児の成績に相当する伸びを見せている。ただし、残念ながら、低年齢の人工内耳症例の言語能力を客観的に評価できる信頼性の高い検査が少ないことから、エビデンス的に質の高い報告はごく少数で、全体的に術後の観察期間も短い。手術時年齢と術後成績との相関にはこれまでも十分な証拠が得られているものの、12ヵ月未満の人工内耳に対する最終的な評価を下すには今しばらく時間を要する。

一方で、循環血液量が少なく交感神経系の発達が不十分とされる12ヵ月未満の人工内耳手術では、少量の出血による急激な血圧低下、術中の低体温、薄い頭蓋骨の削開による硬膜損傷、狭小な中耳腔削開時の顔面神経損傷、骨髄からの持続的な出血等の危険性が常に潜んでおり、小児麻酔を専門とする麻酔科医師の下で、人工内耳手術に十分な経験を有する習熟した医師が、周到に準備を行った上で施行す

べき手術である^{14,15)}。倫理面にも配慮した適切な医学的判断を経ずに、現時点での国内の手術適応基準を安易に放棄して、低年齢での人工内耳手術を強行することは、皮弁感染、血腫形成、髄膜炎等の合併症の発症にもつながり、最終的には小児人工内耳医療の発展を遅らせることにつながることを肝に命じておく必要がある。

5) 両側人工内耳手術

正常聴力者における両耳聴効果は、雑音下での会話を容易にし、同時に、音の局在の同定（方向感覚）に重要な役割を果たしていることが知られている。両耳聴効果の発現には、物理的な Head Shadow 効果のみならず、脳幹以降の聴覚中枢における音声情報の加重・余剰・抑制等の処理が複雑に関与しており、SN 比は約 10dB 改善するという。欧米では、この両耳聴効果の発現を期待して、両側人工内耳手術の導入がかなり以前から始まり、コクレア社の調査では、成人・小児を合わせて、世界的に 12,500 人くらいの両側人工内耳装用者がおり、その内の 8,000 人以上は小児例である。全体としては、成人例の約 7%、小児例の約 13% を両側人工内耳手術が占めるが、最もその比率が高いのはドイツで、成人例の約 15%、小児例の約 40% が両側手術例となっている。一方で、国内の両側手術症例は極めてまれで、成人例、小児例ともに 2% 弱に留まっている。2008 年 1 月時点での欧米の調査によると、世界の両側人工内耳症例約 8,000 人のうち、成人例が 38%、小児例が 62% を占めており、最近ではさらに小児例の比率が上昇し、両側人工内耳手術の 70~80% が小児例である^{16~18)}。

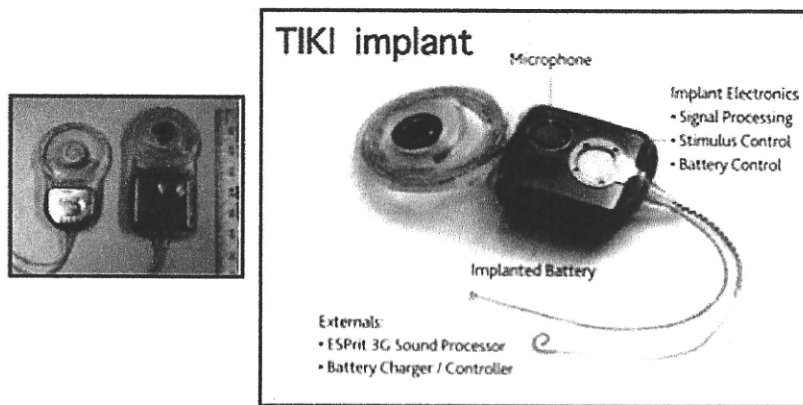
成人例（後天聾）では、すでに両側内耳から中枢への神経回路網は確立されているため、同時手術であれ連続手術であれ、どの年齢で両側手術を受けても一定の両耳聴効果の発現が期待できる。一方、小児の一侧人工内耳症例では、手術側の内耳からの神経回路は形成されるが、両耳聴効果の発現に必須とされる脳幹以降の聴覚路の形成が不十分なまま固定してしまう可能性があり、同時手術であれ連続手術であれ、年齢的には 4 歳までに両側人工内耳手術を完了する必要がある^{17,18)}。実際には、脳幹の可塑性は 2 歳前後で消失するとされるため、欧米では 3 歳までに両側人工内耳を施行される症例数が約 50% まで増加し、両側同時手術もしくは数ヵ月以内での連続手術が推奨されている。成人例・小児例とも

