

遺伝性難聴疑い症例のミトコンドリア DNA ハプログループ解析

分担研究者：喜多村健（東京医科歯科大学耳鼻咽喉科）

共同研究者：加藤智史（東京都健康長寿医療センター耳鼻咽喉科）

共同研究者：野口佳裕（東京医科歯科大学耳鼻咽喉科）

共同研究者：福典之（東京都健康長寿医療センター健康長寿ゲノム探索）

共同研究者：田中雅嗣（東京都健康長寿医療センター健康長寿ゲノム探索）

研究要旨

遺伝性難聴が疑われた患者 373 人の血液から抽出した DNA に対し、m. 1555A>G または m. 3243A>G 変異が同定された 20 名を除いた 353 名とコントロール群 480 名のミトコンドリアハプログループ解析結果を比較検討した。ハプログループ D4b に属するものが患者群で有意に多かった。今後、難聴においてもミトコンドリア多型やハプログループの解析を進めることの意義を確認した。

研究目的

これまでにミトコンドリア DNA (以下 mtDNA) の多型の組み合わせであるハプロタイプをグループ化した mtDNA ハプログループと、様々な疾患や長寿との関連が報告されて来た。今回我々は難聴についてもハプログループとの関連を予想し、遺伝性難聴疑い症例の mtDNA ハプログループ解析を行う。

研究方法

東京医科歯科大学耳鼻咽喉科で遺伝性難聴を疑われたすべて別家系の 373 名のうち、以前の研究で m. 1555A>G 変異と m. 3243A>G 変異を同定した 20 名を除いた 353 名を難聴群とし、480 名の健常者を対照群とした。mtDNA の一塩基多型 (mtSNP)

のデータベース (<http://mitsnp.tmig.or.jp/mitsnp/index.shtml>) と、日本人の分子系統樹 (Tanaka et al. 2004) を用いて、ハプログループの分類を行った。日本で多く認める 12 のハプログループ (F, B, A, N9a, N9b, M7a, M7b, G1, G2, D4a, D4b, D5) に分類した。具体的には、血液から抽出した DNA を用いて Luminex100 によるサスペンションアレイ法を行い、両群の比較にはカイ二乗検定を用いて解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は東京都健康長寿医療センター健康長寿ゲノム探索チームと共同で実施した。また血液採取と DNA 抽出および遺伝子解析は、書面による患者の承諾を得た上でを行い、東京医科歯科大学の倫理委員

会により承認されている。

研究結果

難聴群は男性 138 名女性 215 名(年齢 0 歳～84 歳、平均 40.8 歳)、対照群は男性 143 名女性 337 名(年齢 23 歳～85 歳、平均 54.5 歳)であった。難聴群で 77.6%、対照群で 73.3%が 12 ハプログループに属した。難聴群でハプログループ D4b に属する者は 37 名(10.5%)であり、有意に多く認められた [$p=0.0361$, オッズ比 1.70 (95%信頼区間 1.03-2.79)]。ハプログループ D4b に属する患者をさらに分けると、D4b1 に 5 名(1.4%)でありほとんどは D4b2 (32 名, 9.1%)に属し、実質この差異は D4b2 に起因するものであった。対照群との比較では、D4b1 では有意差は認めず、D4b2 で有意に多かった [$p=0.0206$, オッズ比 1.89 (95%信頼区間 1.09-3.28)]。

考察

ハプログループ D4b は m.514delCA、m.8020G>A で、さらにサブハプログループ D4b2 は m.1382A>C、m.8964C>T、m.9824T>A の多型で規定される。m.8020G>A、m.8964C>T、m.9824T>A は同義置換である。m.514delCA は転写複製を担う制御領域の

多型であり、これまでに骨格筋細胞内の mtDNA 含量が少なくミトコンドリア機能に関連すると報告された(Murakami et al. 2002)。また m.1382A>C は 12S rRNA 領域に存在し、これにより stem-loop の二次構造に変化を及ぼす多型であり、また 12S rRNA 領域は難聴の原因変異のホットスポットである。我々はこれらの多型が難聴の発症に関与している可能性を示した。

結論

遺伝性難聴疑い症例の mtDNA ハプログループ解析を施行し、難聴群でハプログループ D4b を有意に多く認めた。難聴においても、mtDNA ハプログループとの関連が示唆された。

研究発表

- 1 論文発表 未発表
- 2 学会発表 加藤智史、野口佳裕、木村百合香、喜多村健：遺伝性難聴疑い症例のミトコンドリア DNA ハプログループ解析. 第 21 回日本耳科学会学術講演会 沖縄、2011 年 11 月

知的財産権の出願 登録状況

なし

表 1. 各ハプログループに属した割合と
人数

ハプロ グルー プ	難聴 群, % (人)	コントロール 群, % (人)
F	9.1 (32)	6.9 (33)
B	14.7 (52)	11.7 (56)
A	6.8 (24)	7.3 (35)
N9a	3.4 (12)	2.9 (14)
N9b	3.1 (11)	2.1 (10)
M7a	7.4 (26)	9.0 (43)
M7b	6.2 (22)	5.0 (24)
G1	3.4 (12)	4.8 (23)
G2	2.0 (7)	3.1 (15)
D4a	7.9 (28)	8.6 (42)
D4b	10.5 (37)	6.5 (31)
D5	3.1 (11)	5.4 (26)
その他	22.4 (79)	26.7 (128)
Total	100 (353)	100 (480)

日本人家系における非症候群性常染色体優性遺伝性難聴 DFNA 5 の検討

分担研究者 喜多村 健 (東京医科歯科大学耳鼻咽喉科)
共同研究者 西尾 綾子 (東京医科歯科大学耳鼻咽喉科)
共同研究者 野口 佳裕 (東京医科歯科大学耳鼻咽喉科)
共同研究者 佐藤 達也 (東京医科歯科大学医学部医学科)
共同研究者 高木 明 (静岡県立総合病院頭頸部・耳鼻いんこう科)
共同研究者 木村 彰方 (東京医科歯科大学分子病態分野)

