

Table II. Genes showing higher expression in the base by categories.

Function	Accession no.	Gene	Ratio (apex:base)	
Structural cytoskeleton	NM_028514.1	Riken cDNA 1700061J02 gene (ACTRT1-pending)	5.8	
	NM_021541.1	Crystallin, beta A2 (CRYBA2)	5.7	
	NM_008614.2	Myelin-associated oligodendrocytic basic protein (MOBP)	8.0	
	NM_009789.1	Calbindin 3 (vitamin D-dependent calcium binding protein) (CALB3)	9.2	
Cell adhesion	NM_011581.1	Thrombospondin 2 (THBS2)	7.5	
	NM_011707.1	Vitronectin (VTN)	5.0	
	W53823.1	MD14C10.R1 soares embryo NBME 13.5 14.5 cDNA clone (COL6A2)	5.3	
	NM_022031.1	Brain-like protein 1 (BRAL1-pending)	8.1	
Membrane transport	NM_133241.1	Megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts 1 homolog (HUMAN) (MLC1)*	5.8	
	NM_013667.1	Solute carrier family 22 (organic cation transporter), member 2 (SLC22A2)*	5.2	
	NM_031194.2	Solute carrier family 22 (organic anion transporter), member 8 (SLC22A8)*	9.3	
	NM_054055.1	Solute carrier family 13 (sodium-dependent dicarboxylate transporter), member 3 (SLC13A3)*	6.0	
	NM_148931.2	Solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter, glycine), member 5 (SLC6A5)†	5.3	
	NM_010018.1	D-Amino acid oxidase (DAO1)	10.8	
	AK005250.1	Adult male cerebellum cDNA, riken clone 1500015I14 product, Solute carrier family 25 (SLC25A18)	5.5	
	NM_026205.2	Riken cDNA 1700010O16 gene (1700010O16RIK)*	5.1	
	NM_133661.1	Gamma-aminobutyric acid (GABA-A) transporter 2 (GABT2) (SLC6A12)†	5.9	
	NM_144512.1	Gamma-aminobutyric acid (GABA-A) transporter 3 (GABT3) (SLC6A13)†	6.6	
	NM_008070.2	Gamma-aminobutyric acid (GABA-A) receptor, subunit beta 2 (GABRB2)*†	14.3	
	NM_008073.1	Gamma-aminobutyric acid (GABA-A) receptor, subunit gamma 2 (GABRG2)*†	6.8	
	NM_008747.1	Neurotensin receptor 2 (NTSR2)†	7.2	
	Transcription factor	NM_023729.2	Germ cell-specific ankyrin, sam and basic leucine zipper domain containing protein (GASZ-pending)	5.7
		NM_009573.1	Zinc finger protein of the cerebellum 1 (ZIC1)	8.7
NM_010919.1		NK2 transcription factor related, locus 2 (<i>Drosophila</i>) (NKX2-2)	6.8	
Protein modification	NM_008294.1	Hydroxysteroid dehydrogenase-4, delta-3-beta (HSD3B4)	5.4	
	L20331.1	Adenosin-3 receptor homolog (ADORA3)	16.7	
	NM_016672.1	Aromatic-L-amino-acid decarboxylase (DDC)	5.6	
	NM_011219.1	Protein tyrosine phosphatase, receptor type, Z polypeptide 1 (PTPRZ1)	6.0	
	NM_007607.1	Carbonic anhydrase 4 (CAR4)	10.3	
	NM_018870.1	Phosphoglycerate mutase 2 (PGAM2)	16.3	
	NM_011177.1	Protease, serine, 18 (PRSS18)	6.2	
	NM_008223.1	Serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade D, member 1 (SERPIND1)	5.9	
	Signal transduction	BB451927.2	Riken, 12 days embryo spinal ganglion cDNA clone D130013H04 3 (SSTR4)	5.5
Hormone	NM_031161.1	Cholecystokinin (CCK)	5.5	
	NM_011702.1	Vasoactive intestinal polypeptide (VIP)	6.6	
Inflammatory response	NM_011260.1	Regenerating islet-derived 3 gamma (REG3G)	5.1	
Others	NM_008013.2	Fibrinogen-like protein 2 (FGL2)	5.4	
	NM_008579.3	Meiosis expressed gene 1 (MEBIG1)	6.8	
	NM_010923.1	Neuronatin, transcript variant 1 (NNAT)	6.5	
	NM_134238.1	Vomer nasal 1 receptor, H13 (V1RH13)	6.3	
	NM_009311.1	Tachykinin 1 (TAC1)†	20.8	

*Genes related to ion exchange.

†Genes related to neurotransmitter.

Table III. List of all expressed sequence tags (ESTs).

Accession nos of ESTs that showed higher expression in apex					
AI850080.1	AK010233.1	AV246932.2	BB042553.2	BB044797.2	BB078328.1
BB078496.1	BB081209.1	BB085099.2	BB113917.1	BB160318.2	BB308379.2
BB334120.2	BB339785.2	BB444977.1	BB475313.1	BB539070.2	BB695600.1
BE456549.1	BE952696.1	BG806739.1	BM234411.1	BM248364.2	BM248364.2
NM_008386.2					
Accession nos of ESTs that showed higher expression in base					
AI385667.1	AK006407.1	AK006511.1	AK007900.1	AK009351.1	AK010774.1
AV256234.2	AV303305.1	AW049955.1	AW456706.1	BB045917.2	BB177770.2
BB432934.2	BB494451.1	BC022646.1	BQ175346.1	M55181.1	

are controlled by a large variety of neurotransmitters or a larger quantity than their apical counterparts, and that the mechanism of high-frequency sensitivity in the base is more complicated. Innervation patterns where hair cells in the base are more highly innervated than those in the apex [11] are consistent with this idea.

Among 39 known genes showing differential high expression in the apex, we detected only one ion transporter gene: *Kcnj9*. *Kcnj9* is a member of the G protein-activated inward rectifier potassium channel family (GIRK/*Kir3.x*). GIRK generates slow inhibitory postsynaptic potentials following the activation of pertussis toxin-sensitive G protein-coupled receptors [12]. The spiral ganglion neurons isolated from the apical and basal regions of the cochlea showed differential firing features: low-frequency neurons from the apex displayed a high percentage of slowly accommodating neurons along with those that displayed prolonged action potential latency and duration [13]. GIRK3.3 might contribute to membrane conductance at negative potentials and, by extension, may contribute to the differences in latency observed between the apical and basal spiral ganglion neurons.

Among 60 known genes showing high differential expression in the base, seven genes were related to neurotransmission of genes. The number of genes relative to the neurotransmitter γ -aminobutyric acid (GABA) was particularly prominent. GABA is an inhibitory neurotransmitter, which is released from some efferent olivocochlear nerve endings terminating at outer hair cells. In this study, β 2- and γ 2-subunits of GABA_A receptors were more highly expressed in the base than in the apex. However, the precise distribution of GABA_A receptors remains controversial [14]. Previous reports have demonstrated that outer hair cells isolated from the apical cochlear turns did not respond to GABA during whole-cell recording [15]. The expression of β 2- and γ 2-subunits of GABA_A receptors in the mammalian cochlea was independently validated by PCR [16].

ABR and DPOAE data from mice lacking β 2-subunits of GABA_A receptors demonstrated increasing threshold shifts from low to high frequencies [17]. Thus, our microarray analysis showing higher expression of β 2-subunits of GABA_A receptors is consistent with previous studies. In our microarray study, glutamic acid decarboxylase (GAD), which is required for the synthesis of GABA from glutamic acid, did not show differential expression in the apex or base. On the other hand, GABA transporter 2 and 3 expression was predominant in the base. This suggests that large amounts of GABA may be released from efferent auditory nerve terminals to bind to the cell of surface of outer hair cells in the base. The large amount of GABA-mediated hyperpolarization may contribute to fast adaptation of mechanotransducer current, which is characteristic of the high-frequency selectivity of hair cells [10] or the differential firing features of rapidly accommodating spiral ganglion neurons in the base [13].

The electrical resonant frequency of membrane potentials along the cochlear axis in mammalian hair cells has yet to be elucidated. Instead of this mechanism, isolated outer hair cells from the mammalian cochlea exhibit their unique mechanism of pre-amplification of sound by active somatic cell-body vibrations of outer hair cells [18]. By the gradient level of β 2- and γ 2-subunits as the component of GABA_A receptors, outer hair cells may show the change in GABA-mediated OHC motility along the cochlear axis, and a subsequent modulation of the movement of the basilar membrane. This regulation may enhance the acute frequency selectivity and sensitivity of the mammalian cochlea.

Consistent with the physical properties of the basilar membrane described above, the receptor cells in the cochlea also show morphological gradations [19]. The stereocilia of the inner and outer hair cells of the mammalian cochlea vary systematically with location. Stereociliary length is maximal in the apex and decreases systematically along the length of

the cochlea, with the shortest stereocilia found in the basal cochlea. The hair cell soma, especially those of the outer hair cells, also changes in the same manner, with the largest cells present in the apex and the smallest in the base. In our analysis of differential expression pattern of genes that encode structural proteins, we were unable to measure a systematic difference between the apex and base. One possible setback was that our sample included both the organ of Corti and spiral ganglion neurons. While spiral ganglion neurons also vary systematically with cochlear location, the size-location relationship is opposite to that of the hair cells [20]. As such, this study did not detect any structural gene that would be predicted to have a major influence on the frequency selectivity.