に、両側人工内耳手術の症例では、雑音下での言語聴取能に優れた成績が得られ、また方向感覚も一侧手術例と比較して精度が増し¹⁹⁾、QOL も大きく改善する。早期に両側人工内耳を施行された症例では、その 80% が普通小学校に進級し、全員が口話による会話を行い、90% が電話の使用が可能となる¹⁶⁾。

一方で、両側人工内耳手術の問題点としては、複数回の手術（連続手術の場合）もしくは長時間の手術（同時手術の場合）が必要となること、将来的な新型インプラント挿入のために内耳を保存できないこと、医療保険の審査や診療報酬の支払い等の経済的・心理的圧力を受けること、そして両側前庭機能の低下により術後の平衡障害が発生する可能性があること等が挙げられる^{17,20)}。人工内耳手術に習熟した医師により、蝸牛および前庭の機能を保存しながら、医学的な観点から適正に症例を選択した上で、両側人工内耳手術の導入が国内でも慎重に進められるべき時期を迎えている。

6) ハイブリッド人工内耳

人工内耳手術が開発・導入された当初、低音域～高音域の全周波数にわたる両側の高度感音難聴が手術適応とされ、残存する聴神経を電気刺激することで言語聴取が可能となった（Electric Stimulation ; ES）。2005 年以降、欧米では低音域～中音域に残聴を有する症例に対する人工内耳手術の治験が開始され、高音域は人工内耳で、中低音域は補聴器による増幅で言語聴取を行うため、ハイブリッド人工内耳（HybridCI）、もしくは Combined Electro-Acoustic Stimulation（EAS）と呼ばれる^{21,22)}。ごく最近では、低音域の聴力が全く正常な部分聾（Partial Deafness ; PD）に対する人工内耳手術（PDCI もしくは Electrical Complement ; EC）へのさらなる適応の拡大が報告されている。ハイブリッド人工内耳手術では、残存する蝸牛機能を保護するため、ソフトサージュリーと称される特殊な手術手技が必要で、正円窓前下方に作成した小開窓部からの電極挿入、あるいは正円窓経路での電極挿入のいずれかが選択される。治験の成績評価では、周波数別聴力の改善、音楽や雑音下での言語聴取能の改善が報告される一方で、10~20% の症例で術直後もしくは進行性に蝸牛の機能消失が観察される。人工内耳各社は、蝸牛挿入時の電極先端の物理的抵抗を下げた新型電極を導入し、さらに、ステロイド剤や神経栄養因子（NT-



➤スピーチプロセッサとインプラントが一体化
➤入浴・シャワー・スイミング時の使用が可能

図6 全埋め込み型人工内耳 TIKI の開発

オーストラリアで開発された TIKI では、皮膚を介して音声マイクロホンで拾う。通常のインプラントと比較してより大型で、入浴中やプールでも装用が可能となる。

3) の放出機能を有する新型電極の開発を進めている²³⁾。将来的には、遺伝子医療や再生医療の新技术が人工内耳医療に適正に導入されることで、内耳保護の観点から新たな戦略が加えられることが期待される。

