

201324024A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

急性高度難聴に関する調査研究

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 小川 郁

平成 26(2014)年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

急性高度難聴に関する調査研究

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

目 次

I. 平成 25 年度急性高度難聴に関する調査研究班班員名簿	1
II. 総括研究報告	3
	小川 郁(慶應大)
III. 診断基準改定案	11
	小川 郁(慶應大)
IV. 班会議報告	19
	小川 郁(慶應大)
V. 分担研究報告	
1. 2012 年度発症突発性難聴の疫学調査	25
	中島 務(名古屋大)
2. 突発性難聴症例の症状に影響する要因の検討 —多施設共同研究より—	38
	佐野 肇(北里大)
3. 突発性難聴発症前のストレス状況の調査	40
	渡辺 裕之(北里大)
4. 「外リンパ瘻診断に関する調査研究」に関する研究	42
	池園 哲郎(埼玉医大)
5. 外リンパ瘻確実例の検討	47
	松田 帆(埼玉医大)
6. 難治性内耳疾患の遺伝子バンク構築 突発性難聴の遺伝子相関解析	50
	鬼頭 良輔(信州大)
7. 網羅的解析により診断された耳小骨奇形を合併したミトコンドリア 3243 変異例	57
	本田 圭司(東京医科歯科大)
8. 前庭水管拡大症を伴う SLC26A4、ATP6V1B1、SIX1 変異例の聴平衡見所の検討	59
	野口 佳裕(東京医科歯科大)
9. 小児一側性難聴の原因について—先天性サイトメガロウイルス感染を中心に—	62
	岩崎 聡(信州大)
10. Vogt-小柳-原田病における聴力像の特徴および聴力予後の検討	66
	森田 真也(北大)
11. 突発性難聴における 7T-MRI を用いた内耳動脈の評価	73
	川岸 和朗(岩手医科大)
12. インシュリン様細胞増殖因子 1 (IGF-1) による虚血性内耳障害の防御効果	76
	藤原 崇志(愛媛大)

13. レーザーマイクロダイゼクション法を用いたホルマリン固定パラフィン包埋保存側頭骨切片内 内耳細胞における mRNA 発現解析	79
木村 百合香 (東京医科歯科大)	
14. 薬剤による急性内耳障害におけるスフィンゴ脂質の関与	82
田淵 経司 (筑波大)	
15. 内リンパ嚢閉塞術と抗利尿ホルモン V2 作動薬によるメニエール病モデル動物の DPOAE に関する研究	83
柿木 章伸 (東大)	
16. 細胞接着分子カドヘリン 11 ミュータントマウスの聴力像および側頭骨所見	86
吉川 弥生 (東大)	
17. 骨髄幹細胞の静脈内投与による虚血性内耳障害の治療-その①	88
高木 太郎 (愛媛大)	
18. 蝸牛でのステロイド薬理作用の iTRAQ プロテオーム解析	93
前田 幸英 (愛媛大)	
19. 内耳薬物動態におけるヒアルロン酸の効果について	95
神崎 晶 (慶應大)	
VI. 研究成果の刊行に関する一覧表	97

I. 急性高度難聴に関する調査研究班
班員名簿

急性高度難聴に関する調査研究班

区分	氏名	所属等	職名
主任研究者	小川 郁	慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科	教授
研究分担者	喜多村 健	東京医科歯科大学医学部耳鼻咽喉科	教授
	宇佐美 真一	信州大学医学部耳鼻咽喉科	教授
	中島 務	名古屋大学医学部耳鼻咽喉科	教授
	岡本 牧人	北里大学医学部耳鼻咽喉科	教授
	暁 清文	愛媛大学医学部耳鼻咽喉科	教授
	福田 諭	北海道大学医学部耳鼻咽喉科	教授
	山岨 達也	東京大学医学部耳鼻咽喉科	教授
	佐藤 宏昭	岩手医科大学医学部耳鼻咽喉科	教授
	原 晃	筑波大学医学部耳鼻咽喉科	教授
	福島 邦博	岡山大学医学部耳鼻咽喉科	講師
研究協力者	岩崎 聡	信州大学医学部附属病院人工聴覚器学講座	教授
	池園哲郎	埼玉医科大学耳鼻咽喉科	教授
	小橋 元	放射線医学総合研究所	室長
事務局	神崎 晶	慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科	講師
		〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35 番地	
		TEL 03-5863-3827 FAX 03-3353-1211	
経理事務担当者	光永 明弘	慶應義塾大学医学部研究支援センター	職員
		〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35 番地	
		TEL 03-5363-3879 FAX 03-5363-3610	
		e-mail ras-shinanomachi-kourou@adst.keio.ac.jp	

Ⅱ. 総括研究報告

1. 研究目的

本研究では対象疾患を1)急性高度感音難聴(突発性難聴、外リンパ瘻、ムンプス難聴、急性低音障害型感音難聴、急性音響性感音難聴)と2)進行性または慢性高度感音難聴(遺伝性難聴、特発性進行性感音難聴、加齢性難聴(老人性難聴)、騒音性感音難聴)の高度感音難聴として、高度感音難聴を呈する疾患の難聴発症メカニズムを解明して、各標準的な治療方針を定めて、治療・予防法を確立することが目標である。今回は特に10年毎に行ってきた急性感音難聴の全国疫学調査を実施することと高度感音難聴発症に関与する遺伝子または遺伝子変異を検出し、難聴発症機構を分子細胞レベルで解明することを大きな目標の一つとする。