Declaration of interest: The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

References

- [1] Hudspeth AJ. How the ear's works work. *Nature* 1989;341:397-404.
- [2] Hudspeth AJ. How hearing happens. *Neuron* 1997;19:947-50.
- [3] Hibino H, Kurachi Y. Molecular and physiological bases of the K⁺ circulation in the mammalian inner ear. *Physiology (Bethesda)* 2006;21:336-45.
- [4] Ashmore JF. Frequency tuning in a frog vestibular organ. *Nature* 1983;304:536-8.
- [5] Crawford AC, Fettiplace R. An electrical tuning mechanism in turtle cochlear hair cells. *J Physiol* 1981;312:377-412.
- [6] Rosenblatt KP, Sun ZP, Heller S, Hudspeth AJ. Distribution of Ca²⁺-activated K⁺ channel isoforms along the tonotopic gradient of the chicken's cochlea. *Neuron* 1997;19:1061-75.
- [7] Ramanathan K, Michael TH, Jiang GJ, Hiel H, Fuchs PA. A molecular mechanism for electrical tuning of cochlear hair cells. *Science* 1999;283:215-7.
- [8] Schnee ME, Lawton DM, Furness DN, Benke TA, Ricci AJ. Auditory hair cell-afferent fiber synapses are specialized to operate at their best frequencies. *Neuron* 2005;47:243-54.
- [9] von Békésy G. Experiments in hearing. New York: McGraw-Hill; 1960. p. 745.
- [10] Ricci AJ, Kennedy HJ, Crawford AC, Fettiplace R. The transduction channel filter in auditory hair cells. *J Neurosci* 2005;25:7831-9.
- [11] Ryugo DK. The auditory nerve: peripheral innervation cell body morphology, and central projections. In: Popper AN, Fay RR, editors. *The mammalian auditory pathway: neuroanatomy*. New York: Springer-Verlag; 1992. p. 34-93.
- [12] Riven I, Iwanir S, Reuveny E. GIRK channel activation involves a local rearrangement of a preformed G protein channel complex. *Neuron* 2006;51:561-73.
- [13] Adamson CL, Reid MA, Mo ZL, Bowne-English J, Davis RL. Firing features and potassium channel content of murine spiral ganglion neurons vary with cochlear location. *J Comp Neurol* 2002;447:331-50.
- [14] Plinkert PK, Möhler H, Zenner HP. A subpopulation of outer hair cells possessing GABA receptors with tonotopic organization. *Arch Otorhinolaryngol* 1989;246:417-22.
- [15] Evans MG, Kiln J, Pinch D. No evidence for functional GABA receptors in outer hair cells isolated from the apical half of the guinea-pig cochlea. *Hear Res* 1996;101:1-6.
- [16] Drescher DG, Green GE, Khan KM, Hajela K, Beisel KW, Morley BJ, et al. Analysis of gamma-aminobutyric acidA receptor subunits in the mouse cochlea by means of the polymerase chain reaction. *J Neurochem* 1993;61:1167-70.
- [17] Maison SF, Rosahl TW, Homanics GB, Liberman MC. Functional role of GABAergic innervation of the cochlea: phenotypic analysis of mice lacking GABA(A) receptor subunits alpha 1, alpha 2, alpha 5, alpha 6, beta 2, beta 3, or delta. *J Neurosci* 2006;26:10315-26.
- [18] Canlon B, Brundin L, Flock A. Acoustic stimulation causes tonotopic alterations in the length of isolated outer hair cells from guinea pig hearing organ. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988;85:7033-5.
- [19] Lim DJ. Cochlear anatomy related to cochlear micromechanics. A review. *J Acoust Soc Am* 1980;67:1686-95.
- [20] Liberman MC, Oliver MB. Morphometry of intracellularly labeled neurons of the auditory nerve: correlations with functional properties. *J Comp Neurol* 1984;223:163-76.

内耳蝸牛内高電位の成立機構

日比野 浩^{*}、任 書晃^{**}、土井 勝美^{***}、鈴木 敏弘^{**}、久 育男^{**}、倉智 嘉久^{*}

^{*}大阪大学大学院医学系研究科 薬理学講座 分子細胞薬理学

^{**}京都府立医科大学 耳鼻咽喉科学

^{***}大阪大学大学院医学系研究科 耳鼻咽喉科学

Key words : endocochlear potential, hearing, ion transport, potassium (K^+)

はじめに

音は内耳蝸牛で受容される。蝸牛の有毛細胞の頂上膜に分布する感覚毛は、内リンパ液という特殊な細胞外液に触れている。これは、約150mMの K^+ を含み、通常の細胞外液と同じイオン組成をもつ蝸牛の外リンパ液や血液に比べて約+80mVの高電位を帯びる(図1)。後者は蝸牛内高電位(EP: Endocochlear Potential)と呼ばれる¹⁾。内リンパ液の K^+ は、音刺激により、感覚毛の頂部に局在する機械感受性チャネルを介して有毛細胞へ流入し、それを興奮させる。これが音伝達の第一ステップとなり音は中枢へ伝わる。有毛細胞の細胞体は、外リンパ液に浸され、静止膜電位は-60mVである。内リンパ液のEPは、有毛細胞への K^+ 流入の駆動力を増大し、聴覚の音に対する高い感受性の成立に大きく貢献している。故に、内リンパ液が高電位・高 K^+ であることは、聴覚に必須である。

以前より、EPの成立は、蝸牛側壁の線維細胞群(螺旋靭帯)・上皮細胞群(血管条)を介した、内リンパ液から外リンパ液、そして内リンパ液への K^+ 循環に立脚し、特に血管条がその中心的役割を果たすとされてきた(図1)。血管条は、辺縁細胞からなる内層、中間細胞・基底細胞からなる外層、そして2層間を走る多数の血管から構成される(図1)。無酸素負荷や、血管条へ Na^+ 、 K^+ -ATPase・ Na^+ 、 K^+ 、 $2Cl^-$ 共輸送体・ K^+ チャネルの阻害薬を投与することにより、EPが著明に低下するため^{2),3)}、 K^+ 循環及びEPの成立には、蝸牛側壁に分布するこれらの K^+ 輸送装置が関与するとされてきた。組織学的実験により、上記ポンプと共輸送体は、辺縁細胞の基底側膜に発現することが報告された。しかし、 K^+ チ

ャネルの分子実体や局在は不明であった。また、これらの K^+ 輸送装置が如何に共役してEPを成立させるかも謎であった。そこで、本研究はEPの成立機構の解明を目指した。

血管条の特徴とEP成立機構の仮説

血管条の解剖学的特徴として、①辺縁・基底・血管内皮細胞はタイトジャンクションで繋がれ、血管条内部を内・外リンパ液と血液から物理的に隔離する、②中間・基底細胞とその外側の線維細胞はギャップ結合で一体化され、合胞体を作る、③辺縁細胞の基底側膜と中間細胞の頂上膜はひだ状で互いに絡み合い、それらに挟まれた血管条細胞外空間(IS: Intrastrial Space)の間隔は15nmと狭い、という点が挙げられる⁴⁾。このISを満たす液は、通常の細胞外液と同じく低 K^+ (5mM以下)であるが、約+90mVの高電位を示す(図1)^{5),6)}。この電位はIntrastrial Potential: ISPと呼ばれ、EPの起源と考えられた⁵⁾。その後、① Na^+ 、 K^+ 、 $2Cl^-$ 共輸送体・ Na^+ 、 K^+ -ATPaseが辺縁細胞の基底側膜に強く発現すること⁷⁾、②中間細胞を含む合胞体の電位は約-5mVであること、が報告された³⁾。故に、①②の K^+ 輸送装置によって保たれていると予想されるISの低 K^+ と合胞体内との間に大きな K^+ の濃度差があるので、③ K^+ チャネルが中間細胞若しくは基底細胞の頂上膜に存在すると仮定すると、③合胞体頂上膜を介して90mV以上の K^+ 拡散電位が生ずる。そしてこの電位が、中間細胞が-5mVであるため(上記②)、そのまま+90mVのISPとなり、更に辺縁細胞で約10mV低下して(成因は不明)、最終的に+80mVのEPを示すという仮説がSaltらにより発表

された⁵⁾(図1)。

EP成立のための必須分子Kir4.1の同定

まず、K⁺チャネル阻害薬であるBa²⁺の標的分子の同定を試みた。最初に生理実験によってBa²⁺の作用を確認し、また、電位依存性K⁺チャネルの阻害薬はEPに殆ど影響しないことを見出した。よって、EP成立には、もう一つのチャネルファミリーである内向き整流性K⁺(Kir)チャネルが重要であることが判明した。15種類のKirサブユニットの中で、RT-PCR法によりKir4.1のみが血管条に発現していることを見出した。免疫組織実験にて、血管条におけるKir4.1の強い分布を確認した。以上より、Kir4.1はEP成立の必須分子であると考えられた⁸⁾。後に竹内らによって、Kir4.1は中間細胞の頂上膜に局在することが報告され、このチャネルはISPの責任分子であることが示唆された^{9),10)}。近年、Kir4.1欠損マウスは、EPが欠如し、高度難聴を示すことが観察された¹¹⁾。

K⁺輸送装置阻害下におけるIS環境とEPの変化

上記の通り、EP成立に重要な分子が同定されて来たが、Saltらの仮説の実験的な証明は、阻害薬を還流しつつ15nmと狭いISや合胞体に電極を留置することが困難なため、行われなかった。また、動物を無酸素に曝すと、EPは-10mVまで減少するが、血管条の内部は+14mVまでしか低下せず¹²⁾、これはISPとEPがほぼ同等のものとする従来の仮説のみでは説明できない。そこで、仮説の妥当性を検証し、EP成立に必要な他の要素を見出すため、K⁺選択的イオン電極(K⁺電極)をモルモットの蝸牛側壁に挿入し、血管条の細胞内外の微小区域のK⁺濃度・電位を種々の条件下で測定した。同時に別の電極でEPの変化も観察した¹³⁾。

図2 A上段は、K⁺電極を外リンパ液から螺旋靭帯・血管条・内リンパ液へと進めた際の、電位(赤)とK⁺濃度(青：活量で示す)の変化を示し、下段は、通常の電極で内リンパ液の電位、即ちEPを経時的に観察したものである。また、血管条に薬剤を投与するため、血管条毛細血管の源流である椎骨動脈にカテーテルを留置した。外リンパ液(0 mV・低K⁺)よりK⁺電極を進めると、最初にK⁺濃度が65~85mMと高く、電位が+2~3 mVと軽度正の値を示す地点(黒矢印)を見出した。解剖学的に(図1)、これは中間・基底・線維細胞から成る合胞体の内部を観察していると考えられた。更に電極を進めると、電位が+70mVと高く、K⁺濃度が4 mM