7) 未来型人工内耳

現在の人工内耳システムは、ソフトおよびハードその両面から、今後さらなる発展を遂げていくことは間違いない。たとえば、人工内耳で聴取する音声のコンピュータ内での処理方法については、すでにこれまでも何度か改良が施され、その都度言語聴取能は飛躍的に改善してきた。蝸牛内で聴神経により強く巻き付くタイプ(蝸牛軸近接型)の人工内耳電極の導入もなされ、コンピュータの小型化、高性能化、無ケーブル化も進められた。全埋め込み型人工内耳 TIKI の開発(図6)も実現し、人工内耳医療はより広く深く浸透し、その治療効果もより良好で確実なものになっていくことが予想される。その目標達成のためには、小児人工内耳手術後の聴取能を正確に評価し、小児例に対して最も有効な訓練方法を確立し、同時に、NIRS などによる聴覚情報の中枢処理に関連するさまざまな脳研究の成果を十分にフィードバックさせながら、小児人工内耳医療の EBM を構築することが重要となる。

III. Systematic review による小児人工内耳医療の EBM

Cochrane Library および Cochrane Database of Systematic Reviews 中に、現時点では小児人工内耳手術に関する報告は存在しない。一方、PubMed 検索等により抽出される論文を用いて、小児人工内耳手術の EBM を論じた systematic reviews はいくつか存在する。Bond らは人工内耳に関する 1,580 編の論文から、英国の NHS Center for Review and Dissemination の評価基準を満たすものとして最終的に 15 編の小児人工内耳手術に関する論文を抽出して systematic review を行った²⁴⁾。15 編中、いわゆる randomized control trial (RCT) に分類されるものはなく、10 編が pre/post-design (PP)、3 編が cross-sectional design (XS)、残り 2 編は prospective cohort study (PC) の研究であった。以下にその要旨を紹介する。

1) 人工内耳手術とトータルコミュニケーション(手話・読話)の比較

prospective な研究 6 編(すべて PP、総サンプル数 453 症例)を抽出し、純音聴力レベル、語音聴取や聴覚関連の行動発達、言語表出の各項目について、人工内耳手術群で統計学的に有意な改善、改善傾向を確認した。上記 6 編中から 2 編(総サンプル数 92 症例)で、手術時年齢と言語聴取能との相関

(低年齢での手術ほど良好な成績)も確認した。

2) 人工内耳手術と補聴器の比較

9編(PP4編, PC3編, XS2編, 総サンプル数605症例)を抽出し, 人工内耳手術群での聴力レベルの改善(PC1編), 6編中3編(PP, PC, XS各1編)において人工内耳手術群での統計学的に有意な言語聴取能の改善, 残り3編(PP1編, PC2編)において同群での言語聴取能の改善傾向を確認した。言語表出については, 上記9編中の3編(PP, PC, XS各1編, 総サンプル数102症例)いずれでも, 人工内耳手術群でより優れた言語表出を確認した。

3) 医療経済評価

小児人工内耳手術の経済効果を医療, 教育, 看護等の面から検討した5編を抽出し, 403症例の人工内耳手術患者を含む2,000例の高度難聴児について経済効果を検討したBartonらの研究により, 一側耳への人工内耳手術にcost-effectiveな経済効果を確認した。

Bondらのsystematic review中の15編の論文についても, 研究デザイン上のさまざまな問題が存在し, EBMの観点からはいずれも中等度までの質的評価に留まった。問題点としては, ①テキスト中に結果が記載されず, 図表からデータを算出する必要がある, ②対象の選択が正しく記載されてない, ③解析対象すべての評価が論文に含まれていない, ④解析内容が対象者にblindになっていない, ⑤手術時年齢, 失聴期間, 聴力レベル等で成績がどう変化するかの考察が不十分, ⑥サンプル数が少ないため統計学的な評価ができない, ⑦成績評価に際して, 聴力レベルの違い, 他の感覚障害や精神発達障害の影響をうまく分離できない, ⑧QOL, 教育, および有害事象についての評価が不十分等の点が指摘されている。15編それぞれに異なる程度に弱点が存在するものの, このsystematic review(総サンプル数1,058症例)は, 現時点での小児人工内耳手術のEBMに近似し, 今後の小児人工内耳医療の方向性について一定の示唆を与えていると評価できる。

国内で小児人工内耳手術を担当する他施設のデータを集約した大規模な解析が, 良質のEBMの構築に不可欠である。欧米からの最新のエビデンスを正しく評価し, 適応年齢の修正, 両側人工内耳手術の導入についても検討を始める時期が近づいている。