超高齢社会を迎えて10年後には聴覚障害者は3~4倍にも増加すると予測されている。突発性難聴の発症者数は2002年の疫学調査研究班との共同調査で年間約35,000人、人口100万人対で275人の罹患率と考えられている。急性低音障害型感音難聴は突発性難聴の約3倍の罹患率と考えられており、これら罹患率の高い高度感音難聴を来す疾患の難聴発症メカニズムの解明は重要である。外リンパ瘻も突発性難聴との鑑別上、重要な疾患であり、これらの診断および治療法の確立も待たれている。また、ムンプス難聴や他のウイルス性難聴ではワクチン接種による予防の可能性について検討する必要がある。一方、遺伝性難聴や個人差の大きい加齢性難聴(老人性難聴)も遺伝子ま

たは遺伝子の変異がその発症にどのように関与するのかを明らかにすることは、その予防上きわめて重要である。

本研究の特徴は多施設での横断的研究が行えることであり、この特徴を利用して突発性難聴の疫学調査、新しい治療法の確立など、国際的にも解明が待たれている事項について明らかにする。高度難聴は重篤なコミュニケーション障害を来すが、ハンディキャップが適切に克服されれば、通常の社会生活に復帰することが可能であり、国民の健康増進という厚生労働行政上の観点からも、その病態解明および治療法・予防法の確立は重要な研究テーマのひとつである。

本研究では3年間に多施設横断的研究で各高度感音難聴を来す疾患の1)疫学調査、2)発症や予後に関連する遺伝子または遺伝子異常の検出、3)QOLへの影響、4)発症と予後に関わる活性酸素やバイオマーカーの検索、5)新しい治療法としての鼓室内局所療法の有効性の検証、6)各疾患の診断基準の見直しと、診療ガイドラインの作成を目指す。一方で各施設での独創的なアプローチによる3T-MRIによる内耳画像診断法などの新しい診断法や各種実験動物モデルの検討による急性高度感音難聴の発症機序の解明と新しい治療法の確立を目指す。これらの多様なアプローチから有効な診断法、治療法の可能性が生じた場合には多施設での検証を行う。

図1に急性高度難聴調査研究班の流れ図を示した。

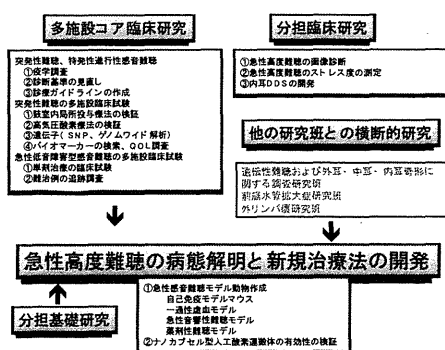


図1：急性高度難聴調査研究班の流れ図

2. 研究方法

I. 疫学・診断

1. 突発性難聴の全国疫学調査は過去4回施行しているが、今回は10年に1回の全国疫学調査の時期にあたり、初年度に準備を行い、2013年に2回目の全国疫学調査を行う。また、これら5回の全

国疫学調査成績を解析して、そのリスクファクターを検討する。また、前年度までの急性低音障害型感音難聴の長期観察および予後不良例の疫学調査を継続して行う(中島、喜多村、小川、全施設)。

2. 外リンパ瘻調査研究班(池園哲郎班長)と協力して外リンパ瘻の発症頻度およびその臨床的特徴に関する全国調査を行い、その診断基準の見直しを行う(中島、小川)。

3. 突発性難聴をはじめとする急性感音難聴のQOLについてSF-36、HHIA (hearing handicap inventory for adult)などの調査票を用いた調査を行い、結果の解析を行う(中島、岡本、全施設)。

4. 新しいキット(IgMキャプチャー法)を用いたムンプス難聴診断基準の改訂を行う(福田、小川、全施設)。

5. 高分解能3T-MRIおよび新規に導入される7T-MRIによる内耳画像診断法を行い、その診断的有用性を検討する。突発性難聴者のAICA形態異常率と突発性難聴発症時の随伴症状との関連につい

て多施設で検討する（中島、佐藤、暁、宇佐美）。

6. 平成22年度の検討結果から、各急性高度難聴の断基準を見直し、診療ガイドライン作成を目指す。特に海外でも作成されていない突発性難聴の診療ガイドラインを作成したい（小川、全施設）。

II. 実験動物モデルによる検討

1. 既知の難聴遺伝子や poE のノックアウトマウスの形態、聴覚機能を検討し、急性発症する難聴の病態同定を試みる（喜多村、山嵜）。

2. バゾプレッシン投与により突発性難聴モデルを作成し、新しい薬物療法の可能性を検証する（岡本）。

3. 急性高度難聴の新しい治療法としてのナノカプセル型人工酸素運搬体の有効性に関する研究を行う（暁）。

4. 副腎皮質ステロイドの鼓室内投与に関する実験的検討を行い、その適切な投与法を検討する。また、FNK-PTD タンパク薬剤の投与経路として鼓室内、蝸牛窓經由の局所投与による有効性および新しい正円窓手術モデルを用いて検証する（暁、岡本、福田）。