と低いISを認めた(白矢印)。電極を留置し、無酸素負荷により血管条のNa⁺、K⁺-ATPaseを阻害したところ、ISの電位(ISP)は+70mVから+22mVへと下降して3 mVだけ上昇し、K⁺濃度は4 mMから28mMへと上昇して2 mMのみ下降する、二層性変化を認めた(図2 A点線四角と図2 C)。同時にEPは-14mVの負の値まで下降し(図2 A下段)、正の値で留まったISPとの差が認められた(白矢頭)。無酸素を解除すると、全ての値は元に戻った。K⁺電極をISに留めたまま、次にK⁺チャネル阻害薬Ba²⁺を血管条へ投与した。ISPは+23mVまで減少し、同時にEPの低下も認めたが、無酸素負荷の場合と異なり、ISのK⁺濃度は殆ど変わらなかった(図2 A黒矢頭)。

これらの結果、特に無酸素負荷時のISPとISのK⁺濃度の鏡像反応は、中間細胞頂上膜のBa²⁺感受性K⁺チャネルKir4.1を介したK⁺拡散電位がISPの主要素であることを示唆する。一方、中間細胞にはCl⁻やNa⁺の電流が殆ど認められないので¹⁴⁾、ISPは、ネルンストの式より以下のように簡略化した式で求められる。

$$ISP = V_{Syn} + \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{aK^+_{i(Syn)}}{aK^+_{IS}} \right) \dots\dots\dots (a)$$

V_{Syn}は合胞体の電位、aK⁺_{i(Syn)}とaK⁺_{IS}は合胞体とISのK⁺濃度である。また、合胞体の電位とK⁺濃度は、無酸素負荷によって殆ど影響されなかった(データ示さず)。よって、V_{Syn}とaK⁺_{i(Syn)}は一定で、図2 A上段の実測値(黒矢印)を代入した。更に(a)の式へ、無酸素時におけるISのK⁺濃度変化の実測値(図2 A上段点線四角と図2 B下段青)を代入して、ISPの予想値(図2 B下段緑)を求め、ISPの実測値(赤)と比較した。両者はよく一致した(図2 B上段)。故に、ISPは主に中間細胞のKir4.1を介したK⁺拡散電位により成立することが実証された。

辺縁細胞の役割

図2 Aの無酸素負荷時に認められたISP値とEP値との差(白矢印)から、EPの成立にはISP以外の要素が必要であると予想された。この電位差は、解剖学的にISと内リンパ液の間にある辺縁細胞で生じていると予想されたので、具体的な部位の同定を試みた¹³⁾。K⁺電極を外リンパ液から進めていくと(図3 A上段)、僅かに正電位かつ高K⁺濃度を示す合胞体(黒矢印)、高電位かつ低K⁺濃度を示すIS(黒矢頭)を認め、その後、高電位

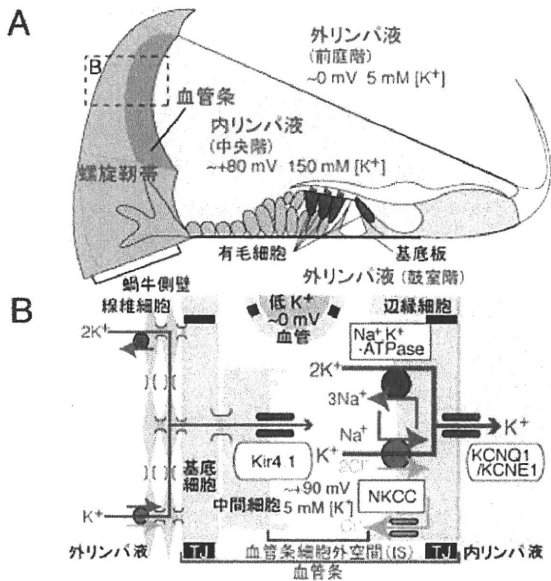


図1 内耳蝸牛 (A) と側壁 (B) の構造とイオン輸送装置

NKCC: Na⁺, K⁺, 2Cl⁻ 共輸送体, TJ: タイトジャンクション
図1~3は全て文献 (13) より改変して引用。

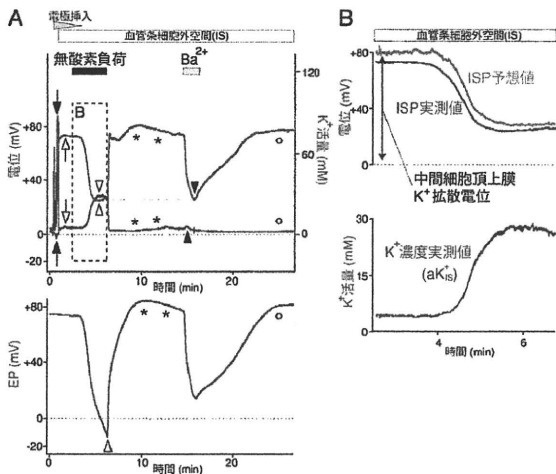


図2 Na⁺, K⁺-ATPaseとK⁺チャネル阻害の効果

(A) 赤は電位を、青はK⁺濃度 (活量) の変化を示す。無酸素負荷 (黒棒) 及びウアバインの還流 (赤棒) でNa⁺, K⁺-ATPaseを、Ba²⁺の還流 (黄棒) でK⁺チャネルを阻害した。上段: K⁺電極による蝸牛側壁のK⁺濃度と電位の測定。下段: 別電極によるEPの経時変化。(B) 無酸素下でのISのK⁺濃度の変化 (Aの点線四角のデータ) からISPの予想値 (緑) を求め、ISPの実測値 (赤: A点線四角の赤線と同じ) と比較した。EL: 内リンパ液

のままでK⁺濃度が急に約80mMと高くなる点を見出した (白矢印)。内リンパ液のK⁺濃度は100mM以上であるため、この場所は辺縁細胞の内部であると考えられた。電極を留置し、無酸素を負荷したところ、電位は+74mVから+27mVへ大きく下降した後、+52mVへ回

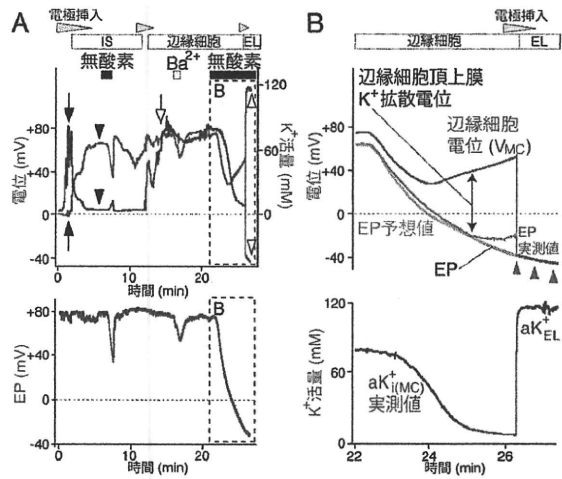


図3 辺縁細胞の解析

(A) 上段: K⁺電極による測定。合胞体 (黒矢印)、IS (黒矢頭) を通過後、高電位・高K⁺の辺縁細胞内 (白矢印) に到達。無酸素負荷の後、内リンパ液へ挿入した。下段: EPの変化。(B) 無酸素によるK⁺濃度の実測値 (下段青: Aの点線四角と同じ) から辺縁細胞頂上膜のK⁺拡散電位を求め、辺縁細胞電位の実測値との和をEPの予想値 (緑) として示した。更にEPの実測値 (灰色: A下段点線四角) を重ねた。EL: 内リンパ液

復したが、K⁺濃度はS字状に低下した (図3 A上段点線四角)。この辺縁細胞の電位変化は、無酸素時のISPの二層性変化に類似している (図2 A)。一方、EPは低下し続け、-40mVを示した。更にK⁺電極を辺縁細胞内から内リンパ液へと進めると、K⁺濃度は約100mMへ上昇し、電位は大きく下降してEPとほぼ同じ負値を示した (図3 A白矢頭)。従って、図2 Aで観察されたISPとEPの差は、辺縁細胞の頂上膜で生じていたことになる。

辺縁細胞の基底側膜にはK⁺電流が認められないが、頂上膜には電位依存性K⁺チャネルKCNQ1/KCNE1が分布する (図1 B)。故に、図3 A上段のように辺縁細胞内のK⁺濃度が低下すると、頂上膜におけるK⁺拡散電位が増大し、EPと辺縁細胞との電位差が拡大する。辺縁細胞頂上膜のK⁺透過性はNa⁺やCl⁻よりもかなり大きい¹⁵⁾、EPは単純に辺縁細胞の電位と頂上膜のK⁺平衡 (拡散) 電位の和として計算できる。

$$EP = V_{MC} + \frac{RT}{F} \ln \left[\frac{aK^+_{i(MC)}}{aK^+_{EL}} \right] \dots\dots\dots (b)$$

V_{MC}・aK⁺_{MC}はそれぞれ辺縁細胞の電位・K⁺濃度である。内リンパ液のK⁺濃度 (aK⁺_{EL}) は無酸素負荷により変化しないため¹⁶⁾、一定である。(b) 式へ、無酸素による辺縁細胞の電位・K⁺濃度変化の実測値 (図3 A上

段点線四角)を代入し、EPの予想値を求めた(図3 B上段の緑)。この値は、EP変化の実測値(図3 A下段点線四角と図3 B灰色線)とよく合致した。従って、無酸素負荷時に拡大する辺縁細胞頂上膜を介した電位差は、主にK⁺拡散によることが明らかとなった。

血管条の電氣的隔絶

ISPを高く保つため、ISは隣接する内・外リンパ液や血液から電氣的に絶縁されているという仮説を立てた。その証明のため、K⁺電極に通電することで、組織の入力抵抗を測定する実験を試みた(データ示さず)¹³⁾。内リンパ液は外リンパ液と同レベルの低い抵抗値を示したが、ISでは高い抵抗値が観察された。即ちISは、隣接する細胞外液から電氣的に隔離されていることが判明した。

結果の総括

本研究において、EP成立の必須分子Kir4.1を同定した。また、血管条内のISの存在と特異的な環境(高電位・低K⁺)を確認した。更に、EPの主な起源がISPであること、中間細胞頂上膜を介した電位差は大部分がK⁺拡散電位であり且つISPの主成因であることを示し(図2)、Saltらが提唱した仮説⁵⁾をはじめて実証した。