謝 辞

大阪大学の猪原秀典教授, 聴覚グループのスタッフ, 言語聴覚士の皆さまに感謝申し上げます。

文 献

- 1) Dorman MF, Sharma A, Gilley P, Martin K, Roland P: Central auditory development: Evidence from CAEP measurements in children fit with cochlear implants. *J Commun Disorders* 40: 284-294, 2007.
- 2) 山嵜達也: 厚労省科学研究感覚器障害研究事業「人工内耳を装用した先天性高度感音難聴小児例の聴覚・言語能力の発達に関するエビデンスの確立(2008~2010年度)」2009年度報告書, 2009.
- 3) Petersen B, Mortensen MV, Gjedde A, Vuust P: Reestablishing speech understanding through musical ear training after cochlear implantation. *Ann NY Acad Sci* 1169: 437-440, 2009.
- 4) Chen JK, Chuang AY, McMahon C, Hsieh JC, Tung TH, et al: Music training improves pitch perception in prelingually deafened children with cochlear implants. *Pediatrics* 125: e793-800, 2010.
- 5) Brown KD, Connell SS, Balkany TJ, Eshraghi AE, Telischi FF, et al: Incidence and indications for revision cochlear implant surgery in adults and children. *Laryngoscope* 119: 152-157, 2009.
- 6) Trotter MI, Backhouse S, Wagstaff S, Hollow R, Briggs RJ: Classification of cochlear implant failure and explantation: the Melbourne experience, 1982-2006. *Cochlear Implants Int* 10: 105-110, 2009.
- 7) Zeitler DM, Bundenz CL, Roland Jr JT: Revision cochlear implantation. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 17: 334-338, 2009.
- 8) Doi K, Osaki Y, Kawashima T, Ohata K, Yoshinami T, et al: Incidence of Revision Cochlear Implantation in Both Children and Adults. *AP-SCI2009 Proceeding, Medimond, Italy*, 2010, 111-115.
- 9) Beadle EA, McKinley DJ, Nikolopoulos TP, Brough J, O'Donoghue GM, et al: Long-term functional outcomes and academic-occupational status in implanted children after 10 to 14 years of cochlear implant use. *Otol Neurotol* 26: 1152-1160, 2005.

- 10) Uziel AS, Sillon M, Vieu A, Artieres F, Piron JP, et al : Ten-year follow-up of a consecutive series of children with multichannel cochlear implants. *Otol Neurotol* 28 : 615-628, 2007.
- 11) Waltzman SB, Roland Jr JT : Cochlear implantation in children younger than 12 months. *J Pediatrics* 116 : e487-e493, 2005.
- 12) Dettman SJ, Pinder D, Briggs RJ, Dowell RC, Leigh JR : Communication development in children who receive the cochlear implant younger than 12 months : risk versus benefits. *Ear Hear* 28 (Suppl) : 11S-18S, 2007.
- 13) Vlastarakos PV, Proikas K, Papacharalampous G, Exadaktylou I, Mochloulis G, et al : Cochlear implantation under the first year of age-The outcomes. A critical systematic review and meta-analysis. *Int J Pediatric Otorhinolaryngol* 74 : 119-126, 2010.
- 14) Vlastarakos PV, Candiloros D, Paracharalampous G, Tavoulari E, Kampessis G, et al : Diagnostic challenges and safety considerations in cochlear implantation under the age of 12 months. *Int J Pediatric Otorhinolaryngol* 74 : 127-132, 2010.
- 15) McJunkin J, Jeyakumar A : Complications in pediatric cochlear implants. *Am J Otolaryngol Head Neck Med Surg* 31 : 110-113, 2010.
- 16) Scherf FW, van Deun L, van Wieringen A, Wouters J, Desloovere C, et al : Functional outcome of sequential bilateral cochlear implantation in young children : 36 months postoperative results. *Int J Pediatric Otorhinolaryngol* 73 : 723-730, 2009.
- 17) Basura GJ, Eapen R, Buchman CA : Bilateral cochlear implantation : Current concepts, indications, and results. *Laryngoscope* 119 : 2395-2401, 2009.
- 18) Petrs BR, Wyss J, Manrique M : Worldwide trends in bilateral cochlear implantation. *Laryngoscope* 120 : S17-S44, 2010.
- 19) Gricco-Calub TM, Litovsky RY : Sound localization skills in children who use bilateral cochlear implants and in children with normal acoustic hearing. *Ear Hear* 31 : 645-656, 2010.
- 20) Krause E, Louza JP, Wechtenbruch J, Gürkov R : Influence of cochlear implantation on peripheral vestibular receptor function. *Otolaryngol Head Neck Surg* 142 : 809-813, 2010.
- 21) Büchner A, Schüssler M, Battmer RD, Stöver T, Lesinski-Schiedat A, et al : Impact of low-frequency hearing. *Audiol Neurotol* 14 (Suppl) : 8-13, 2009.
- 22) Ganz BJ, Hansen MR, Turner CW, Oleson JJ, Reiss LA, et al : Hybrid 10 clinical trial. *Audiol Neurotol* 14 (Suppl) : 32-38, 2009.
- 23) Staecker H, Jolly C, Garnham C : Cochlear implantation : an opportunity for drug development. *Drug Discovery Today* 15 : 314-321, 2010.
- 24) Bond M, Elston J, Mealing S, Anderson R, Weiner G, et al : Effectiveness of multi-channel unilateral cochlear implants for profoundly deaf children : a systematic review. *Clinical Otolaryngol* 34 : 199-211, 2009.