研究要旨

非症候群性常染色体優性遺伝性難聴の日本人 96 家系の発端者に対して、中国と韓国の家系で既に同定されていた *DFNA5* 変異 (c. 991-15_991-13del, c. 1183+4A>G) の遺伝学的検査を行った。2 例に c. 991-15_991-13del 変異を同定し、日本人初の *DFNA5* 家系と考えられた。変異家系に対しては、難聴の発症時期・進行やめまいの有無、オーディオグラムの特徴、平衡機能検査所見について検討した。難聴は 10 代より発症し、両側高音障害型の進行性感音難聴を示した。初診時に明らかな平衡機能障害を認めた例はなかった。これらの臨床所見の特徴は過去に報告された *DFNA5* 家系の特徴と一致していた。

研究目的

非症候群性常染色体優性遺伝性難聴 (*DFNA*) では、劣性遺伝性難聴における *GJB2* や *SLC26A4* など、比較的高頻度に認められる難聴遺伝子が同定されていない。そのため *DFNA6/14/38* (*WFS1* 変異) のように聴力型に特徴のある例を除き、変異同定率が必ずしも高くないのが実状である。一方、遺伝子変異の創始者効果に着目し東アジア人に同定された既知の変異をスクリーニングすれば、効率よく遺伝子変異を同定できる可能性がある。

DFNA5 を原因遺伝子とする難聴家系 (*DFNA5* 家系) はこれまでに 5 家系の報告があり、その中の 3 家系は東アジア人家系 (中国 2 家系、韓国 1 家系) である。今回、我々は当施設の優性遺伝性家系を対象に東アジア人に認められた *DFNA5* 変異の遺伝学的検査を施行した。

研究方法および倫理面への配慮

当施設耳鼻咽喉科外来受診患者において、優性遺伝形式の家族性難聴を示した患者の

うち、院内の倫理規定とヘルシンキ宣言に則り文書による同意と研究協力が得られた 96 家系の発端者を対象とした。中国と韓国の家系にて同定された 2 つの *DFNA5* 変異 (c. 991-15_991-13del, c. 1183+4A>G) を含む領域を PCR にて増幅した。オートシーケンサーにより塩基配列を決定し、変異の有無を検索した。変異が同定された場合には、*DFNA5* の全ての翻訳領域とエキソン・イントロン境界における変異の有無と家系内における遺伝学的検査を行った。正常聴力者 90 例をコントロールとした。変異症例に対しては、難聴の発症時期・進行やめまいの有無、オーディオグラムの特徴、平衡機能検査所見について検討した。

結果

c. 991-15_991-13del 変異を 96 例中 2 例 (2%) に認めたが、c. 1183+4A>G は同定されなかった。正常コントロール 90 例には、これらの変異は認められなかった。欠失変異を認めた 2 例では他の *DFNA5* 領域に変異を認めなかつ

た。

変異家系 TMDU244 (図1) は5世代35人の家系で、12例に純音聴力検査、遺伝学的検査を施行した。聴力正常もしくは年齢相応と考えられる4例中3例は変異を認めなかったが、1例(V:10、22歳女性)に変異が同定された。一方、難聴の8例すべてに変異を認めた。難聴者の難聴発症年齢は10歳から30歳であった。オーディオグラムでは両高音障害型感音難聴を示し、年齢とともに特に高音域の聴力閾値が低下する傾向が認められた。また4周波数平均聴力レベル(500、1000、2000、4000Hz)は、26.3dBから103.8dBであった。難聴以外の全身合併症については、1例(V:8、18歳男性)が初診から2年後に網膜色素変性症を発症した。めまいの自覚がみられた例はなかったが、CCD赤外線カメラにて4例中2例に自発眼振を認めた。これらの2例に電気眼振検査を行った。1例(IV:7、52歳男性)に頭位眼振検査において右下頭位で右向き水平性眼振を、1例(V:7、20歳男性)に頭位変換眼振検査で懸垂頭位から坐位の際に下眼瞼向き眼振を認めた。温度眼振検査では2例とも半規管機能低下は認めなかったが、1例(V:7)で初診から8年後に右半規管麻痺を認めた。

TMDU313 (図2) は3世代12人の家系で、発端者(III:1、30歳女性)のみに遺伝学的検査を施行し、変異が同定された。難聴の発症年齢は18歳であり、難聴の進行を自覚していた。オーディオグラムでは両高音障害型感音難聴を示し、4周波数平均聴力レベルで右耳61.3dB、左耳70.0dBであった。めまいの自覚はなく眼振も認めなかった。側頭骨CTでは内耳奇形は認められず、難聴以外の全身合併症は認めなかった。

考察

DFNA5変異による難聴家系(DFNA5家系)は、オランダ、中国、韓国から5家系、4種

類の変異が報告されており、今回の2家系は日本人として最初のDFNA5家系と考えられた。4種類の変異はイントロン7もしくはイントロン8に認められ、翻訳の段階でエキソン8がスキップされるフレームシフト変異と考えられている。

これまでのDFNA5家系では、両側進行性の高音障害型感音難聴を認め、今回の家系でも一致した結果を示した。難聴の発症時期は変異の種類により10歳未満から40代と幅広いが、c.991-15_991-13delを認めた過去の2家系では10歳未満から20代とされている。今回TMDU244の変異例1例では難聴は認められなかったが、今後難聴が発症する可能性があると考えられた。平衡機能障害については、過去の報告では明記されたものはない。今回TMDU244の変異例2例で自発眼振を認めたが、病歴聴取を行った4例すべてにめまいの自覚はなく、初診時の温度眼振検査結果からは明らかな平衡機能障害は認めなかったが、8年の経過で半規管麻痺を認めた例があったことから、長期の経過観察を要すると考えられた。

結論

優性遺伝の家族性難聴96家系中2家系(2%)に日本人初となるDFNA5の既知の変異(c.991-15_991-13del)を認めた。本変異には創始者効果が認められると考えられた。

健康危険情報

なし

研究発表

- 1) 西尾綾子, 野口佳裕, 高木 明, 喜多村 健: 常染色体優性遺伝性難聴DFNA5の日本人2家系. 第56回日本聴覚医学会総会・学術講演会, 福岡, 2011年10月.
- 2) 野口佳裕, 西尾綾子, 高木 明, 喜多村 健: DFNA5変異による非症候群性常染色体優

性遺伝性難聴家系. 第 56 回日本人類遺伝学会, 千葉, 2011 年 11 月.