5. 急性音響性難聴モデルに対する IL6 阻害薬の効果を検証する（小川）。

6. Cochlin ペプチドを用いた自己免疫性感音難聴モデルマウスを作成し、その発症機序を解明する。また、内耳に高発現するユビキチンなどの新しいタンパクを検索し、その症状との関わりを検討する（喜多村、宇佐美、山嵜、小川）。

7. 突発性難聴モデル（一過性虚血モデル）、急性音響性難聴モデル、薬剤性難聴モデルを用いてフリーラジカルスカベンジャー、アポトーシス抑制関連薬剤、アルドース還元酵素阻害薬による治療および予防効果について検討する（原）。

III. 難聴遺伝子による難聴発症機構の解析

1. 突発性難聴の関連遺伝子を検索し、突発性難聴の発症や治療に対する反応性に関する遺伝的背景を明確にする。ゲノムワイドの相関解析等の手法を用いて特発性両側性感音難聴の原因遺伝子の解析を進める。日本人の突発性難聴発症危険因子として遺伝子多型がどの程度関与するのか、ひき続き検討する。欧米、韓国などから突発性難聴発症と関連する遺伝子多型が報告されたが、日本人はどうかについても調査する。さらに、インターロイキン、炎症関連、血管障害関連、細胞接着因子などの遺伝子多型が突発性難聴発症の危険因子となるか新たに調べる（宇佐美、福島、喜多村、山嵜、全施設）。

2. 平成21年度に行われた「難治性内耳疾患の

遺伝子バンク構築研究班」（宇佐美研究班）を事実上、統合して遺伝子バンク構築事業を継続する。この3年間に試料の収集に併せて、臨床データのデータベースへの入力および研究者への公開、全ゲノム増幅法を用いた貴重な資料の増幅および試料の分与を開始する。遺伝子バンクを構築することにより、従来症例数が少なく遺伝的背景の検討が進まなかった急性高度難聴の研究を行う様々なプロジェクトに対してDNAを供給する体制が整うため、当該研究分野の大きなブレークスルーが期待される（宇佐美、福島、喜多村、小川、全施設）。

3. 加齢性難聴（老人性難聴）に特異的なミトコンドリア遺伝子多型をはじめとする遺伝子検索を行う（佐藤、山嵜、全施設）。

IV. 急性感音難聴のバイオマーカー

1. 急性感音難聴におけるストレスをストレス関連物質、Free Radical Analysis Systemを用いて血中酸化ストレス代謝物を多施設で測定する（小川、佐藤、岡本、暁）。

2. 急性感音難聴の発症および予後に関わるバイオマーカーについて継続して検討する（小川、福島、全施設）。

V. 治療

1. 急性高度感音難聴の新しい治療法としてのステロイド鼓室内注入療法の多施設臨床試験を行う（小川、中島、福田、山嵜、全施設）。

2. 突発性難聴の治療法としての高気圧酸素療法の治療成績を評価する（喜多村、佐藤）。

3. 突発性難聴の新しい治療法としての低体温療法、種々な抗酸化療法、バゾプレッシン、バラシクロビル、水素水の臨床試験を行い、その治療成績を評価する（暁、小川、山嵜）。

4. 平成17年度から行ってきた急性低音障害型感音難聴の単剤治療（副腎皮質ステロイド薬、利尿薬、循環改善薬）の臨床成績を収集して、どの治療法が有効であるかを解析する（小川）。

（倫理面への配慮）

申請の研究内容で前年度の「急性高度難聴調査研究」からの継続研究は、各所属施設の倫理審査委員会より、すでに承認を得ている。新たな研究で倫理審査が必要な課題では各所属施設の倫理審査を受け、承諾を得る。ゲノムDNAを採取する際には、対象症例からは、インフォームドコンセントを書面で得た後に採取する。インフォームドコンセントは、厚生労働省、文部科学省等から提唱された「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫

理指針」に準拠したものである。実験動物を用いた研究はでは各所属施設の実験動物センターの承認を得て施行する。

3. 研究結果

I. 疫学・診断：(1) 10年に1回の突発性難聴の疫学調査のため、疫学調査班（小橋元班員）と準備したが、疫学調査班の事情によって今回は岩手、愛知、愛媛県での地域調査を行なうことにした。限定した地域の疫学調査ということもあり、診療所も含めた調査を行なった。その結果、突発性難聴の発症数は人口10万人対60.9人であった。この発症率から全国での発症率に換算すると年間発症は約8万人と推定された。(2) 外リンパ瘻調査研究班と協力して外リンパ瘻の診断基準の見直しを行った。また、新しい診断基準案に基づいて外リンパ瘻調査研究班が行なった573症例745検体の検討に協力した。(3) 突発性難聴症例の固定期の症状について、その症状が残る要因や経時的な変化を検討するために、固定時の聴力、発症時年齢、経過年数との関係を検討し以下の結果を得た。①治癒ないし軽度難聴にまで回復すると、聞こえづらさ、聞こえに対する不快感が残ることは少なかった。しかし耳鳴は治癒～軽度難聴のレベルでも頻度は減少していなかった。②発症年齢との関係では、50歳以上で発症した場合には耳鳴に悩む頻度は減少していた。聞こえづらさ、聞こえの不快感においては年齢の影響はみられなかった。③発症から5年以上経過すると強く耳鳴に悩む頻度は減っていたが、聞こえづらさ、聞こえの不快感においては経年的変化がみられなかった。(4) 突発性難聴の発症にストレスが関与しているかを検討するために、質問紙による主観的評価および客観的評価として血清中HbA1c値、コレステロール値を検討した。初診時とそれから半年以上経過した再診時のデータを比較検討し、主観的にも客観的にも突発性難聴発症前にストレスが上昇している可能性が示唆された。(5) 先天性または幼少児期に発症した片側高度難聴症例と突発性難聴症例(高度難聴が残った症例、以下SD群)の2群で、QOL(SF36)、ハンディキャップ(HHIA)、症状について比較検討し以下の結果を得た。①片側難聴群のQOLは日本人平均と比較して差はみられなかった。一方、SD群では主に精神面のQOLが低下していた。②片側難聴群のHHIA平均値はハンディキャップなしのレベルであった。SD群のハンディキャップは中等度の障害レベルであった。③症状の比較では全般にわたってSD群の有症頻度が高かつ

たが、両耳聴の障害に関する症状では片側難聴群でも比較的頻度が高く、両群の間で差はみられなかった。(6) Vogt-小柳-原田病(患者85例170耳)の聴力像の特徴および聴力予後の検討を行った。自覚症状として難聴および耳鳴を訴えていた症例は、それぞれ23例(27.1%)、29例(34.1%)であった。一方、純音聴力検査にて難聴を指摘された症例は、76例(89.4%)であり、有意に多かった。聴力像の特徴としては、両側かつ左右差を認めないもの、程度においては軽度難聴、聴力型においては高音障害型が最も多かった。ステロイド大量投与後3～6カ月の時点で、全ての周波数で平均気導聴力閾値は改善を認めた。聴力予後因子としては、年齢、発症から治療開始までの期間、初診時の平均聴力閾値などがあげられた。(7) 小児一側性感音難聴88例を対象に難聴の原因について、特に先天性サイトメガロウイルス(CMV)感染症について検討した。保存臍帯によるCMV DNA解析の結果、一側性感音難聴児の約9%にCMV DNA(+)が認められたが、難聴遺伝子変異は1例もみられなかった。(8) 各急性高度難聴の診断基準を見直した。その結果から、診療ガイドライン作成のためのコンテンツと役割分担を決めた。

II. 実験動物モデルによる検討：(1) ゲンタマイシン、シスプラチンによる蝸牛有毛細胞障害に対する各種スフィンゴ脂質の関与を検討した。セラミド、スフィンゴシンは本障害を増悪し、スフィンゴシン-1-リン酸(S1P)は障害を軽減した。また、スフィンゴシンよりS1Pへの代謝を担うスフィンゴシンキナーゼの阻害薬によっても、蝸牛有毛細胞障害が増悪された。S1P受容体(S1PR)の検討ではコルチ器にはS1PR1、2、3の発現が確認され、S1PR2阻害薬によりゲンタマイシンによる有毛細胞障害が増悪された。また、ゲンタマイシン投与によりスフィンゴミエリナーゼが活性化され、スフィンゴミエリナーゼ阻害薬投与により、ゲンタマイシンによる有毛細胞障害が軽減された。(2) カドヘリンファミリーに属する蛋白カドヘリン11の遺伝子改変マウス(Cad11-/-マウス)について、聴力像および側頭骨組織の解析を行った。聴力検査を行なったところ、Cad11-/-マウスでは20-40 dB程度のABR閾値上昇およびDPOAE反応の減弱・消失が観測され、中程度の難聴があることが判明した。組織解析では光学および電子顕微鏡による解析を行ったが内耳には異常は認められず、中耳の発達異常・間葉組織残存に伴う含気化の遅れが見出された。Cad11-/-マウスはこれまで