また、新たにEP成立に必要な3要素を同定した。第一は、ISが隣接する外リンパ液・内リンパ液・血液から電氣的に隔絶されていることである。これはISが+90mVの高電位ISPを維持するために不可欠である。タイトジャンクションで繋がった基底・辺縁・血管内皮細胞層の3層がそれぞれ絶縁機能を有すると予想される(図1)。第二は、中間細胞を含む合胞体の電位が固定されていることである。図2 A及び別個体の検討によって、この電位は過去の報告⁵⁾と異なり、軽度の正值を示すことが判明した。この特性のため、中間細胞の頂上膜を介したK⁺拡散電位が、高電位のISPとして反映される。

第三は、辺縁細胞頂上膜を介したK⁺拡散である。辺縁細胞のNa⁺、K⁺-ATPaseを阻害した際の、ISPとEPの間の差(図2)は、辺縁細胞内のK⁺濃度の低下によって拡大する辺縁細胞頂上膜のK⁺拡散電位によって説明できた(図3)。また辺縁細胞の基底側膜にはK⁺チャネルが殆どないため¹⁷⁾、辺縁細胞の電位はISのK⁺濃度変化の影響を受けず、ほぼISPと同値と考えられる。故に、EPは、(a) (b) より以下の式で求められる。

$$EP = V_{sym} + \frac{RT}{F} \ln \left[\frac{aK^+_{i(sym)}}{aK^+_{IS}} \right] + \frac{RT}{F} \ln \left[\frac{aK^+_{i(MC)}}{aK^+_{EL}} \right] \dots\dots\dots (c)$$

通常、辺縁細胞と内リンパ液のK⁺濃度は、各々約80mMと100mM以上であるため、辺縁細胞の電位とEPとの約10mVの差は、主にK⁺拡散電位によるものと考えられる。

おわりに

本研究により、EPの成立機構は定性的にはほぼ理解できたと考えられる。今後は、実験や計算科学の手法を用いて、定量的により正確に解明することを目標としたい。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、ご助力頂きました、Rockefeller大学のA.J. Hudspeth教授、Tours大学のI. Findlay先生に感謝いたします。また、シンポジウムで発表の機会を与えて下さった、兵庫医科大学の阪上雅史教授、順天堂大学の池田勝久教授に厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) Bekeşy VG : J Acoust Soc Am 24 (1) : 72-76, 1952.
- 2) Marcus DC, Rokugo M, Thalmann R : Hear Res 17 : 79-86, 1985.
- 3) Kusakari J, Ise I, Comegys TH, et al. : Laryngoscope 88 : 12-37, 1978.
- 4) Hibino H, Kurachi Y : Physiology (Bethesda) 21 : 336-345, 2006.
- 5) Salt AN, Melichar I, Thalmann R : Laryngoscope 97 : 984-991, 1987.
- 6) Ikeda K, Morizono T : Hear Res 39 : 279-286, 1989.
- 7) Wangemann P : Hear Res 165 : 1-9, 2002.
- 8) Hibino H, Horio Y, Inanobe A, et al. : J Neurosci 17 : 4711-4721, 1997.
- 9) Ando M, Takeuchi S : Cell Tissue Res 298 : 179-183, 1999.
- 10) Hibino H, Higashi-Shingai K, Fujita A, et al. : Eur J Neurosci 19 : 76-84, 2004.
- 11) Marcus DC, Wu T, Wangemann P, Kofuji P : Am J Physiol 282 : C403-407, 2002.
- 12) Melichar I, Syka J : Hear Res 25 : 35-43, 1987.
- 13) Nim F, Hibino H, Doi K, et al. : Proc Natl Acad Sci U S A 105 : 1751-1756, 2008.
- 14) Takeuchi S, Ando M : Neurosci Lett 247 : 175-178, 1998.

- 15) Shen Z, Marcus DC : Hear Res 123 : 157-167, 1998.
- 16) Melichar I, Syka J : Pflugers Arch 372 : 207-213, 1977.
- 17) Takeuchi S, Ando M, Kozakura K, et al. : Hear Res 83 : 89-100, 1995.

論文受付 21年 1月 8日
論文受理 21年 1月 8日

別刷請求先：〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-2
大阪大学大学院医学系研究科 薬理学講座 分子細胞薬
理学 日比野 浩

症状・診断

内耳奇形の聴覚検査所見

熊川 孝三*

Kozo KUMAKAWA

● Key Words ●内耳奇形, 前庭水管拡大症, 内耳道狭窄症●

はじめに

骨迷路の形態異常を伴う内耳奇形の頻度は一般に考えられているよりも高く, Jensen¹⁾は先天性高度感音難聴者の20%に認められると報告している。その分類には多くのものがある。

病理組織学的には,

- 1) Michel 型: 内耳の完全欠損
- 2) Mondini 型: 骨迷路, 膜迷路が不完全に発育
- 3) Bing-Siebenmann 型: 骨迷路は正常で膜迷路, 感覚細胞が不完全に発育
- 4) Scheibe 型: 蝸牛の膜迷路と球形嚢に障害

があるが前庭膜迷路と骨迷路は正常に発育などと分類されることが多い。しかし, このような分類は病理組織学的検査によって初めて可能になるもので, 実際の画像・臨床診断には適さない。

そこで Jackler ら²⁾はこれらの点を考慮して表1のような分類を提唱している。これは, まず, 膜迷路に限局した奇形と, 骨迷路と膜迷路の異常を合併するものに大きく分け, さらに後者を,

- A: 内耳の無形成
- B: 蝸牛奇形を伴うもの
- C: 蝸牛の異常を伴わず半規管・前庭の迷路奇形のみを伴うもの
- D: 水管の奇形
- E: 内耳道の奇形

とに分ける分類である。これらの分類は画像診断の所見に基づいており, 臨床診断に適している。ここではこの分類にしたがって内耳奇形を分類

表1 内耳奇形の分類 (Jackler ら)²⁾

- I. 膜迷路に限局した奇形
 - A. 膜迷路の完全異形成
 - B. 膜迷路の限局した異形成
 - 1) 蝸牛, 球形嚢の異形成 (Scheibe)
 - 2) 蝸牛基底回転の異形成 (Alexander)
- II. 骨迷路と膜迷路の奇形
 - A. 迷路の無形成 (Michel)
 - B. 蝸牛の奇形
 - 1) 蝸牛の無形成
 - 2) 蝸牛の低形成
 - 3) 骨隔壁の低形成 (Mondini)
 - 4) 共通腔 (common cavity)
 - C. 迷路奇形
 - 1) 半規管異形成
 - 2) 半規管無形成
 - D. 水管の奇形
 - 1) 前庭水管拡大
 - 2) 蝸牛水管拡大
 - E. 内耳道の奇形
 - 1) 内耳道狭窄
 - 2) 内耳道拡大

し, それぞれの聴覚検査所見について述べる。

I. 内耳奇形の型と聴力像

Jackler らの分類²⁾にしたがって, 彼らの聴力レベルの解析結果を表2に示す。図1は蝸牛の異常を伴う内耳奇形について, 図2は蝸牛の異常を伴わない半規管・前庭の内耳奇形について, 筆者³⁾が改変し, それぞれ発達が停止した胎生時期順に示した。

Michel 型は内耳の完全欠損であり, 当然ながら聴力はスケールアウトである。

Bの蝸牛奇形を伴う群の中で最も頻度が高いものは, 一般的に Mondini 型奇形と呼ばれている奇

* 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〕

表 2 内耳奇形の分類と平均聴力 (Jackler ら)²⁾

型	耳数	0~40	41~80	81~100	101~120	>120 dB *
A 内耳の完全欠損 (Michel)	1	—	—	—	—	1
B 蝸牛奇形を伴うもの						
蝸牛・前庭が共通腔	19	1	6	—	3	9
蝸牛無形成	2	—	—	—	1	1
蝸牛低形成	11	6	3	1	—	1
蝸牛回転の隔壁欠損 (Mondini)	41	7	15	4	7	8
C 蝸牛奇形を伴わないもの						
前庭・半規管の形成不全	7	5	—	1	1	—
D 前庭水管の拡大	17	7	4	4	2	—

* 500, 1000, 2000 Hz の平均聴力

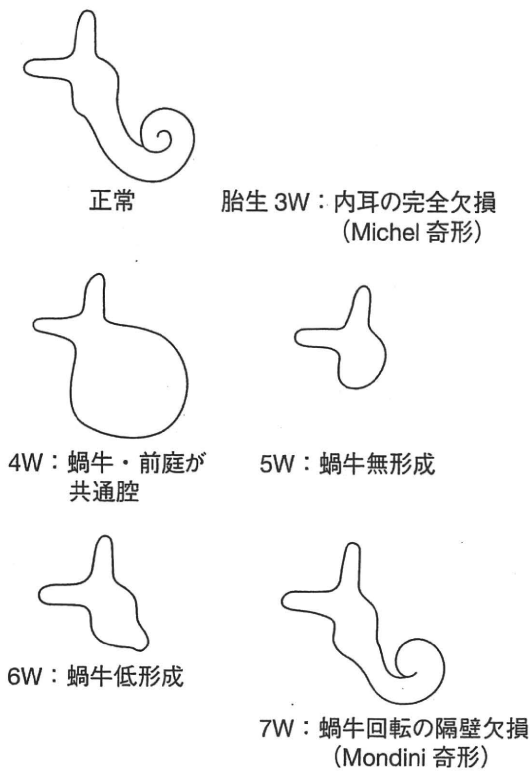


図 1 蝸牛の異常を伴う内耳奇形 (Jackler²⁾より
改変)³⁾
発達が停止した胎生時期を示す。

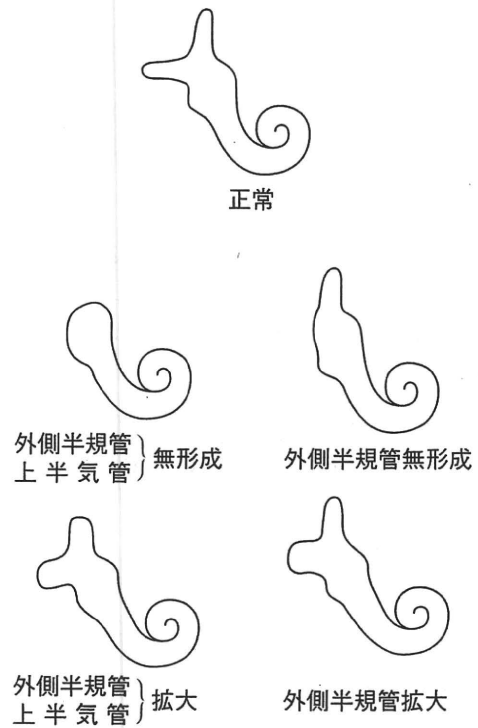


図 2 蝸牛の異常を伴わない内耳奇形 (Jackler²⁾
より改変)³⁾
胎生 6 週~22 週における発達の停止による。

形である。これは、胎生 7 週目の異常で、蝸牛軸が不完全で基底回転 (第 1 回転) までは発達しているが、それよりも distal の回転間の隔壁が欠損し、中・頂回転が合わさって嚢状に置き換わったものである。コルチ器・有毛細胞と聴神経終末の欠損程度にはバラツキがあり、表 2 に示したように難聴も軽度から高度までさまざまである。