3) Nishio A, Noguchi Y, Kitamura K: A *DFNA5* mutation in two Japanese families with autosomal dominant hereditary hearing loss. 11th Japan-Taiwan Conference on

Otolaryngology-Head and Neck Surgery. 神戸, 2011 年 12 月.

知的財産権の出願・登録状況
なし

図 1 (TMDU244)

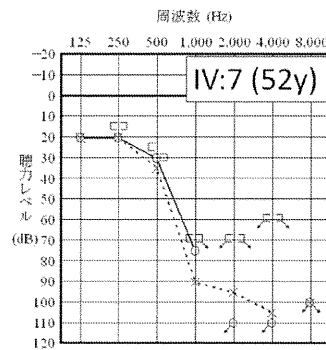
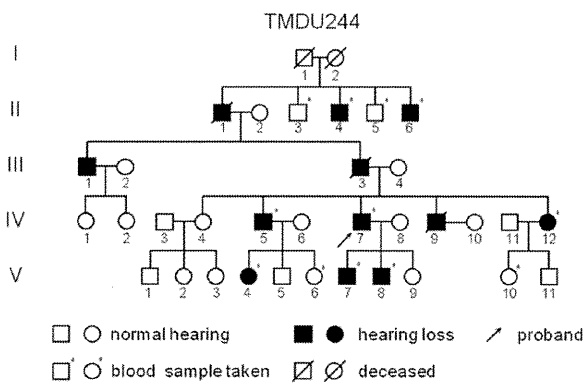
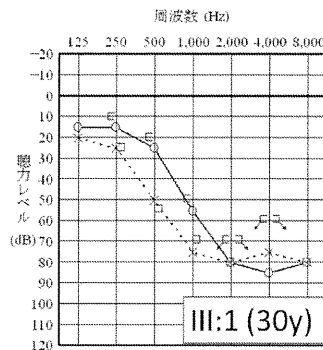
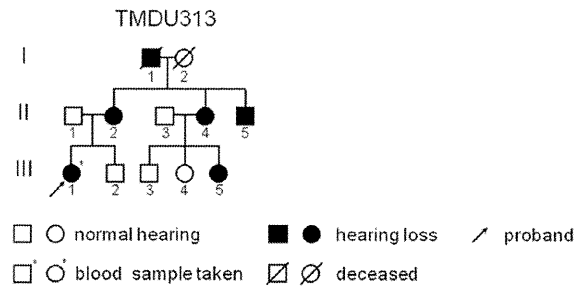


図 2 (TMDU313)



突発性難聴患者における炎症系経路に係わる遺伝子の多型

分担研究者：中島 務 (名古屋大学耳鼻咽喉科)
共同研究者：寺西正明 (名古屋大学耳鼻咽喉科)
共同研究者：平松真理子 (名古屋大学耳鼻咽喉科)
共同研究者：内田育恵 (愛知医大耳鼻咽喉科)
共同研究者：曾根三千彦 (名古屋大学耳鼻咽喉科)
共同研究者：西尾直樹 (名古屋大学耳鼻咽喉科)
共同研究者：鈴木秀典 (名古屋大学耳鼻咽喉科)
共同研究者：加藤 健 (名古屋大学耳鼻咽喉科)
共同研究者：大竹宏直 (名古屋大学耳鼻咽喉科)
共同研究者：多賀谷満彦 (名古屋大学耳鼻咽喉科)
共同研究者：吉田忠雄 (名古屋大学耳鼻咽喉科)
共同研究者：鈴木宏和 (名古屋大学耳鼻咽喉科)
共同研究者：杉浦彩子 (国立長寿医療研究センター)
共同研究者：安藤富士子 (淑徳大学)
共同研究者：下方浩史 (国立長寿医療研究センター)

研究要旨

突発性難聴の病態は不明であるが、その病態解明に、近年遺伝子多型の検索が行われるようになった。内耳 MRI において内耳血管透過性が亢進している症例があり、炎症との関連も示唆される。今回、突発性難聴患者とコントロールで炎症に関連する遺伝子多型について解析した。名大病院で突発性難聴と診断された 72 名をケース群とし、国立長寿医療研究センター『老化に関する長期縦断疫学研究』第 1 次調査に参加した一般地域住民 2010 名をコントロール群として比較した。*IL-6* C-572G, *IL-4R* G1902A, *IL-10* A-592C, *TNF α* C-863A, *TNFRSF1B* G593A, *VEGF* C936T, *VEGF* C-2578A, *VEGF* G-1154A の一塩基多型 (SNP) を調べた。多重ロジスティック回帰分析にて、*IL-6* 572G アレルは調整変数を入れない model 1、年齢、性別を調整変数にしたモデル 2、高血圧、糖尿病、高脂血漿の既往の有無を加えた調整変数にした model3 とともに、突発性難聴リスクを有意に上げていた。他、7 つ多型ではコントロールと差は認めなかった。

研究目的

突発性難聴の約 3 分の 1 の症例が、MRI で内耳血管透過性の亢進もしくは血液迷路関門の破綻を示すことが報告されている。血管透過性の亢進は炎症の本態とい

える所見であり、炎症に係わる遺伝子多型が突発性難聴発症と関連する報告がいくつかみられる。我々もインターロイキン 1 に関連する遺伝子多型と突発性難聴との関係を報告した (Furuta et al, 2011)。