人工内耳が壊れたときは新しい器械をいれかえるのでしょうか？

熊川 孝三*

Kozo KUMAKAWA

● Key Words ●人工内耳, 故障, 入れ替え手術●

●回答例●

私たちの身の周りにある電子機器や家電製品はずっと使い続けられるでしょうか？残念ながら人工内耳も電子機器ですから、やはり壊れる場合もあり、寿命もあります。

人工内耳は、頭部および内耳に埋め込まれるインプラント部分と、マイク、スピーチプロセッサ、送信コイルからなる体外部分とからなります。体外装置の一部が壊れた場合は、部品を取り替えることで済みます。もし、修理できないほど壊れた場合には、体外装置一式を交換することができます。

ただし、インプラント部分が壊れ、聞こえがかなり悪くなった場合には、新しい電極インプラントに取り替える必要があります。体内部分は、血液や体液が内部に侵入しないように、すべてがシリコン膜などで覆われて絶縁されていますので、壊れた部分だけを取り替えることができません。インプラントそのものを内耳から抜き取り、最初の手術と同様の手順で再埋め込みをしなければなりません。同じ耳で、電極が前と同様な状態まで入れれば、その後の成績の低下もあまりないのですが、まれに聞こえが術前レベルに戻らない場合も報告されていますので、再手術には注意が必要です。

●解 説●

インプラント内部には電池は必要なく、体外装置から電波で補給されるため、基本的に壊れない、故障しない限り使える仕組みになっている。インプラントが摘出された理由をコクレア社の報告で見ると、皮弁の感染・皮膚弁の壊死が25%と最も多く、内部集積回路の故障15%、電極のスリップアウト13%、外耳道への電極の露出8%、装置の故障・電極のショート・オープンが合わせて7%であり、外傷による電極の破損は2%に過ぎなかった。

すなわち医学的な原因による摘出が最も多く、次いで内部の集積回路や電極の劣化による故障が続く。外傷による破損は最も少ないことがわかる。シリコン絶縁膜の劣化による体液の侵入などで問題が起こる可能性が高いと考えられている。

デバイス故障と摘出の理由を明確に定義するた

めに、2005年にフランクフルトでEuropean consensus meetingが開かれ、failureのカテゴリがA～Eと分けられた¹⁾。Battmerらはヨーロッパの主な27施設の長期間のデータベースをアンケートにより集め、インプラントのデバイス故障率を報告した。これによれば、全12,856個のデバイスのうち、488個(3.79%)が故障を起こしたという。また、各社デバイスの故障率の比較では、Nucleus社製では1.97%、アドバンスト・バイオニクス社製では6.98%、メドエル社製では6.19%であったという²⁾。