次に多いのは胎生 4 週目の異常で、蝸牛と前庭

が大きな共通した腔となって蝸牛の回転が形成されていない共通腔 common cavity 型と呼ばれているものである。聴力は表 2 に示すように不良なものが多いが、意外にも中等度の低下にとどまるものもある。

次いで、蝸牛低形成型では聴力低下は軽度のものが多いことがわかる。

C の蝸牛の異常を伴わない半規管・前庭の内耳

奇形は、表2に示したように、蝸牛形態が正常であるために、聴力低下も軽度なものが多いが、一方、高度な難聴を伴うこともある。

Dの前庭水管拡大を伴う奇形では聴力低下は軽度なものから高度まで幅広く分布し、変動性であり、また、低音域の気骨導差の存在が認められることが多い。このために聴力レベルの割に補聴効果が出やすいことが特徴的な点としてあげられる。

II. 内耳奇形の型とラセン神経節の残存

内耳奇形でも型によってはラセン神経節がある程度数は形成されていることは組織学的にも確認されている。Jacklerら⁴⁾は共通腔型の2耳、蝸牛低形成の2耳、Mondini型奇形の1耳の計5耳に初めて単チャンネル方式人工内耳を埋め込み、音知覚を生ず得ることを確認した。以来、多チャンネル方式の人工内耳についても内耳奇形で有効であることが多数報告されている。

Schmidt⁵⁾によれば、正常人のラセン神経節数は25,000から35,000であるのに対し、Mondini型内耳奇形では7,677から16,110、平均11,478であったと報告している。さらにラセン神経節は共通腔奇形や蝸牛軸形成不全の奇形ではその耳胞壁に存在していると報告した。したがってこれらの内耳奇形でも必ずしも人工内耳が無効ではないと考えられる。ただし、周波数情報を十分に伝えるには、蝸牛の回転がある程度形成されている奇形、すなわちMondini型奇形の方が共通腔型奇形よりも聴取成績の点では有利であろう。Michel型奇形および蝸牛無形成の場合にはラセン神経節の形成もなく、人工内耳の適応とはならない。

III. 前庭水管拡大症(Large vestibular aqueduct syndrome, 以下LVASと略す)

1. 概説

1978年にValvassoriとClemis⁶⁾によって報告された内耳奇形であり、内リンパ嚢と前庭水管の拡大を特徴とする。CT、MRIなど画像診断が先天性難聴児の画像診断に用いられるようになってから発見頻度は増え、内耳奇形の中でも最も頻度の高い奇形であるとされている⁷⁾。

側頭骨の高分解能CTでは拡大した前庭水管が

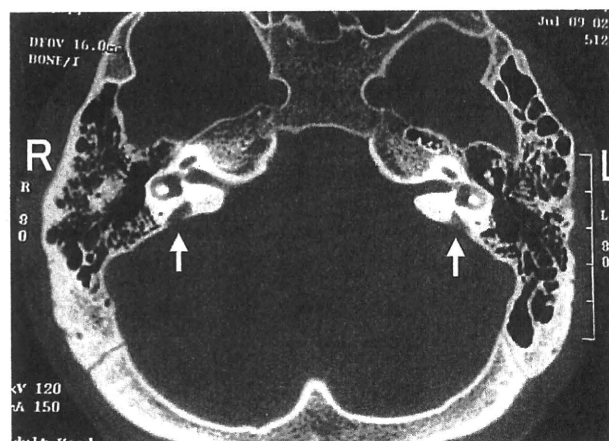


図3 前庭水管拡大症のCTスキャン
矢印：拡大した両側の前庭水管を示す。

前庭に直結している所見が認められる(図3)。合併する奇形として、半規管の異常、拡大した前庭、Mondini奇形の合併などがある。

2. 症状

小児期に発症して、時に頭部の外傷を契機として、めまい発作を反復しながら次第に進行し、ついには高度難聴となる難治性疾患として知られている。

3. 遺伝学的異常

本疾患は常染色体劣性遺伝であり、Abeら⁸⁾は7番染色体長腕(7q31)に原因遺伝子が存在することを報告した。この領域は先天性感音難聴と甲状腺腫を伴うPendred症候群の原因遺伝子であるPDS遺伝子の存在する領域であるが、Usamiら⁹⁾はPDS遺伝子が同時にLVASの原因遺伝子であることを明らかにし、両者はPDS遺伝子変異による表現型が異なる一連の疾患群であることを報告した。

4. 聴覚検査所見

46~65%に小児期の難聴があり、15~25%に低音域の気骨導差の存在が認められるという¹⁰⁾。低音域における気骨導差の存在に対しては明白な機序は不明であるが、内リンパ圧の上昇によるアブミ骨の可動性の低下も一因として推測される。

内耳障害の機序としては拡大した前庭水管を通

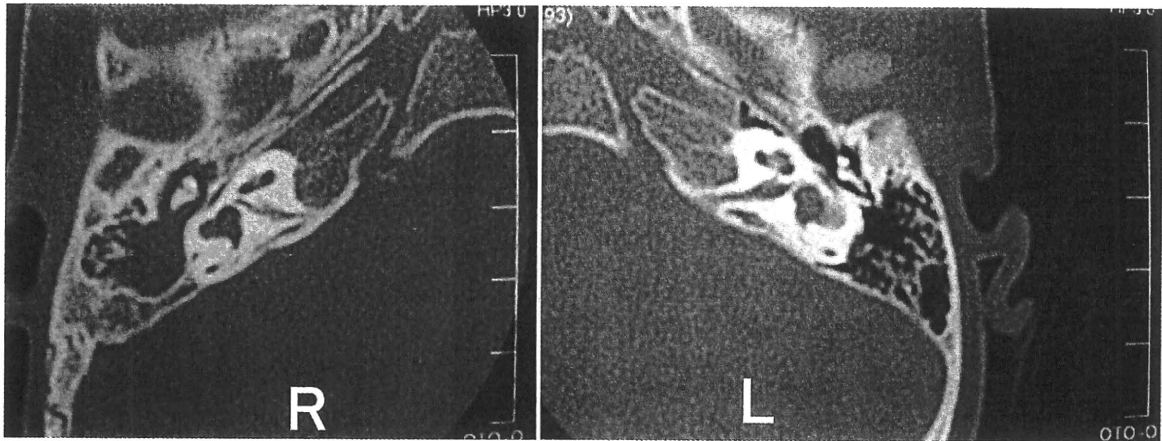


図4 両側内耳道狭窄症の側頭骨 CT
右滲出液の貯留、外側半規管の奇形および両側内耳道の狭窄が認められる。

じて脳圧が内耳に伝わり、内耳の症状を誘発するものと考えられる。悪化に頭部外傷が契機となることはこれを裏付ける。時には膜迷路が破綻し、急激な聴力低下をきたし、最終的にはコルチ器の障害をきたすものと推測される。しかし、進行性の内耳障害をきたす他の因子の存在も否定できず、複数の機序が存在する可能性もある。

5. 治療

急性増悪時には突発性難聴に準じた副腎皮質ステロイド投与が行われ、ほとんどの例で奏効する。通常、1~2週間の投与で回復することが多い。しかし、頻回のめまい発作例では副作用のために投与を中止せざるを得ない例も多い。また長期的には次第に聴力が悪化するのを阻止できない場合が多く、最終的に人工内耳の適応となる例も多い。

これまでに LVAS 症例の拡大した内リンパ嚢を充填する手術が行われて、これを無効とする報告¹⁰⁾と、有効とする Wilson ら¹¹⁾、内藤ら¹²⁾の報告がある。

われわれは、乳突洞削開後に細い硬性内視鏡を硬膜と側頭骨の間に入れて空間を確保し、内リンパ嚢が側頭骨内に入ってゆく部位を確認し、そこでチタン製クリップを用いて内リンパ嚢をクリッピングする新しい術式を考案した^{13,14)}。本術式は内リンパ嚢の切開を行わずに済み、また圧迫による内リンパ圧の急激な上昇も避けられ、内耳に対

する侵襲がこれまでの術式に比べて少なく、聴力保存については内リンパ嚢充填術よりも小侵襲のクリッピング術が有利であった。進行性に 80 dB 程度まで悪化し、かつ、保存治療で改善が期待できなくなった場合には外科的療法の 1 つとして試みられて良いと考える。

IV. 内耳道奇形

1. 概説

ときに先天奇形あるいはクモ膜嚢胞による内耳道拡大が認められることがあるが、この場合、聴力は正常であることが多い。

先天性の内耳道狭窄は蝸牛前庭神経の形成不全が二次的に内耳道の狭窄を引き起こすと考えられている¹⁵⁾。両側内耳道狭窄症は極めて稀である¹⁶⁾。両側内耳道狭窄症例の側頭骨 CT を図 4 に示す。

2. 内耳道狭窄症の聴覚検査所見

ほとんどの例で聴神経の低形成に伴う高度難聴が認められる。基本的に両側内耳道狭窄症は画像から診断がなされることがほとんどであり、最終的に人工内耳の適応決定、有効性予測の判断が問題となる。