今回は、炎症に係わる 8 つの遺伝子多型について影響を評価した。

方法

患者

2007 年 11 月から 2010 年 1 月の間に名大病院耳鼻咽喉科を受診し、突発性難聴と診断された 72 人の患者 (36 人男性、36 人女性、年齢 58.2 歳 (22-82)) を対象とした。コントロールは、名大病院の診療圏にある国立長寿医療研究センターにおける老化に関する長期縦断疫学研究、(NILS-LSA) に参加した人たちである。この人たちの中に 33 人が突発性難聴の既往ありと答えていたので、この 33 人を除外し 2010 名をコントロールとした。

倫理面への配慮

研究プロトコルは、名古屋大学の倫理委員会 (370-4) および国立長寿医療センターの倫理委員会 (#14、#52、#74) によって承認され、その方針にしたがって行った。

遺伝子型解析

炎症性メディエータ *IL-6* C-572G, もしくは C-634G, rs1800796; *IL-4R* G1902A, rs1801275; *IL-10* A-592C, rs1800872; *tumor necrosis factor (TNF) α* C-863A, rs1800630; *TNF receptor super family (TNFRSF) 1B* G593A, rs1061624; *vascular endothelial growth factor (VEGF)* C936T, rs3025039; C-2578A, rs699947; G-1154A, rs1570360 の 8 つの遺伝子多型を調べた。

統計分析

これらの分析では、3 つのモデルを使用した。モデル 1 では調整変数なし、モデ

ル 2 では年齢、性を調節変数として、モデル 3 では、モデル 2 の変数に加え高血圧、高脂血漿、糖尿病の既往歴を使用した。

研究結果

コントロール群と突発性難聴群に有意な年齢、性の差は認めなかった。コントロール群より突発性難聴群において、糖尿病の既往が高かった ($p < 0.01$)

8 つの SNP 中の遺伝子多型配列およびアレル頻度を表 1, 2 に示す。IL-6 rs1800796 の G アレルは突発性難聴群において有意差があった。(オッズ比は、モデル 1 にて 1.480 : 95% の信頼区間 [CI] 1.037-2.111)。

考察

IL-6 は、造血、免疫細胞活性化および炎症を規制する際に重要な役割を果たす炎症性サイトカインである。しかしながら、IL-6 は、免疫細胞だけでなく中枢神経系の細胞のような他の細胞タイプ中の多面発現性のアクションと共に、非常に用途の広いサイトカインである。

Blood-brain barrier の低下は、脳実質の中へ免疫細胞の漏出を起こすが、IL-6 は、blood-brain barrier の維持における重大な役割を行う。

IL-6 receptor は、ラセン神経節細胞、蝸牛外側壁、コルチ器の有毛細胞および支持細胞の中にあることが報告されている。今回の結果は、突発性難聴の発症に IL-6 がなんらかの形で関与していることを示唆している。

学会発表

Teranishi et al: Inner Ear Biology 2011

論文発表

Polymorphisms in genes involved in inflammatory pathways in patients with sudden sensorineural hearing loss.
(Hiramatsu et al, J Neurogenet, in press

表 1. 突発性難聴とコントロールにおける遺伝型.

Genotype distribution, count(%)					
CC		CG		GG	p value
(44.5)	34	(47.2)	6	(8.3)	0.0697
(58.1)	720	(35.8)	122	(6.1)	
AA		GA		GG	p value
(76.4)	17	(23.6)	0	(0)	0.4715
(73.8)	486	(24.2)	40	(2.0)	
AA		AC		CC	p value
(55.6)	27	(37.5)	5	(6.9)	0.1857
(45.0)	892	(44.4)	214	(10.6)	
CC		CA		AA	p value
(66.7)	19	(26.4)	5	(6.9)	0.4128
(72.1)	402	(20.0)	159	(7.9)	
AA		AG		GG	p value
(36.1)	33	(45.8)	13	(18.1)	0.1405
(26.1)	1003	(49.9)	483	(24.0)	
CC		CT		TT	p value
(54.9)	28	(39.5)	4	(5.6)	0.7065
(59.3)	731	(36.4)	86	(4.3)	
CC		CA		AA	p value
(45.8)	33	(45.8)	6	(8.4)	0.8557
(48.8)	855	(42.5)	174	(8.7)	
GG		GA		AA	p value
(73.6)	15	(20.8)	4	(5.6)	0.4415
(76.1)	421	(21.0)	59	(2.9)	

突発性難聴症例の QOL に関する多施設共同研究

分担研究者：岡本牧人（北里大学耳鼻科）

共同研究者：佐野 肇（北里大学耳鼻科）

共同研究者：大橋健太郎（北里大学耳鼻科）

共同研究者：猪 健志（北里大学院医療系研究科東洋医学講座）

共同研究者：牧 敦子（北里大学耳鼻科）

共同研究者：小野雄一（津久井赤十字病院耳鼻科）

研究要旨

突発性難聴症例の QOL を調査するアンケート用紙を作成し多施設共同研究を行った。症例数は突発性難聴 187 例、両側感音難聴 134 例、片側高度難聴 24 例であった。SF-36 の結果は、突発性難聴群と両側感音難聴群でおおむね同じ傾向を示し、いずれの下位尺度においても国民標準値を下回っていた。片側高度難聴例ではその両群よりも良好な結果を示した。突発性難聴群で特に平均値が低かったのは、社会生活機能（SF）、全体的健康感（GH）、日常役割機能（身体）（RP）、日常役割機能（精神）（RE）であった。

研究目的

突発性難聴は改善が見込まれ治癒も期待できる感音難聴であるが、治癒しない症例が 50%以上存在するため毎年数万人の単位で新たな難聴者が発生している。一方で突発性難聴は一側性のことが多く、例えば治癒しなくても重大なコミュニケーション障害をもたらすことがないため、患者の症状やハンディキャップ、QOL について注目されることは比較的少なかった。そこで今回、突発性難聴症例の QOL を把握するための多施設共同研究を施行した。