わが国での外傷で壊れた報告例は小児がほとんどである。これは、成人では皮膚の厚みが7～10mm位と小児の3～5mmに比べて厚いこと、髪の毛の量が多いこと、外傷を避け得る判断力が勝っていることが原因と考えられる。当院では400例中、外傷(小児が、偶発的にぶつかって地面に頭

を打った)が原因で壊れた例は1例だけであった。スポーツそのものが原因で壊れたことはなかった。しかし、頭部を強打するサッカー、ラグビー、剣道、ヘルメットなしの野球は可能な限り避けるべきと両親に伝えている。

手術サイドの選択であるが、小児の場合には、成人よりも長期の装用が必要であり、感染などの問題がなければ、可及的に同側での入れ替え手術を行うべきである。この場合、電極が挿入されていた鼓室階の線維化や骨化が進んでいると考えられ、再挿入する電極は、前の電極長や直径を超えるものは避ける。また、新しい電極の挿入直前まで以前の電極アレイを入れておき、用意が整って

から新しい電極を素早く挿入する。

初回手術では骨膜・側頭筋膜弁を皮弁と別に作って、これでインプラントデバイスを完全に覆うが、頭皮の薄い小児の再手術では、薄くなった筋膜弁を皮弁と別個に剝離することは困難である。骨膜・側頭筋膜弁も皮弁に含めて作成し、十分に厚みと血流のある皮弁でデバイスを覆う³⁾。再手術後の聴取能は一般的には術前レベルが維持される^{4,5)}が、稀に術前レベルにまで改善しない例も報告されている⁶⁾ので、十分なインフォームド・コンセントを得てから再手術を行うべきである。

●回答のポイント●

- 1) 人工内耳は医療機器で壊れにくいものではあるが、電子機器であり、劣化は起こりうる。
- 2) 外傷による損傷は以外に少ないが、ほとんど小児で起こる。
- 3) インプラントおよびデバイスの交換は健康保険適用の対象である。

- 4) 再手術後の聴取能は一般的には術前レベルが維持されるが、電極が以前よりも入らない場合があること、入っても聴取能が術前レベルにまで改善しない場合もあることを伝えておく。

文 献

- 1) European consensus statement on cochlear implant failures and explantations. *Otol Neurotol* 26 : 1097-1099, 2005.
- 2) Battmer RD, O'Donoghue GM, Lenarz T : A multicenter study of device failure in European cochlear implant centers. *Ear & Hearing* 28 : 95-99, 2007.
- 3) 熊川孝三 : 乳幼児の人工内耳の適応と手術. *JOHNS* 24(9) : 1428-1434, 2008.
- 4) Lasig AA, Zwolan TA, Telian SA : Cochlear implant failures and revision. *Otol Neurotol* 26 : 624-634, 2005.
- 5) Cote M, Ferron P, Bergeron F, et al : Cochlear reimplantation ; Causes of failure, outcomes, and audiological performance. *Laryngoscope* 117 : 1225-1235, 2007.
- 6) Cullen RD, Fayad JN, Luxford WM, et al : Revision cochlear implant surgery in children. *Otol Neurotol* 29 : 214-220, 2008.

* 虎の門病院耳鼻咽喉科・聴覚センター [〒105-8470 東京都港区虎ノ門2-2-2]

* * *

人工内耳の合併症と再手術

熊 川 孝 三

(虎の門病院耳鼻咽喉科・聴覚センター)

人工内耳埋め込み術は、正常な中耳・乳突洞を有する症例に行われることが多いため、重篤な術中合併症は比較的に少ない。むしろ、長期装用中の電極の故障や露出が問題となるため、その対策を中心に述べる。