画像診断で高度の両側内耳道狭窄症例あるいは内耳奇形が認められる症例に対して、われわれが行う聴覚検査ならびに画像診断のフローチャートを図 5 に示す。

BOA, COR の聴性行動反応検査, ABR, 聴性定常反応検査 (ASSR: auditory steady-state response) などの検査で聴覚反応がある程度認められた場合, 一般的には純音聴力検査の閾値が 100 dB 未満で補聴器装用閾値が 60 dB 未満であれば補聴器の適応である。一方, 高度難聴でも聴覚反応がわずかにあり, かつ MRI で蝸牛神経が明らかに確認できれば, 電気刺激 ABR (EABR) を施行せずとも人工内耳適応ありとして問題ない。

しかし, 聴覚反応がほとんどなく, さらに MRI で聴神経が同定困難である場合には最終的には全身麻酔下で鼓膜から電極刺入し, これによる電気刺激 ABR (electrically induced ABR: EABR) を行うことで適応を決定する。高橋, 熊川ら¹⁷⁾は EABR で反応が認められた両側内耳道狭窄症例に人工内耳埋め込み手術を行い, その有効性を報告した。

V. 当院の高度難聴乳幼児の精密聴力検査システム

現在, 難聴が疑われる乳児・幼児では, 通常は聴性行動反応聴力検査 (BOA), 条件詮索反射聴力検査 (COR), 聴性脳幹反応検査 (ABR) を行う。しかし行動観察方式の問題点として適応年齢, 再現性, 左右別の閾値測定が困難, 重複障害児における正確さの問題がある。また ABR の問題点としてクリック音を使うために低音域の聴力が反映されず, 補聴器の装用効果を予測しにくいという難点がある。このため対象児の年齢が小さくなればなるほど, 耳鼻咽喉科医は難聴の程度と聴力像の提示に難渋しているのが現状である。

また, 画像検査も必要であり, 各検査毎に通院と睡眠剤の投与を行うのは, 患児, 両親, 医師のいずれにとっても負担であった。

そこで, われわれは乳幼児の精密聴力検査のシステムとして, 周波数特性を持ち, かつ他覚的な聴力検査である蝸電図検査 (electrocochleography: ECoG), 聴性定常反応検査 (ASSR) に加えて, 岬角電気刺激による EABR と CT, MRI も組み合わせ, 短期間の入院で乳幼児の検査を効率的に行うシステムを考案し, 同一小児群を対象にした検討で以下の結果を得た¹⁸⁾。

1) 鼓室内誘導法による ECoG と ASSR 検査を

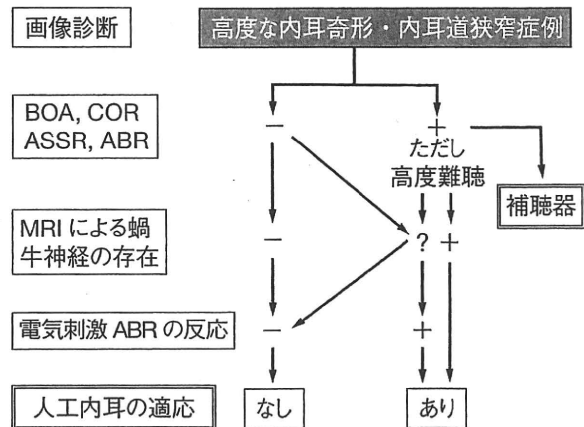


図 5 高度な内耳奇形・内耳道狭窄症の検査フローチャート

行うことで ABR 無反応耳の 82% において低音域周波数の域値測定が可能となった。

2) 鼓室内誘導法による ECoG は ASSR よりも反応閾値は 5~15 dB 低く, その差は低音域ほど大きく, ECoG の反応検出率は ASSR の 2 倍高かった。

3) EABR は聴覚反応の得られない内耳道狭窄症例など蝸牛神経の形成不全が考えられる例ではきわめて有効な人工内耳の適応決定手段と考えられた。

おわりに

内耳奇形の診断には聴覚検査のみならず, 画像検査, 遺伝学的検査も併せて行い, EABR 検査が人工内耳の適応と有効性を予測する上で有用であることを述べた。

本研究は平成 20 年度厚生労働科学研究費補助金によって行われた。

文献

- 1) Jensen J: Malformation of the inner ear in deaf children. Acta Radio (Suppl 286): 1-97, 1969.
- 2) Jackler RK, Luxford WM, House WF: Congenital malformation of the inner ear; A classification based on embryogenesis. Laryngoscope 97 (Suppl 40): 2-14, 1987.
- 3) 熊川孝三: 幼少児難聴の画像診断—内耳奇形と人工内耳—。耳鼻と臨床 40: 95-99, 1994.
- 4) Jackler RK, Luxford WM, House WF: Sound detec-

- tion with cochlear implant in five cases of four children of the cochlea. *Laryngoscope* **97** (suppl 40) : 15-17, 1987.
- 5) Schmidt JM : Cochlear neuronal populations in developmental defects of the inner ear ; Implications for cochlear implantation. *Acta Oto-Laryngologica* **99** : 14-20, 1985.
 - 6) Valvassori GE, Clemis JD : The large vestibular aqueduct syndrome. *Laryngoscope* **88** : 723-748, 1978.
 - 7) Smith SD, Harker LA : Single gene influences on radiologically-detectable malformations of the inner ear. *J Commun Disord* **31** : 391-410, 1998.
 - 8) Abe S, Usami S, Shinkawa H : Three familial cases of hearing loss associated with enlarged vestibular-aqueduct maps to 7q31, the region containing the Pendred gene. *Am J Med Genet* **82** : 322-328, 1999.
 - 9) Usami S, Abe S, Weston MD, et al : Non-syndromic loss associated with enlarged vestibular aqueduct is caused by PDS mutations. *Hum Genet* **104** : 188-192, 1999.
 - 10) Zalzal GH, Thomaski SM, Vezina LG, et al : Enlarged vestibular aqueduct and sensorineural hearing loss in childhood. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* **121** : 23-28, 1995.
 - 11) Wilson DF, et al : Endolymphatic sac obliteration for large vestibular aqueduct syndrome. *Am J Otol* **18** : 101-107, 1997.
 - 12) 内藤 泰, 高橋晴雄 : 前庭水管の手術について. *耳鼻臨床* **93** : 802-803, 2000.
 - 13) 熊川孝三, 高橋優宏, 武田英彦, 他 : 前庭水管拡大症に対する内視鏡使用による内リンパ嚢クリッピング術. *Otol Jpn* **13** : 251, 2003.
 - 14) 熊川孝三, 宇佐美真一 : 前庭水管拡大症. *JOHNS* **21** (9) : 1199-1201, 2005.
 - 15) Nelson EG, Hinojosa R : Aplasia of the cochlear nerve ; A temporal bone study. *Otol Neurotol* **22** : 790-795, 2001.
 - 16) Camacho RR, Berrocal JRG, Arellano B : Bilateral malformation of the internal auditory canal ; Atresia and contralateral transeverse megacrest. *Otolaryngol Head Neck Surg* **125** : 115-116, 2001.
 - 17) 高橋優宏, 熊川孝三, 武田英彦, 他 : 人工内耳埋め込みが有効であった両側内耳道狭窄頭の1症例. *Otol Japan* **14** : 248-251, 2004.
 - 18) 熊川孝三, 鈴木久美子, 武田英彦, 他 : 短期入院による乳幼児の他覚的精密聴力検査システムを紹介および ABR, 蝸電図, 聴性定常反応, EABR の検討一. *Audiology Japan* **48** : 156-164, 2005.

* * *

サイトメガロウイルス

坂田 英明¹⁾ 富澤 晃文¹⁾ 大石 勉²⁾ 荒井 孝²⁾

はじめに

先天性サイトメガロウイルス(CMV)感染症は、胎内感染の中で最も頻度が高くよく知られている疾患である¹⁾。CMVによる先天性感染が重症である場合は、難聴、低出生体重、小頭症、脳の石灰化、肝脾腫などを合併するため本疾患を疑いやすい。しかし、約90%は不顕性感染でありほとんど所見がないためすべての新生児の診断は困難であるのが現状であった。

先天性CMV感染症の診断については検査時期に問題があり、外来初診時が生後3週間以内と生後3週間以降について分けなければならない。外来初診時が生後3週間以降である場合は、後天性感染が疑われることになる。

産科を中心に1997年より始まった新生児難聴の早期発見を目的とした新生児聴覚スクリーニング(NHS)が各地で盛んに行われており、現在全国で約65%の受診率となっている²⁾。最近、産科でNHSとCMV検査の両方を検査項目にいれている病院もあり、CMV検査陽性例に対しては難聴の有無にかかわらず頭部MRIが早期に施行可能になり、将来の運動障害や発達障害の診断の一助になっている。

先天性CMV感染症診断後の治療については、従来は症候性の先天性CMV感染症に対してのみ行われていた薬物治療も、CMV検査陽性で両側高度感音難聴と診断された症例に対しては、家族の同意のもと治療が行われるようになってきた。

本稿では、先天性CMV感染症の最近の知見について診断・聴覚障害・治療・頭部MRI所見などを中心に解説する。

先天性CMV感染症の診断

CMV感染症の診断では尿、唾液、血液、髄液などからのPCR法(real time法)による検査が一般的である。初診が生後3週間以内の場合は尿から施行する(尿パックをあて約0.5cc採取)。初診が生後3週間以降の場合は、後天性感染も考慮しなければならない。この場合はガスリー検査として使用された乾燥濾紙を用いる。ガスリー検査の乾燥濾紙は地域により検査センターが異なるため、問い合わせを行い借用することが多い。ガスリー検査で使用した乾燥濾紙が残存していない場合は、両親に臍帯保存の有無を聞き、保存している場合は臍帯に付着する乾燥血液を使用しCMVのDNAを検査する。

筆者が関係した施設で、産科よりNHS後に要再検査となりCMV検査を施行したのは162例であった。初診が生後3週間以内で尿中PCR法により検査したのが77例(47.5%)、初診が生後3週間以降でガスリー検査用の乾燥濾紙が残存しており使用したのが67例(41.4%)、臍帯を使用したのが18例(11.1%)であった(図1)。

また、先天性CMV感染症で忘れてならないのはウイルスの再活性化である。このことは極めて重要であり、血液や尿中のウイルス量の有無や推移は常に把握していなければならない。