両側感音難聴症例である。耳症状に関する質問紙、QOL 質問紙（SF-36v2）、HHIA（Hearing handicap inventory for the adult）、ハンディキャップに対する VAS（visual analogue scale）の調査用紙に回答してもらった。突発性難聴症例は発症後 30 日以上経過した症例を対象とした。

本報告では、このうち SF-36 の結果について解析した。各症例の SF36 の 8 つの下位尺度における得点を、国民標準値に基づいて標準化し偏差得点（平均 50、標準偏差 10）に変換した値を検討対象とした。

研究方法

2009 年 12 月から 2011 年 12 月末までに、全国 10 施設に調査表を配布した。調査対象は、突発性難聴、片側高度難聴（7 歳以下の発症で患側平均聴力 70dB 以上）、

本研究は各参加施設の倫理委員会の承認を得て施行されている。アンケート調査用紙は無記名であり、氏名、生年月日、ID など個人を特定しうる可能性のある情報も記載されない。

結果

調査症例数は、(1) 突発性難聴 187 例 (平均年齢 58.8 歳、男性 88、女性 99)、(2) 片側高度難聴 24 例 (平均年齢 30.5 歳、男性 13 例、女性 11 例)、(3) 両側感音難聴症例 134 例 (平均年齢 59.8 歳、男性 65 例、女性 69 例) であった。

図 1 に各群の、SF-36 の 8 つの下位尺度における偏差得点の平均値を示した。突発性難聴群は両側感音難聴群とほぼ類似した結果を示し、いずれの下位尺度においても国民標準値の平均値 50 を下回っていた。それに対して片側高度難聴群では比較的良好的な結果を示していた。

突発性難聴群で平均値が特に低かった尺度は、低い順に社会生活機能 (SF) : 42.0、全体的健康感 (GH) : 43.2、日常役割機能 (身体) (RP) : 43.4、日常役割機能 (精神) (RE) : 44.0 であった。

考察

突発性難聴群の QOL は国民平均値より悪く、両側感音難聴群とほぼ同程度であることが示された。特に社会生活、日常生活における QOL の低下が大きかっ

た。片側難聴群の QOL はそれに比して良好であったが、24 例と症例数が少ないことや平均年齢が低かったことを考慮する必要がある。しかし突発性難聴症例では、幼少時より片側難聴が存在する症例とは異なる何らかの要因が加わっている可能性があるものと思われる。

結論

突発性難聴症例では QOL の低下が認められた。特に社会生活、全体的健康感、日常生活上の QOL において低下が大きかった。突発性難聴症例に対しては、長期的な視点で生活上の問題点などに配慮していく必要性が示唆された。

健康危険情報

なし

研究発表

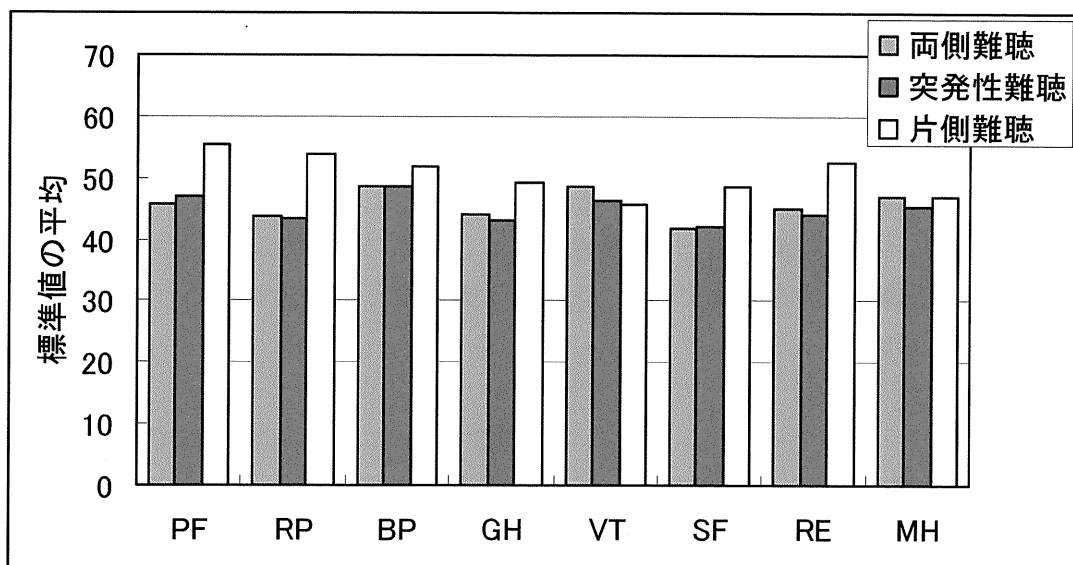
1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

知的財産の出願・登録状況

なし

図1 各群のSF-36の8つの下位尺度における偏差得点の平均。

PF:身体機能 RP:日常役割機能(身体) BP:体の痛み GH:全体的健康感 VT:活力 SF:社会生活機能 RE:日常役割機能(精神) MH:心の健康



急性高度難聴に関する調査研究

研究分担者：山嵜達也（東京大学医学部附属病院 教授）

研究要旨

病態として内リンパ水腫の疑われる疾患に対して、multiple-frequency tympanometry は感度、特異度とも高く、有効な検査法と考えられた。人工内耳装用者の騒音下での聴取は、S/N比が低下すると急激に減衰することが示された。アポトーシス予防効果を持つFNK-PTDタンパクを蝸牛窓上に局所投与すると内耳に幅広くかつ長く分布し、アミノ配糖体による蝸牛障害を予防できた。シスプラチンをミセル化することで内耳毒性の軽減効果が得られた