1. 手術時合併症とその対策

Hansen ら¹⁾による505例の合併症をまとめた最新の報告では、成人では、最も多いものがめまいで25%、術後創感染が8.9%、鼓索神経の損傷による味覚障害が5.7%であった。小児では、最も多いものは創感染で3.8%、次いでめまい2.2%、術後血腫が2.2%であった。Migirov ら²⁾の257例の報告でも、同様な報告であり、懸念される顔面神経麻痺の報告はない。当科の400例の解析でも、顔面神経麻痺は手術開始当時の数年間に熱損傷に伴うと考える一過性麻痺が2例認められたのみで、最近はまったく経験していないが、やはり避けるべき重要な合併症である。

顔面神経窩經由の後鼓室開放を行う場合に顔面神経損傷を生じやすいので、術前にCT スキャンで顔面神経の走行と深さ、外耳道との距離をあらかじめ知っておく。また、術中の顔面神経モニタリングを励行し、神経までの距離を認識しながら骨削開し、十分に生理食塩水をかけることで熱損傷を予防する。

特に、蝸牛開窓の際に、ドリル先端に注意が集中するあまり、顔面神経の露出部にバーのシャフトが触れ、熱損傷による麻痺を起こす可能性があるもので十分に注意する。

術前の温度眼振検査で、半規管機能が十分に残存していた例ほど、術後のめまいが顕著となる。めまいは通常一時的であるが、稀に、数ヶ月後にメニエール病と類似の激しい回転性めまいを起こす場合があり、術前に説明と同意が必要である。

2. 術後の合併症とその対策

術後の合併症として、FDA の2002年の報告³⁾では、髄膜炎・中耳炎などの感染が16%と最も

多く、次いで皮膚弁壊死・感染、デバイス露出が12%、電極の移動6%、電極誤挿入・外リンパ漏が5%となっており、わが国よりも感染が多い。電極の故障は、自然故障が外傷による損傷の4倍多い。人工内耳は医療機器で壊れにくいものではあるが、電子機器であり、劣化は起こりうることを術前に伝える必要がある。

露出予防のポイントは側頭筋・骨膜弁を皮膚切開と少しずらして作成し、かつ後方に有茎な弁を作成し、デバイスを完全に覆い、デバイス上には縫合を作らないことである。そしてさらに十分に厚みと血流のある皮弁でデバイスを覆う⁴⁾。

他に、顔面の電気刺激を来す症例もあり、顔面神経が蝸牛基底回転を乗り越える近接する顔面神経迷路部において刺激される。骨密度の質的低下を生じる可能性が高い症例、特に耳硬化症、高齢の女性や内耳奇形症例に対しては術前の十分なインフォームドコンセントが必要である。

3. 電極摘出・再手術の原因分類

コクレア社の報告では、全埋め込み例の5%が何らかの理由で摘出されている。その理由としては、皮弁の感染・皮膚弁の壊死25%と最も多く、内部集積回路の故障15%、電極のスリップアウト13%、外耳道への電極の露出8%、装置の故障・電極のショート・オープンが合わせて7%であり、外傷による電極の破損は2%に過ぎなかった。

すなわち医学的な原因による摘出が最も多く、次いで内部の集積回路や電極の劣化による故障が続く。シリコン絶縁膜の劣化による体液の侵入などで問題が起こる可能性が高いと考えられている。

2005年に European consensus meeting が開かれ、デバイス故障の分類 A～E が提案された(表1)。特に、B1 と B2 の区別や、電氣的チェックでは性能低下無いが、入れ替えた機種では有用性あった場合の摘出した電極の判断 (C)、入れ替えた機種でも有用性無かった場合の摘出した電極

の判断をどうするか (D) など、これまで混乱していた場合に対しても、かなり明確な分類基準が提案されており、わが国でも今後のデバイス故障の標準化のために有用と考える。積極的な使用をお願いしたい。

Battmer ら⁶⁾はヨーロッパの主な27施設の長期間のデータベースをアンケートにより集め、インプラントのデバイス故障率を報告した。これによれば、全12,856個のデバイスのうち、488個(3.79%)が故障を起こしたという。また、各社デバイスの故障率の比較では、Nucleus 社製では1.97%、アドバンスト・バイオニクス社製では6.98%、メデル社製では6.19%であったという。