さかた ひであき、とみざわ あきふみ、おおいし つとむ、あらい たかし

1) 目白大学クリニック耳鼻科 〒339-8501 さいたま市岩槻区浮谷 320 2) 埼玉県立小児医療センター感染免疫科

聴覚障害

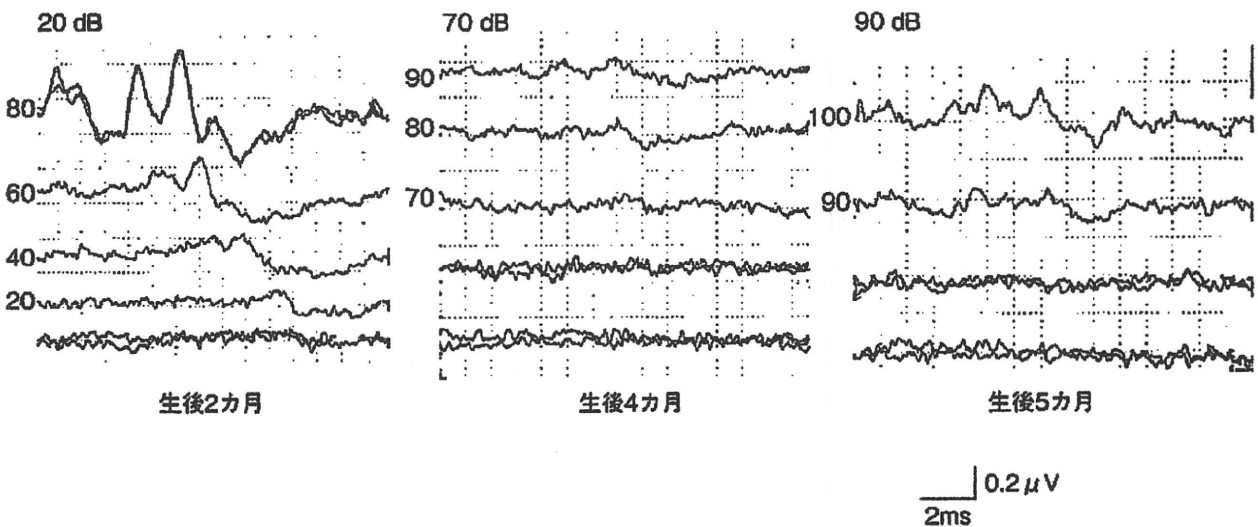
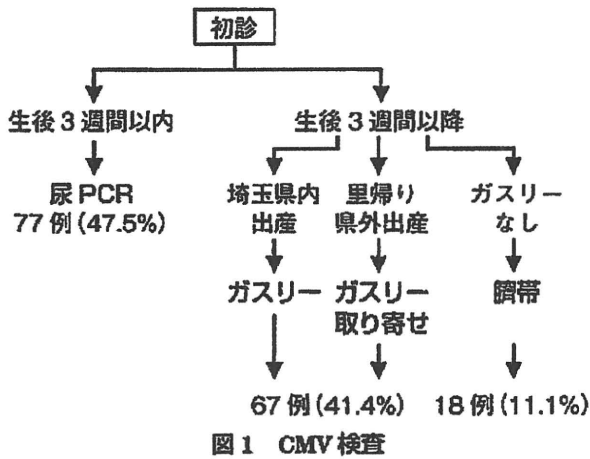
先天性 CMV 感染症の所見の中に聴覚障害があることは以前よりよく知られていた。先天性難聴の約 20% は先天性 CMV 感染症であるとの報告もある。しかし、報告の多くは症候性の先天性 CMV 感染症で NICU などに入院した場合行った聴性脳幹反応 (ABR) などで難聴と診断された症例であった。新生児期は中耳間葉系の遺残や乳突洞の含気不全、発育不良などによる伝音難聴の場合もあり聴力が変動することも多いので聴覚は 2

歳頃までは経過観察しなければならない³⁾。したがって、先天性 CMV の感音難聴との鑑別には慎重でなければならない。

先天性 CMV 感染症の聴力障害には、両側性や一側性がある。難聴の程度は中等度難聴も若干存在するが、ほとんどは両側性の高度難聴である。先天性難聴、進行性難聴、遅発性難聴など CMV の再活性化などのためいくつかのパターンがあり複雑である。

筆者が関係した施設で、産科より NHS 後に要再検査となり CMV 検査を施行した CMV 陽性例は 162 例中 8 例 (4.9%) であり、このうち 7 例 (87.5%) は両側高度感音難聴であった。CMV 検査は陽性であったが聴力正常だったのは 1 例あり、この症例はその後難聴出現の可能性があり得るので 3 カ月ごとの厳重経過観察としている。

この結果は大変重要なことを示唆している。すなわち、先天性 CMV 感染症による遅発性難聴の診断である。出生時に行った NHS がパスしても後に難聴が出現するタイプには、遷延性肺高血圧 (PPHN)、前庭水管拡大症、先天性 CMV 感染症、一部の遺伝子異常などがあるが先天性 CMV 感染症は治療もあるため、特に重要である。図 2 に、出生時は聴力正常であるも、後に難聴をきたした



聴力悪化例の先天性CMV感染症のABRを示す。

先天性CMV感染症の治療

CMV検査陽性でABR検査で両側高度感音難聴と診断された症例に対しては、入院管理とし抗ウイルス薬(GCV:ガンシクロビル)を原則6週間、体重当たり12mgを1日投与量とし点滴投与する場合がある^{4,5)}。しかし、これらはCMVを疑わせる所見があり、たまたま難聴も合併していたため治療したという報告である。本来不顕性感染がほとんどであるCMVではいかに多くの症例をスクリーニングし治療対象とするかが重要となる。しかし、現在この治療は未だ一般的ではない。したがって、各施設の倫理委員会で十分な審議がなされた後、両親へのきちんとした説明があり十分納得が得られた症例を治療対象としなければならない。点滴投与が困難になった場合は内服の抗ウイルス薬(VGCV:パリキサ)を投与することもある。副作用は薬剤の性質により、血小板減少、静脈炎などが多い。

治療開始時期については、我々の検討では聴力が著明に改善した1例は、生後1カ月であった。それ以外の聴力が不変であった症例は治療開始時期が遅れていた。伊藤ら⁶⁾の報告ではGCV投与後難聴が改善した2例は生後2日目より開始している。治療開始時期については、できるだけ早期がよい結果に結びつくのかもしれないため今後十分に検討する必要がある。

現在使用されているGCVは毒性が強いことが知られており、今後は早期治療が可能となった場合の新生児に投与することを考慮し、毒性の軽減された薬剤の開発や、難聴に限って言えば局所投与などが望まれる。

GCVによる難聴改善の機序については不明な点が多い。経胎盤感染によるCMVモルモットでは内耳のらせん神経節にCMV感染の局在を示したとする報告がある⁷⁾。しかし一般に動物とヒトではウイルスは同じであっても発症機序は異なる

ことが多いためヒトでのCMV感染の基礎的報告が重要である。

治療対象であるが、ほとんど残存聴力がない両側高度難聴は治療の理解が得られやすい。しかし問題は、中等度・軽度・一側性難聴の場合と進行性・遅発性難聴の場合である。これらの場合は、明確な治療指針がなく症例に応じ適宜検討が必要となる。今後早急に整備されなければならない。

症例：CMVに対する治療により聴力が著明に改善した1例

症例は在胎41週、2,782gで正常分娩。初診が生後1カ月の男児。新生児聴覚スクリーニング(OAE)にて両側要再検査となり紹介された。顕微鏡下で耳内所見なく、ABR右70dB、左無反応であった。トーンバースト500Hzは両側無反応であった。ABRで右のI波の潜時延長はなく、聴器CTにて乳突洞、上鼓室を含めた中耳の含気は良好であり伝音難聴を示唆する所見はなかった。

尿中PCRにてCMV-DNA陽性、ガスリーPCRにてCMV-DNA陽性、遺伝子検査ではCox26変異なし、頭部MRI、CTにて多小脳回、石灰化が認められた(図3)。

以上の検査所見により先天性CMV感染症による先天性感音難聴症例と診断し直ちに入院治療とした。治療経過(表)と聴力の推移(図4)を示す。治療開始より25日目に静脈炎がひどくなり12日間休業とし、VGCV内服に切り替えた。聴力は尿中PCRの低下とともに改善し、現在ほぼ正常化した。

この症例のようにNHS後の検査で耳鼻科を受診しCMVを検査することでCMV感染症を早期に診断できれば、治療可能なCMV感染症が存在することは極めて重要である。

先天性CMV感染症の頭部MRI

症候性の先天性CMV感染症については、これ

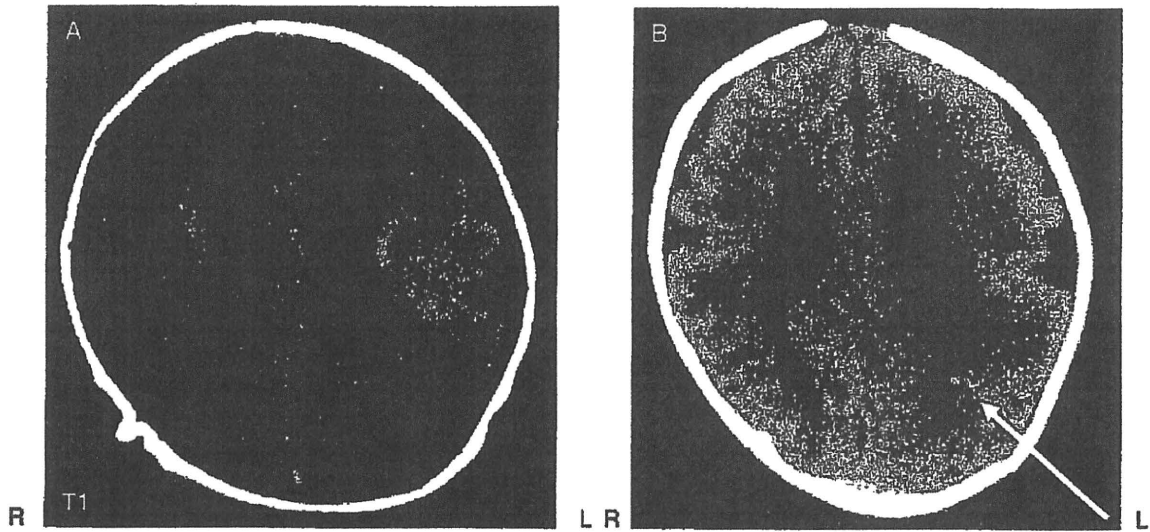


図3 頭部画像所見

A: MRI B: CT

両側大脳半球の多小脳回, 小頭症, 石灰化

表 治療経過

		初診日	2日目	11日目	25日目	38日目	95日目
血液 PCR (copies/ μ g DNA)		2 (単核球中)	/	(-)	(-)	(-)	(-)
尿 PCR (copies/mL)		5.2×10^5	/	1.2×10^4	8.9×10^3	(-)	(-)
唾液 PCR (copies/mL)		7.3×10^6	/	/	/	/	(-)
ABR	(右)	70 dB	/	30 dB	20 dB	20 dB	20 dB
	(左)	NR	/	80 dB	80 dB	60 dB	40 dB
治療			GCV 12 mg/kg/day			VGCV 28 mg/kg/day	