詳細が不明であった伝音性難聴や中耳奇形の原因解明のための有望なマウスモデルになり得ると考えられた。(3)内リンパ嚢閉塞術と抗利尿ホルモン V2 作動薬であるデスマプレシンを投与し、めまい発作を誘発するメニエール病モデル動物を作製した。このメニエール病モデル動物の聴覚障害の有無に関し DPOAE を指標に検討したところ、抗利尿ホルモン V2 作用は DPOAE の出力を低下させた。特に内リンパ嚢閉塞術後にデスマプレシンを投与すると、より高度の聴力障害を認めた。この結果はメニエール病の発作における難聴の発現に、内リンパ嚢の機能低下と抗利尿ホルモンが関与していることを示唆した。(4) 鼓室内薬剤投与では徐放されることで 1 回の投与でも長時間薬剤が放出されるような薬剤形態が求められている。ヒアルロン酸は徐放薬であることが報告されており、ヒアルロン酸を用いて鼓室内投与を行った。ヒアルロン酸の粘度を変えて鼓室内投与を行ったが、粘度が高まっても徐放効果が高まる傾向を認めたものの、粘度の条件間で有意な差を認めなかった。マウスの中耳は小さく、薬剤投与の徐放効果を観察するには困難かもしれないが、マウス内耳への投与においてヒアルロン酸は有用な徐放効果を認めなかった。(5) 急性高度感音難聴の治療薬として用いられるステロイドの鼓室内投与によって、蝸牛局所で発現変動する蛋白質を iTRAQ(isobaric Tags Relative and Absolute Quantification) 標識法と質量分析計を用いて 11 種類同定した。さらに急性感音難聴発症、ステロイド全身投与モデルマウスにおいて、ステロイド投与により蝸牛局所で難聴関連蛋白 Myelin protein zero (MPZ) の発現量が増加し、Heat shock protein 70 が減少することをウエスタンブロットで明らかにした。(6) 虚血性内耳障害に対する IGF 鼓室内投与の効果について検討した。一過性内耳虚血を負荷したスナネズミにインシュリン様細胞増殖因子 1 (IGF-1) を投与し、その内耳障害保護効果を検証した。IGF-1 を含浸させたゼラチンハイドロゲルを用意し、虚血負荷 30 分後に正円窓に留置したところ、IGF-1 投与群では ABR の閾値上昇は有意に抑制され、組織学的にも有毛細胞の脱落は軽減した。この結果から IGF-1 の局所持続投与は虚血による急性内耳障害の防御に有効であると結論した。(7) 骨髄幹細胞の静脈内投与による虚血性内耳障害の治療の可能性について検討した。虚血直後に骨髄幹細胞投与群の ABR 閾値上昇は軽微であり、内有毛細胞の脱落率は有意に抑制されていた。骨髄幹細胞は蝸牛軸の血管内やその周辺で認められ、栄

養因子蛋白の発現が亢進していた。以上の結果から、幹細胞より分泌された神経栄養因子により内耳障害が抑制されたと結論した。

III. 難聴遺伝子による難聴発症機構の解析: (1) 突発性難聴の関連遺伝子の検索を行った。ゲノムワイドの相関解析等の手法を用いて特異性両側性感音難聴の原因遺伝子の解析を進めた。(2) 「難治性内耳疾患の遺伝子バンク構築研究班」の遺伝子バンク構築事業を継続した。本年度まで 288 例の検体を登録した。今回は 1 段階目の解析として突発性難聴 96 症例を対象に候補遺伝子相関解析を行った。31 遺伝子 39 遺伝子多型を対象としたが、その結果 SOD1、PRKCH・GSTP-1 遺伝子にてアレル頻度に有意差を認めた。一方、過去に突発性難聴との関連が報告されていた MTHFR、NOS3、LTA 遺伝子などでは差を認めなかった。2 段階目の解析として、対象 192 症例について検討した結果、SOD1 遺伝子の rs4998557 多型について優性遺伝モデルで有意差を認めた。(3) 前庭水管拡大症は、最も多い内耳奇形であると同時に、変動し進行する難聴、反復するめまいという臨床特徴がある。本疾患の臨床徴候と SLC26A4、ATP6V1B1、SIX1 の遺伝子変異を解析し、臨床徴候は、前庭水管拡大の解剖学的所見と関連しない事を見出した。また、これらの変異例における聴平衡機能について検討し、聴平衡症状には SLC26A4 や ATP6V1B1 が担うと考えられる内リンパ pH ホメオスタシスの破綻が関与する可能性が考えられた。(4) ミトコンドリア DNA3243A>G 変異は、ミトコンドリア脳筋症や母系遺伝形式の糖尿病、難聴などの多彩な臨床徴候を示す。今回、家族歴聴取上は母系遺伝の遺伝性難聴が疑われず、耳小骨奇形を有して、網羅的解析で初めて変異を確定診断した家系を経験し、ミトコンドリア変異による表現型が様々である点を報告した。ホルマリン固定、EDTA 脱灰、パラフィン包埋のヒト側頭骨 3 検体を対象に、レーザーマイクロダイセクションの手法により、ラセン靱帯、外有毛細胞、ラセン神経節、血管条を採取し、RNA を抽出するのに成功した。この手法は、ヒト側頭骨パラフィン包埋切片から、内耳の特定の細胞から特定の mRNA を抽出可能としたもので、ヒトの内耳障害の RNA 解析法の確立に道筋をつけた。また、耳小骨奇形を合併したミトコンドリア 3243 変異症例が網羅的解析により診断されたので、その詳細を検討した。

IV. 急性感音難聴診断のための画像診断法確立:

(1) 7T-MRI を用いて内耳動脈の撮像を試みた。GE 社製の 7 T-MRI (Discovery MR950 7T)、32-channel surface coil を用い 3D TOF-SPGR 法で突発性難聴患者の内耳動脈の描出、評価を行った。18 名の突発性難聴患者と対照として 32 名の健聴者に撮影を行った結果、突発性難聴患者では 36 耳/36 耳(100%)、対照では 63 耳/64 耳(98.4%) で内耳動脈が描出された。これらの結果から、7 T-MRI により内耳動脈の描出が可能なこと、突発性難聴において内耳動脈レベルでの血行障害は稀なことが明らかとなった。MRI を用いた内耳動脈の描出および突発性難聴における画像を用いた血行障害の評価は世界初の研究である。