外傷による損傷は以外に少ないが、ほとんど小児で起こる。当院では400例中、外傷が原因で壊れた例は1例だけであった。スポーツそのものが原因で壊れたことはなかった。しかし、頭部を強打するサッカー、ラグビー、剣道、ヘルメットなしの野球は可能な限り避けるべきと両親に伝えている。

4. 再手術の工夫と問題点

手術サイドの選択であるが、小児の場合には、成人よりも長期の装用が必要であり、感染などの問題が無ければ、可及的に同側での入れ替え手術を行うべきである。この場合、電極が挿入されていた鼓室階の線維化や骨化が進んでいると考えられ、再挿入する電極は、前の電極長や直径を超えるものは避ける。また、新しい電極の挿入直前まで以前の電極アレイを入れておき、用意が整って

から新しい電極を素早く挿入する。

再手術後の聴取能は一般的には術前レベルが維持されるが、電極が以前よりも入らない場合があること、入っても術前レベルにまで改善しない例も報告されている⁷⁾ので、十分なインフォームド・コンセントを得てから再手術を行うべきである。

顔面神経の電気刺激により、相当数の電極が使用できないことで聴取能が低下した場合には再手術も考慮されうる。蝸牛軸近接型電極はその構造から、ストレート型電極と比較して顔面神経への刺激は軽減されるが、効果は完全ではない。また同側への再挿入は、電極のタイプを変更してもすでに生じた顔面神経への電流経路を遮断できない可能性が高く、再手術は対側が望ましいと考えられる。

5. 保険請求時の注意点

体内電極が故障した場合には、保険で再手術が可能であり、入れ替えた電極に対応する対外装置(スピーチプロセッサ)も一体となって給付されるので問題はない。

また、修理不能となった体外装置の交換も健康保険適用の対象である。しかし、注意すべきは体外装置の単なるバージョンアップは原則的に保険では出来ないことである。100万円ときわめて高額でもあり、保険組合からの返戻を最小にするためにも、東京都審査委員会では、破損程度と修理不能である旨の会社の証明をレセプトに添付し、複数台数の故障機種を所持していても原則的に給付は最新型の1台とする、などの対応をお願いしたいと考えている。

表1 人工内耳 device failure の分類と対応
(European Consensus Statement 5))

A	Normal functioning device : 対応不要
B1	Characteristics decrement : 臨床的な有用性あるが、チェックで性能の一部低下あり→再手術不要 さらに低下し、有用性無くなれば再手術
B2	Performance decrement : 機器性能は仕様書通りだが、臨床的な有用性無い→摘出再手術
C	Device failure : 臨床的な有用性無い、かつ、チェックでも性能の低下あり→摘出再手術 チェックでは性能低下無いが、入れ替えた機種では有用性あり→元の機種をCと判断
D	Medical reason : 医学的(感染、誤挿入など)な問題による再手術 もし入れ替えた機種でも有用性無い場合→元の機種をDと判断する
E	Lost to follow up : 受診されないため、フォローアップから外れた場合の扱い

文 献

- 1) Hansen S, Anthonsen K: Unexpected findings and surgical complications in 505 consecutive cochlear implantations. *Acta Oto-laryngol* 130: 540-549, 2010.
- 2) Migirov L, Dagan E, Kronenberg J: Surgical and medical complications in different cochlear implant devices. *Acta Oto-laryngologica* 129: 741-744. 2009.
- 3) Tambyraja RR, Gutman MA, Megerian CA: Cochlear implant complications; Utility of federal database in systemic analysis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 131: 245-250, 2005.
- 4) 熊川孝三: 乳幼児の人工内耳の適応と手術. *JOHNS* 24: 1428-1434, 2008.
- 5) European consensus statement on cochlear implant failures and explantations. *Otol Neurotol* 26: 1097-1099, 2005.
- 6) Battmer RD, Lenarz T: A multicenter study of device failure in European cochlear implant centers *Ear & Hearing* 28: 95-99, 2007.
- 7) Cullen RD, Fayad JN, Luxford WM, et al: Revision cochlear implant surgery in children. *Otol Neurotol* 29: 214-220, 2008.