までも頭部 MRI は行われてきており周知の通りである。重要なことは先天性 CMV 感染症がスクリーニングされ始めてきたことにより、多くの先天性 CMV 感染症の頭部 MRI 所見が明らかになってきたことである。現在発達障害と診断されている症例に特に MRI は施行していないが、ある程度先天性 CMV 感染症が存在しているであろう。

また、最近では先天性 CMV 感染症でも頭部 MRI で所見がない症例や早期治療した症例の頭部 MRI 所見を治療前後で比較検討できるようになった。

図 5, 6 に先天性 CMV 感染症に特徴的な頭部 MRI 所見を示す。

印象としては、CMV 検査陽性で、頭部 MRI で所見がない場合は難聴がなく、遅発性にも難聴にならない傾向がある。今後はより多くの症例で運動障害や発達障害との関係も明らかにしなければならない。

おわりに

現在日本や欧米での CMV 抗体保有率が以前に

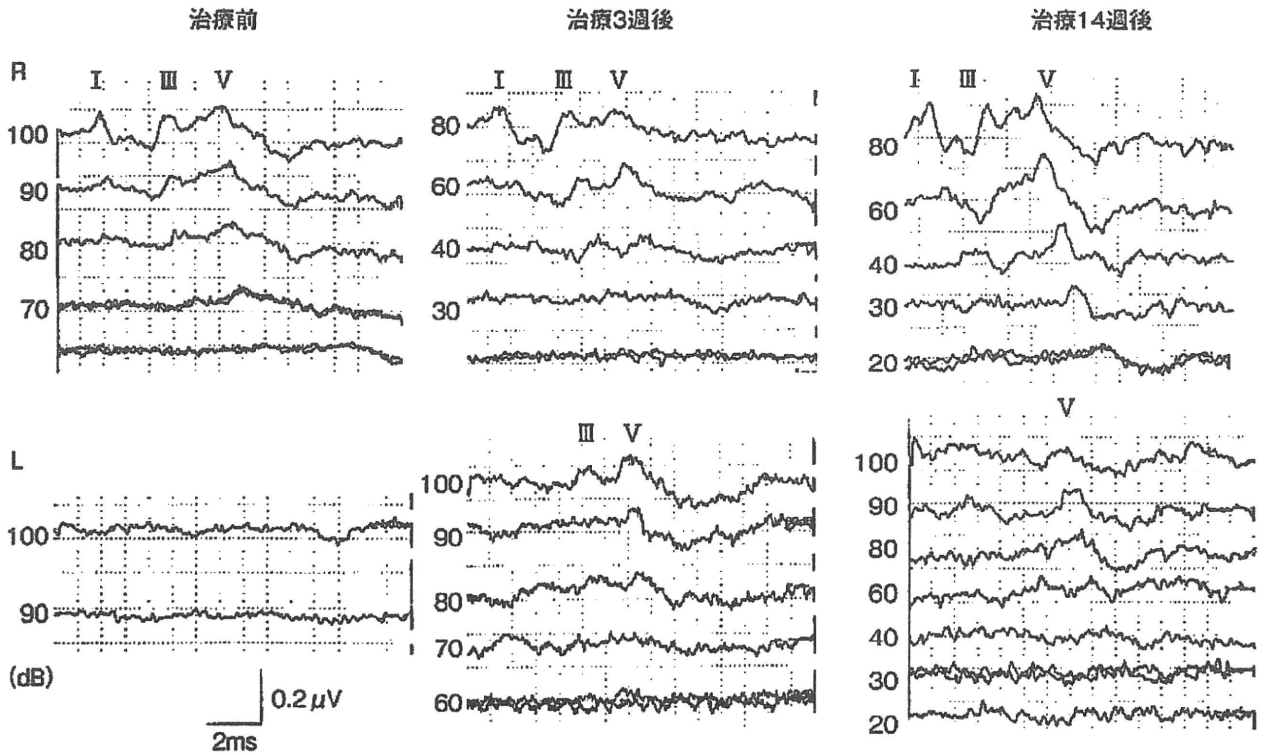


図4 治療前後の ABR

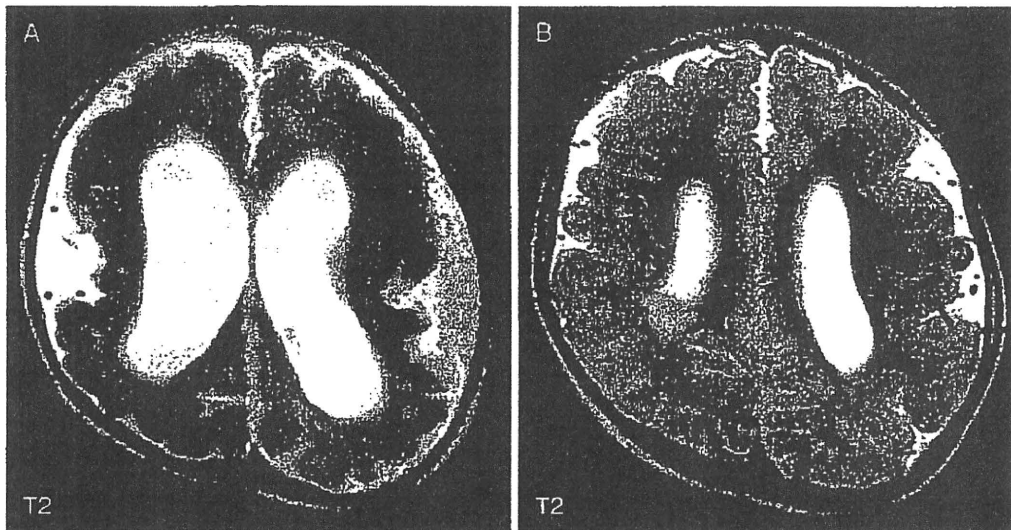


図5 先天性 CMV 感染症の MRI 所見 1

A: 脳室拡大 B: 皮質形成異常

比べ急速に低下していることを考えれば、妊娠中に感染することは十分考慮しなければならず、早期に CMV を検査することで先天性難聴の治療が可能となり聴力が改善する症例があることは事実

であり、今後全新生児を対象とした CMV 検査のスクリーニングとしての有用性が議論されることが考えられる。

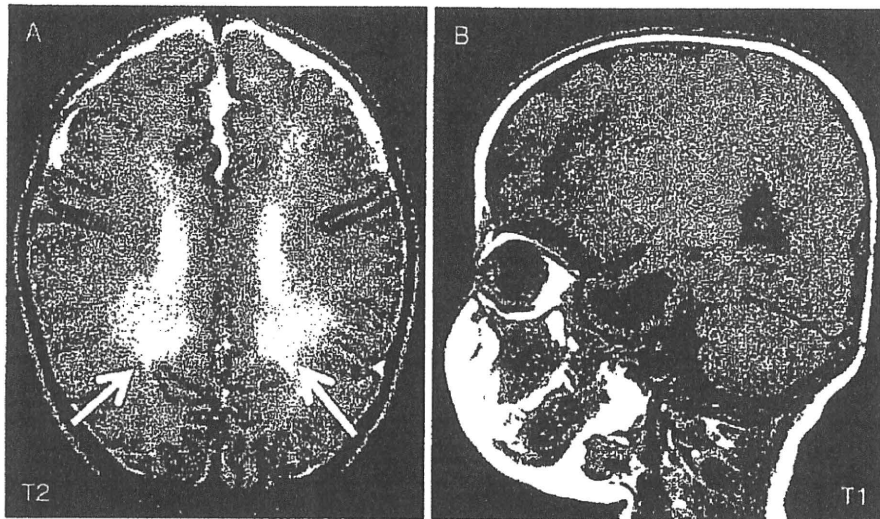


図6 先天性CMV感染症のMRI所見2
A: 白質病変 B: 側脳室下角拡大

文献

- 1) Saigal S, Lunyk O, Larke RPB, et al : The outcome in children with congenital cytomegalovirus infection : a longitudinal follow-up study. *Am J Dis Child* 136 : 896-901, 1982
- 2) 三科 潤 : 新生児聴覚スクリーニングの効率的実施および早期支援とその評価に関する研究. 厚生労働科学研究費補助金子ども家庭総合研究事業平成 17 年度研究報告書, pp1-6, 2006
- 3) 坂田英明, 安達のかか, 加我君孝 : 先天性サイトメガロウイルス感染症検査と発見後の治療について. *日耳鼻* 110(4) : 304, 2007
- 4) Michaels MG, Greenberg DP, Sabo DL, et al : Treat-

ment of children with congenital cytomegalovirus infection with ganciclovir. *Pediatr Infect Dis J* 22(6) : 504-509, 2003

- 5) Tanaka N, Sugaya N, Futatani T, et al : Ganciclovir therapy for congenital cytomegalovirus infection in six infants. *Pediatr Infect Dis J* 24(9) : 782-785, 2005
- 6) 伊藤瑞恵, 福山優子, 藤田浩史, 他 : ガンシクロビル投与後難聴が改善した先天性サイトメガロウイルス感染症の 2 例. *日児誌* 108(8) : 1051-1055, 2004
- 7) Katano H, Sato Y, Tsutsui Y, et al : Pathogenesis of cytomegalovirus-associated labyrinthitis in a guinea pig model. *Microbes and Infection* 9 : 183-191, 2007

* * *