研究目的

- 1) 内リンパ水腫の疑われる疾患に対して新しい検査法として、multiple-frequency tympanometryの有効性を検討する。
- 2) 人工内耳の日常生活に即した音声処理の特徴を調べる。
- 3) アポトーシス予防効果を持つFNK-PTDタンパクの内耳局所投与による分布と有効性を検討する。
- 4) シスプラチンをミセル化した薬剤を作成し、内耳毒性軽減効果があるか検討する。

研究方法

- 1) 急性低音障害型感音難聴、メニエール病、遅発性内リンパ水腫の患者に対して患側および対側の耳に multiple-frequency tympanometry (MFT) を施行した。また正常コントロールとして聴力正常者でも計測した。その結果を比較検討した。
- 2) 人工内耳埋込み術施行例における雑音負荷条件の聴取能について、中途失聴成人例と小児例で検討し、健聴者と比較した。対象は当科にて聴覚管理を行っている小児人工内耳例41名、成人人工内耳例35名、

健聴者20名であり、評価はCI2004 語音聴取評価の文章課題を用い、CI 装用下に2台のスピーカから検査語音と加重不規則雑音を提示した。検査語音レベルを一定にし、静寂条件、S/N比20dB、10dB、5dB、0dBの5条件で雑音を変化させた。

- 3) アポトーシス予防効果を持つFNK-PTDタンパクを作成し、培養蝸牛において蝸牛有毛細胞やラセン神経節のカナマイシンによる障害およびアポトーシス誘導を抑制するか調べた。またモルモットの蝸牛窓膜上に投与し、蝸牛内の発現を免疫染色で調べた。さらにエタクリン酸とカナマイシン投与により内耳に障害を与え、これを抑制するか調べた。

- 4) シスプラチンをミセル化した薬剤を作成し、これと同じ量のシスプラチンをモルモットに投与し、ABR および組織解析により内耳障害への影響を調べた。

(倫理面への配慮)

本研究では非侵襲性の検査を基本とし、通常臨床の一環として行うため、検査に関して特別な不利益は生じない。研究計画は倫理委員会の承認を得ている。動物実験の

計画も東京大学大学院医学系研究科動物実験委員会の許可を得ている。動物実験では NIH の実験動物に関するガイドライン、東京大学の実験動物の取り扱いに関する規定に従い、使用する動物数が最小限となるよう実験計画を工夫している。また対象となる動物が不快、苦痛を感じないように最大限の留意を払う。なお研究参加者は全員東京大学医学系研究科動物実験講習会を受講済みである。

研究結果

1) 急性低音障害型感音難聴、メニエール病、遅発性内リンパ水腫の患側では対側耳および正常コントロールと比較して、有意に MFT の異常率が高く、内リンパ水腫の検出感度は高くないが特異度は良く、有用であることが示唆された。

2) 人工内耳の日常生活に即した状態での音声処理の特徴を測定するため、人工内耳埋込み術施行例における雑音負荷条件の聴取能について中途失聴成人例と小児例で検討し、健聴者と比較した結果、健聴者では S/N 比 0dB 条件で減衰率が有意に低下したが個人差は少なかった。一方、小児人工内耳例では S/N 比 10dB で減衰率の有意な低下がみられ、個人差が大であった。成人人工内耳例でも小児例と同様の結果であった。

3) FNK-PTD タンパクは培養蝸牛において蝸牛有毛細胞のカナマイシンによる障害およびアポトーシス誘導を有意に予防した。モルモットの中耳内局所投与では蝸牛内に 6 時間をピークに 48 時間まで発現し、エタクリン酸とカナマイシン投与による内耳障害を有意に抑制した。

4) シスプラチンをミセル化した薬剤投与ではシスプラチンによる難聴が著明に抑制され、有毛細胞障害も抑えられた。また蝸牛基板へのプラチナの取りこみ濃度も低く、内耳血液関門を通過しにくいことが、内耳毒性の低い理由と思われた。

考察

内リンパ水腫の検出には、グリセロールテスト、蝸電図などが用いられてきたが、その感度、特異度ともに必ずしも高くなかった。一方、グリセロールテストでは検査に3時間かかることや頭痛などの薬剤の副作用が、蝸電図では侵襲性が問題となっていた。今回用いた

MFTでは時間は20分以内で侵襲性もなく、容易に反復して行える点が利点であり、感度・特異度もきわめて高くはないがグリセロールテストや蝸電図と遜色なく、今後臨床で広く行われることが期待される。

人工内耳では静寂下の聴取能の報告が多いが、日常生活に即した環境での聴取能評価の報告は少ない。今回人工内耳埋込み術を行った中途失聴成人例と小児例で騒音下の聴取を検討したところ、正常人では聴取に支障のない S/N 比 10dB で有意に低下がみられ、個人差が大であった。このことは人工内耳装用者に対して、学校など騒音環境におけるサポート (FMシステム) の充実の重要性を示唆している。

以前 FNK-PTD タンパクを全身投与した時には、その内耳での発現は数時間であり、数回の投与により、エタクリン酸とカナマイシン投与による内耳障害を抑制できた。このようなアポトーシス抑制物質は全身投与で発癌を誘発しやすいという欠点がある。このため今回局所投与を行ったところ、蝸牛内に幅広く分布し、その発現は 48 時間以内と全身投与よりも有意に延長し、また 1 回の予防投与でエタクリン酸とカナマイシン投与による内耳障害を抑制

できた。このタンパクは脳虚血なども軽減することが知られており、今後臨床応用が期待できる。

シスプラチンをミセル化した薬剤は、腎毒性なども抑制することが知られている。今回は内耳毒性も抑制したが、これは血液内耳関門を通過しにくく内耳への取り込みが減ったことと腎毒性軽減による効果の二つが考えられる。

結論

病態として内リンパ水腫の疑われる疾患に対して、**multiple-frequency tympanometry** は感度、特異度とも高く、有効な検査法と考えられた。人工内耳装用者の騒音下での聴取は、S/N比が低下すると急激に減衰することが示された。アポトーシス予防効果を持つFNK-PTDタンパクを蝸牛窓上に局所投与すると内耳に幅広くかつ長く分布し、アミノ配糖体による蝸牛障害を予防できた。シスプラチンをミセル化することで内耳毒性の軽減効果が得られた。