VI. 治療：(1) 急性高度感音難聴の新しい治療法としてのステロイド鼓室内注入療法の多施設臨床試験を継続した。(2) 2005 年度から行ってきた急性低音障害型感音難聴の単剤治療の臨床成績を解析、終了した。

4. 考察

I. 疫学・診断：(1) 10 年に 1 回の突発性難聴の疫学調査のため、疫学調査班(小橋元研究協力者)と準備したが、今回は岩手、愛知、愛媛県での地域調査を行なうことにし、データの収集を行なった。診断基準の改訂も行なったことから、これまでの疫学調査結果との単純な比較はできないが、今回は診療所も含めた調査であり、より実態に近いデータが得られたと考えられる。(2) 外リンパ嚢調査研究班と協力して外リンパ嚢の診断基準の見直しを行い最終案を確定した。新しいコクリン蛋白による診断を組み込み、画期的な診断基準になったと考えられる。(3) 突発性難聴の耳鳴は高齢者ではやや少なく、発症から時間が経過すると改善する可能性が示されたが、逆に聴力改善が良好でも症状が存在している割合が高いという特徴が認められた。一方、「聞こえづらさ」「聞こえの不快感」は聴力改善が不十分な症例において年齢や経過年数に関わらず残っていく症状であると考えられた。(4) 突発性難聴発症前のストレスについての検討から発症前に心身に何らかのストレスがかかっていたと自覚していた率が高いことが示された。ストレスが発症に関与している可能性を示唆する結果と考えられた。HbA1c 値は有意な差ではなかったが発症時にやや高い傾向が認められ、コレステロール値は発症時で有意に高かった。いずれの結果も突発性難聴発症前の時期におけるストレス反応の上昇を示唆する結果である

と考えられる。(5) Vogt-小柳-原田病(患者 85 例 170 耳)の聴力像について検討した。Vogt-小柳-原田病国際ワークショップ(2001)において作成された診断基準によると、蝸牛前庭神経症状の項目には耳鳴の有無しか含まれていないが、難聴の評価も重要なものとなることが示唆された。(6) 小児一側性難聴では、内耳・内耳道奇形、ムンプス難聴、先天性 CMV 感染症が主たる原因としてあげられる。特に MRI 検査による蝸牛神経の無～低形成が高頻度にみられ、CT と MRI による画像検査は必須となる。また、一側性感音難聴児の約 9% に先天性 CMV 感染症が関与していたことから、先天性 CMV 感染症も念頭に置く必要がある。

II. 実験動物モデルによる検討：(1) 耳毒性物質による蝸牛有毛細胞障害に対し、セラミド、スフィンゴシンは障害を増悪し、S1P は障害を軽減した。この結果から内耳におけるセラミド、スフィンゴシン、S1P のバランスが、耳毒性物質による内耳障害において重要であること、スフィンゴミエリナーゼにより内耳におけるセラミドは産生され、S1P の内耳保護効果は S1PR2 を介することが示唆された。(2) Cad11 は中耳含気化前の間葉系細胞に発現が認められた。Cad11-/-マウスは頭部・顎の短縮などの顔面奇形を併発しているが、Cad11 機能の消失によって神経堤細胞が正常な位置に移動できないために一連の頭部奇形が起きたものと考えられた。Cad11-/-マウスはこれまで詳細が不明であった伝音性難聴や中耳奇形の原因解明のための有望なマウスモデルになり得ると考えられた。(3) 抗利尿ホルモン V2 作用はメニエール病の発作における難聴の発現に関与していることが示唆された。さらに、内リンパ嚢機能障害に抗利尿ホルモン V2 作用が加わることにより、より強い傷害が内耳に引き起こされた。内リンパ嚢閉塞術+デスマプレシン投与群の結果は、内リンパ嚢機能障害を持つ動物にデスマプレシンを投与することにより、デスマプレシン単独投与と比べ、より強い傷害が内耳に引き起こされることを意味している。(4) 副腎皮質ステロイドなどの鼓室内投与に関する実験的検討を行った。内耳局所投与の薬物動態に関する基礎研究では全身投与と比較して早く内耳に到達し、全身投与と同等以上の濃度になった。内耳局所投与は、徐放されることで 1 回投与でも長時間薬剤が放出されるような薬剤形態が求められている。ヒアルロン酸の粘度を変えて鼓室内投与を行ったが、粘度が高まっても徐放効果が高まる傾向を認めたものの、粘度の条件間