業績

(論文発表)

1. 山嵜達也. ミトコンドリア遺伝子異常と内耳障害. 耳鼻咽喉科臨床 2011;104:533-540
2. 山嵜達也. 乳幼児難聴の聴覚医学的問題点「治療における問題点」Audiology Japan 2011;54:649-664
3. Iwasaki S, Nakajima T, Chihara Y, Inoue A, Fujimoto C, Yamasoba T. Developmental changes in the expression of Kv1 potassium channels in rat

vestibular ganglion cells. Brain Res. 2011 Oct 15. [Epub ahead of print]

4. Baba S, Kondo K, Kanaya K, Ushio M, Tojima H, Yamasoba T. Bell's palsy in children: Relationship between electroneurography findings and prognosis in comparison with adults. Otol Neurotol. 2011;32:1554-8.
5. Baba M, Matsumoto Y, Kashio A, Cabral H, Nishiyama N, Kataoka K, Yamasoba T. Micellization of cisplatin (NC-6004) reduces its ototoxicity in guinea pigs. J Control Release. 2011 Jul 23. [Epub ahead of print]
6. Iwasaki S, Egami N, Fujimoto C, Chihara Y, Ushio M, Kashio A, Yamasoba T. The mitochondrial A3243G mutation involves the peripheral vestibule as well as the cochlea. Laryngoscope. 2011;121:1821-4.
7. Chihara Y, Iwasaki S, Kondo K, Yamasoba T. Responsiveness of rat vestibular ganglion neurons to exogenous neurotrophic factors during postnatal development in dissociated cultures. Brain Res. 2011 23;1408:1-7.
8. Kashio A, Ito K, Kakigi A, Karino S, Iwasaki S, Sakamoto T, Yasui T, Suzuki M, Yamasoba T. Carhart notch 2-kHz bone conduction threshold dip: a nondefinitive predictor of stapes fixation in conductive hearing loss with normal tympanic membrane. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2011;137:236-40.
9. Nomoto T, Matsumoto Y, Miyata K, Oba M, Fukushima S, Nishiyama N,

- Yamasoba T, Kataoka K. In situ quantitative monitoring of polyplexes and polyplex micelles in the blood circulation using intravital real-time confocal laser scanning microscopy. *J Control Release*. 2011;151:104-9.
10. Kakigi A, Okada T, Takeda T, Takeda S, Nishioka R, Taguchi D, Nishimura M, Yamasoba T. Endocytosis of cationized ferritin in marginal cells of the stria vascularis is regulated by protein kinase, protein phosphatase, and MEK/ERK and PI3-K signaling pathways. *Otol Neurotol*. 2011;32:856-62.
 11. Suzuki M, Goto T, Kashio A, Yasui T, Sakamoto T, Ito K, Yamasoba T. Preservation of vestibular function after scala vestibuli cochlear implantation. *Auris Nasus Larynx*. 2011;38:638-42.
 12. Matsumoto Y, Nomoto T, Cabral H, Matsumoto Y, Watanabe S, Christie RJ, Miyata K, Oba M, Ogura T, Yamasaki Y, Nishiyama N, Yamasoba T, Kataoka K. Direct and instantaneous observation of intravenously injected substances using intravital confocal micro-videography. *Biomed Opt Express*. 2010;1:1209-1216.
 13. Sakamoto T, Kakigi A, Kashio A, Kanaya K, Suzuki M, Yamasoba T. Evaluation of the Carhart effect in congenital middle ear malformation with both an intact external ear canal and a mobile stapes footplate. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*. 2011;73:61-7.
 14. Kakigi A, Okada T, Takeda T, Takeda S, Nishioka R, Taguchi D, Nishimura M, Yamasoba T. Endocytosis of microperoxidase in marginal cells is mainly regulated by RhoA signaling cascade, but not by Rho-associated protein kinase, myosin light-chain kinase and myosin phosphatase. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*. 2011;73:1-8.
 15. Lin Y, Kashio A, Sakamoto T, Suzukawa K, Kakigi A, Yamasoba T. Hydrogen in drinking water attenuates noise-induced hearing loss in guinea pigs. *Neurosci Lett*. 2011;487:12-6.
- (学会発表)
1. 第21回日本耳科学会総会・学術講演会 2011年11月24-26日 沖縄：樫尾明憲、山嵜達也：内耳タンパク・PTD技術による内耳領域への応用・（公募シンポジウム）
 2. 第21回日本耳科学会総会・学術講演会 2011年11月24-26日 沖縄：松本有、狩野章太郎、吉川弥生、奥野妙子、片岡一則、山嵜達也：生体内リアルタイム共焦点顕微鏡と蝸牛イメージングへの展開
 3. 第21回日本耳科学会総会・学術講演会 2011年11月24-26日 沖縄：浦田真次、樫尾明憲、江上直也、狩野章太郎、坂本幸士、柿木章伸、岩崎真一、山嵜達也：髄膜炎をきたした内耳奇形症例に対する部分的内耳充填術：キヌタ骨長脚によるplugging
 4. 第21回日本耳科学会総会・学術講演会 2011年11月24-26日 沖縄：坂田英明、浅沼聡、安達のどか、山嵜達也、加我君孝：先天性サイトメガロウイルス感染症の発生率・診断・治療について
 5. 第21回日本耳科学会総会・学術講演会 2011年11月24-26日 沖縄：馬場美雪、松本有、樫尾明憲、片岡一則、山嵜達也：シスプラチン内包高分子ミセルノ