で有意な差を認めなかった。しかし、薬剤のらせん神経節への到達におけるヒアルロン酸の徐放効果が示唆された。ヒアルロン酸の粘度差により薬物動態が異なっていたことから、粘度によって特有の内耳徐放効果が期待されると考えられた。(5) Mpz はステロイド投与により蝸牛局所で発現が増加した。Mpz 変異は遺伝性ニューロパチー (Charcot-Marie-Tooth 病) に伴う感音難聴を引き起こすことが知られている。Mpz は神経髄鞘の構成蛋白であるが、ステロイド投与によりその発現量が増加し、聴力改善に効果をもたらすと考察された。ステロイド投与により Hsp70 の発現が低下し、自己免疫性難聴を軽減する機序が存在すると考えられた。(6) IGF-1 には虚血性内耳障害の防御効果があることが確認された。IGF-1 は既に市販薬として入手が可能であり、将来的には内耳の再生、治療への臨床応用が容易にできると考えられる。ゼラチンハイドロゲルを用いた IGF-1 による突発性難聴の治療は、京都大学を中心に多施設共同ランダム化比較試験 (RCT) が行われているが、今後、この RTC の結果をふまえ、ゼラチンハイドロゲルを活用した薬剤徐放メカニズムの解明や薬効を延長するための工夫、IGF-1 の効率的投与方法など基礎研究を進める予定である。(7) 骨髄幹細胞は自己増殖能と多分化能を持ち、多種多様な組織や臓器になりうる細胞であることから、不可逆的障害を受けた組織・臓器を再生させる効果が期待できる。障害局所に投与した幹細胞は、死滅した神経細胞と置き換わり機能を代行するだけでなく、神経栄養因子を分泌して障害進行を抑制する効果もあることが分かっている。従って障害急性期に骨髄幹細胞を投与すると、神経栄養因子の合成促進を介して内耳障害防御に働くものと推察される。今回の結果で神経栄養因子 (GDNF) の発現が上昇していたことから、内耳に到達した幹細胞が GDNF を産生し、これが内耳障害の防御に働いたものと考えられた。

III. 難聴遺伝子による難聴発症機構の解析

(1) 突発性難聴発症の関連遺伝子を検索し、SOD1 遺伝子の rs4998557 多型について優性遺伝モデルで有意差を認めた。SOD1 (Superoxide dismutase 1) 遺伝子は酸化ストレス応答の遺伝子として報告されており、主に、活性酸素の処理に関連する遺伝子として報告されている。内耳の障害に酸化ストレス応答が関連している可能性は動物モデル等でも示されており、また騒音性難聴との関連性も近年報告されてきている。突発性難聴との関連に関

する報告はなく、更なる解析により、原因との関連性などについて究明していくことが望まれる。

(2) 平成 21 年度に行われた「難治性内耳疾患の遺伝子バンク構築研究班」(宇佐美研究班) を事実上、統合して遺伝子バンク構築事業を継続したが、今後は新たな研究班で難治性内耳疾患について遺伝子バンク構築を継続する必要がある (3) *SLC26A4* 変異例では難聴の進行は 60%、難聴の変動は 80%、反復性めまいは 80%に認められ、過去の報告と一致した結果が得られた。今回の *ATP6V1B1* 変異例は、両難聴の変動・進行と反復性めまい発作を示し、*SLC26A4* 変異例と同様の聴平衡覚所見を示した。BOR/BO 症候群では、約 40%に *EYA1* 変異が同定されるが *SIX1* 変異例は今回の 2 家系のほか他の 2 家系に報告されているのみであり、進行性難聴を示す可能性があるが、明らかな難聴の変動やめまい発作は認められないと考えられる。*Six* 遺伝子ファミリーは共発現する *Eya* 遺伝子ファミリーなどとともに器官の発生を規制している。一方、リンパの pH ホメオスタシスは聴覚およびその維持に重要であり、主に H^+ と HCO_3^- によりコントロールされている。*SLC26A4/Slc26a4* がコードする pendrin は内耳では Cl^-/HCO_3^- 交換体として働く。*ATP6V1B1/Atp6v1b1* は H^+ -ATPase のサブユニットの 1 つをコードする。従って、*SLC26A4* と *ATP6V1B1* は、内耳 pH ホメオスタシスを担っている可能性がある。そして、*SLC26A4* 変異例や *ATP6V1B1* 変異例では何らかの誘因によりこの pH ホメオスタシスに破綻が生じ、難聴の変動や反復性めまいを引き起こす可能性があると考えられた。(4) これまでの FFPE 標本からの mRNA 解析法は、特殊処理をした標本であり、すべての標本に適応しうるものではなかったが、今回の LMD 法では、通常のヒト保存側頭骨標本より、mRNA を抽出し、semi-nested RT-PCR 法による GAPDH, COCH, *SLC26A5* mRNA の局在の同定が可能であった。本法は、生前の聴覚プロフィール症例の保存側頭骨標本において、分子病理学的検討が出来る可能性があり、ヒト側頭骨分子病理学解析法の新たなスタンダードとなりうると考えられた。(5) 遺伝性難聴におけるミトコンドリア病の診断においては、発症様式として母系遺伝以外の遺伝様式をとっていてもその可能性を考慮に入れておくことが必要である。また、耐糖能異常のほか中枢神経障害や心機能障害などの合併が埋没していないかを念頭に置き十分に病歴を聴取することが、本疾患を見逃さないための重要な点と考えられた。

IV. 急性感音難聴診断のための画像診断法確立：

(1) 7T-MRI を用いて内耳動脈の撮像を試みた。健聴者 13 例、突発性難聴 8 例を対象として 7T-MRI による内耳動脈の評価を試みた。内耳動脈は健聴で 95.5%、突発性難聴では 100%で描出された。7 T-MRI による内耳動脈の描出率は高く、突発性難聴における内耳動脈の評価が可能なが確認できた。突発性難聴では内耳動脈レベルでの循環障害は確認できなかった。