内耳毒性軽減効果

6. 第21回日本耳科学会総会・学術講演会
2011年11月24-26日 沖縄：藤本千里、尾関英徳、鈴木佳吾、近藤健二、加我君孝、山嵜達也：内耳発生をモニターするトランスジェニックマウスを用いた、耳胞領域特異的なトランスクリプトーム解析
7. 第21回日本耳科学会総会・学術講演会
2011年11月24-26日 沖縄：柿木章伸、江上直也、坂本幸士、西岡利恵、兵頭政光、山嵜達也：実験的リンパ水腫動物にめまいは起きるか？
8. 第21回日本耳科学会総会・学術講演会
2011年11月24-26日 沖縄：浅沼聡、安達のどか、坂田英明、松永達雄、山嵜達也、加我君孝：蝸牛神経形成不全症例の検討
9. 第21回日本耳科学会総会・学術講演会
2011年11月24-26日 沖縄：岩崎真一、菅澤恵子、安井拓也、牛尾宗貴、江上直也、井上亜希、山嵜達也：メニエール病における multifrequency tympanometry:聴力・前庭機能との比較および診断有用性について

突発性難聴に対する鼓室内ステロイド注入療法の有効性の検討

分担研究者：福田 諭（北海道大学大学院医学研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科分野）

共同研究者：武市 紀人（北海道大学大学院医学研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科分野）

共同研究者：小原 修幸（北海道大学大学院医学研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科分野）

共同研究者：藤原 圭志（北海道大学大学院医学研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科分野）

研究要旨

2004年1月から2010年2月までの間に当科において鼓室内ステロイド注入療法1コース施行後に6ヶ月以上の経過観察できた突発性難聴症例83例を対象にその有効性について検討した。83例中、71例は全身ステロイド投与が無効であった救済治療例、12例は初期治療例。結果は治癒が26例（31.3%）、著明回復が5例（6.0%）、回復が21例（21.5%）、不変が31例（37.3%）であった。治療後の副作用・合併症は認めなかった。有効であった症例の大部分が初診時平均聴力60dB以内、治療開始時期が発症より8週以内であった。全身ステロイド投与が困難な症例および無効であった症例に対し鼓室内ステロイド注入療法は検討する価値のある治療法の一つと考える。

研究目的

突発性難聴は頻度の高い難治性疾患である。国際的には全身ステロイド投与がGold standardとして認知されているが、それによる改善率は必ずしも高くない。また、様々な合併症により全身ステロイド投与が困難な症例も存在する。我々は全身ステロイド投与に代わる治療法として鼓室内ステロイド注入療法の有効性について検討した。

研究方法

対象は2004年1月から2010年2月までに北海道大学病院耳鼻咽喉科において突発性難聴と診断され、鼓室内ステロイ

ド注入療法1コース施行後に6ヶ月以上の経過観察できた83例。救済治療例が71例、初期治療例が12例であった。鼓室内ステロイド注入の方法としては、経鼓膜的にデキサメサゾン（デカドロン®）2mg/0.5mlを1回量として隔週で計4回を1コースとした。診断、効果判定には厚生省特定疾患高度難聴研究班の基準を用いた。

（倫理面への配慮）

症例について性別、年齢、治療経過のみを用い、個人が特定される情報は用いられていないため匿名性が保たれているものとする。当研究は当大学医学研究科倫理委員会および付属病院自主臨床検

査委員会の承認の下、行われた。

研究結果

治療開始後6ヶ月の段階で全83例のうち治癒は26例(31.3%)、著明回復が5例(6.0%)、回復が21例(25.5%)、不変が31例(37.3%)であった。救済治療71例では治癒が21例(29.6%)、著明回復が3例(4.2%)、回復が19例(26.8%)、不変が28例(39.4%)、初期治療12例では治癒が5例(41.7%)、著明回復が2例(16.7%)、回復が2例(16.7%)、不変が3例(25.0%)であった。救済治療例に比べ初期治療例の方が改善が良い傾向が見られた。

	治癒	著明回復	回復	不変
突発性難聴 83例	26例 (31.3%)	5例 (6.0%)	21例 (25.3%)	31例 (37.3%)
救済治療 71例	21例 (29.6%)	3例 (4.2%)	19例 (26.8%)	28例 (39.4%)
初期治療 12例	5例 (41.7%)	2例 (16.7%)	2例 (16.7%)	3例 (25.0%)

表1

初診時聴力(250, 500, 1k, 2k, 4kの5周波数の平均聴力)と治療結果について表2に示す。治癒、著明回復となった症例は比較的初診時聴力の良い症例が多く、全て平均聴力が60dB以内であった。しかしながら、初診時聴力が良い症例においても不変であった症例が認められ、明らかな相関は認めなかった。

発症から鼓室内ステロイド注入療法を開始するまでの期間と治療結果について

表3に示す。開始時期の早い症例ほど改善が良い傾向にあった。特に、治癒、著明回復に至った31例中27例の治療開始時期が発症より8週以内であった。

結果 -初診時聴力-	初診時聴力：5周波数の平均聴力			
	治癒	著明回復	回復	不変
10-19dB	3例	0	0	1
20-29dB	12	1	0	4
30-39dB	9	1	6	7
40-49dB	2	1	4	5
50-59dB	0	2	1	4
60-69dB	0	0	2	0
70-79dB	0	0	3	2
80-89dB	0	0	3	3
90-99dB	0	0	0	3
100-109dB	0	0	2	2

表2

結果 -開始時期-	発症から鼓室内注入療法を開始するまでの期間			
	治癒	著明回復	回復	不変
0-2週	3例	1	2	3
2-4週	9	2	3	2
4-8週	11	1	1	3
8週-4ヶ月	2	0	4	5
4-6ヶ月	1	0	4	0
6ヶ月-1年	0	1	1	0
1-2年	0	0	0	1
2-4年	0	0	2	3
4年以上	0	0	0	1

表3

全83例において治療後重篤な副作用・合併症は認められなかった。鼓膜穿孔を来した症例は1例も認めなかった。また、合併症・全身状態により全身ステロイド投与が望ましくないとされた症例においても原疾患および全身状態の悪化は認められなかった。ただし、83例中13例において注入後一過性の耳閉感、耳鳴、めま