VI. 治療：(1) 急性高度感音難聴の新しい治療法としてのステロイド鼓室内注入療法の多施設臨床試験の準備を行った。予備試験の結果、現時点では salvage 治療としてのステロイド鼓室内注入療法は有意に聴力を改善するが、実用聴力まで改善する症例は限られており、薬剤投与のタイミングや投与する薬剤をさらに検討する必要があると考えられた。(2) 2005 年度から行ってきた急性低音障害型感音難聴の単剤治療の臨床成績を解析、終了した。今後、解析結果を発表する予定である。

Ⅲ. 診斷基準改定案

突発性難聴：診断基準

(厚生省特定疾患突発性難聴調査研究班、1973年)
(厚生労働省特定疾患急性高度難聴調査研究班、2013年改訂)

主症状

1. 突然発症
2. 高度感音難聴
3. 原因不明

参考事項

1. 難聴(参考:隣り合う3周波数で各30dB以上の難聴が72時間以内に生じた)
 - (1)文字どおり即時的な難聴、または朝、目が覚めて気づくような難聴が多いが、数日をかけて悪化する例もある。
 - (2)難聴の改善・悪化の繰り返しはない
 - (3)一側性の場合が多いが、両側性に同時罹患する例もある
 2. 耳鳴
難聴の発生と前後して耳鳴を生ずることがある。
 3. めまい、および吐気・嘔吐
難聴の発生と前後してめまい、および吐気・嘔吐を伴うことがあるが、めまい発作を繰り返すことはない。
 4. 第8脳神経以外に顕著な神経症状を伴うことはない
- 診断の基準：主症状の全事項をみたすもの

Criteria for diagnosis of sudden deafness

[The Ministry of Health and Welfare, Sudden Deafness Study Group (1973)]

[The Ministry of Health, Labor and Welfare, Acute Severe Hearing Loss Study Group (revised in 2013)]

Main symptoms

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

For reference

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

Definite diagnosis: All of the above main symptoms

特発性両側性感音難聴：診断基準

(厚生省特発性両側性感音難聴調査研究班、1977年)
(厚生労働省特定疾患急性高度難聴調査研究班、2013年改訂)

次の3条件を満たす感音難聴のことである

1. 進行性である
2. 両側性である
3. 原因不明である

解説

1. 進行性について

進行性はオーディオグラムによって追跡確認されたものである。進行の速度は問わないが、かなり急速に進行するもの、またはその時期をもったものを対象とする。また、時期によって多少の変動を繰り返すものでも全体として悪化の傾向を示すものは含まれる。年齢変化によると思われるものは除く。

2. 両側性について

両側性とは常に両側が同様な病像を示すという意味ではなく、両側罹患という意味である。したがって両側性感音難聴で一側のみが進行するという例も含まれる。

3. 原因不明について

原因不明とはその発症に明らかな時期的因果関係をもって難聴原因としての既知の外的因子(例えば騒音、外傷、中毒など、発現機構の明らかなもの) および内的因子(難聴原因遺伝子など)が関与していないという意味である。他疾患に合併したと思われるものでも、その因果関係が明瞭でないものは含まれる。

Criteria for idiopathic bilateral sensorineural hearing loss

[The Ministry of Health and Welfare, Sudden Deafness Study Group (1976)]
[The Ministry of Health, Labor and Welfare, Acute Severe Hearing Loss Study Group (revised in 2013)]

Idiopathic bilateral sensorineural hearing loss is diagnosed when the following 3 symptoms are evident

1. Progressive
2. Bilateral
3. Unknown etiology

For reference

1. Progressive: Hearing loss must be confirmed audiometrically to be progressing fairly rapidly. Hearing loss may be fluctuated. Age-related change is excluded
2. Bilateral: Hearing loss must be observed bilaterally, but may be different level or pattern between ears.
3. Unknown etiology: Hearing loss caused by etiologies including noise, trauma, ototoxic compounds or intrinsic genetic factors is excluded.

急性低音障害型感音難聴：診断基準

(厚生省特発性両側性感音難聴調査研究班、2000年)
(厚生労働省特定疾患急性高度難聴調査研究班、2013年改訂)

主症状

1. 急性あるいは突発性に耳症状(耳閉塞感、耳鳴、難聴など)が発症
2. 低音障害型感音難聴
3. めまいは伴わない
4. 原因不明

参考事項

1. 難聴
 - ① 低音域3周波数(0.125 kHz、0.25 kHz、0.5 kHz)の聴力レベルの合計が70dB以上
 - ② 高音域3周波数(2 kHz、4 kHz、8 kHz)の聴力レベルの合計が60dB以下
2. 蝸牛症状が反復する例がある
3. 反復発症時に聴力レベルが診断基準に合致しない例がある
4. メニエール病に移行する例がある
5. 軽いめまい感を訴える例がある
6. 時に両側性の例がある

確実例 : 主症状のすべて、および難聴基準①、②をみたすもの

準確実例 : 主症状のすべて、および難聴基準①をみたし、かつ高音域3周波数の聴力レベルが健側と同程度のもの