

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09580

研究課題名(和文) 最適治療法確立のための遺伝的・疫学的細分アプローチによる突発性難聴の病態解明

研究課題名(英文) Elucidation of the pathogenesis of idiopathic sudden hearing loss by genetic and epidemiological segmental approaches to establish optimal treatment

研究代表者

鬼頭 良輔 (Kitoh, Ryosuke)

信州大学・学術研究院医学系・准教授

研究者番号：80419358

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：個々の突発性難聴患者に対する最適な治療法の選択・確立のため、疫学的なアプローチによる治療アルゴリズムを作成、それを発展させるため、突発性難聴の発症や治療効果に関連した遺伝子の同定について研究を行った。
過去に採取した突発性難聴患者の血液サンプルを用い、ゲノムワイド関連解析のための遺伝子多型のタイピングを、ジャポニカアレイv.2を用いて実施した。対照群のタイピング結果として、バイオバンク横断検索システムを利用して、80歳以上・難聴既往のないサンプルを抽出し、バイオバンクジャパン・NBDCからデータの提供を受け、これを用いて解析を行っている。結果については学会報告を行い、論文作成中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

突発性難聴については、局所循環障害・ウイルス感染・自己免疫など複数の機序の関与が推測されているものの、未だに発症メカニズムには不明な点が多い疾患である。国内で実施されてきた疫学調査でも、患者数は増加しているのが現状であるが、治療を行っても約25%は改善を得られない症例があるのが現状である。
本研究では、他領域で原因不明の疾患の原因究明のために用いられているゲノムワイド関連解析を実施し、複数の候補遺伝子を同定するに至っている。本アプローチは、これまで報告されておらず、今後特定された候補遺伝子の臨床的な意義を検討し、最適な治療選択の根拠となる基礎データとして価値のあるものと考えている。

研究成果の概要(英文)：In order to select and establish the optimal treatment for individual patients with idiopathic sudden sensorineural hearing loss, we studied the identification of genes associated with the development and treatment efficacy of idiopathic sudden sensorineural hearing loss.

Blood samples from patients with idiopathic sudden sensorineural hearing loss collected in the past were used for typing of genetic polymorphisms for genome-wide association analysis using Japonica Array version 2. As the typing results of the control group, we used the Biobank cross search system to extract samples that were over 80 years old and had no history of hearing loss, and received data from Biobank Japan and NBDC, which were then used for the analysis. The results were reported at an academic conference and a paper is being prepared.

研究分野：聴覚障害

キーワード：突発性難聴 治療アルゴリズム ゲノムワイド関連解析 バイオバンク横断検索システム

1. 研究開始当初の背景

突発性難聴は、1. 突然発症、2. 高度感音難聴、3. 原因不明を特徴とする疾患であり、患者のQOLを著しく低下させるため疾患の克服が期待されている重要な疾患の一つである。これまで、種々のアプローチによる研究がなされてきたが、未だに発症メカニズムには不明な点が多く、また治療法に関しても未確立である。国内では、およそ10年ごとに厚生省特定疾患「急性高度難聴調査研究班（1972年時は突発性難聴調査研究班）」にて疫学調査が行われてきたが、突発性難聴の年間受療者数は顕著に増加している（図1）。

その治療としては従来から、副腎皮質ステロイドを中心とした種々薬剤の投与が行われているが、現状では約25%の症例では治療効果が認められないことが知られている（図2：Kitoh et al. 2017 Acta Otolaryngologica）。

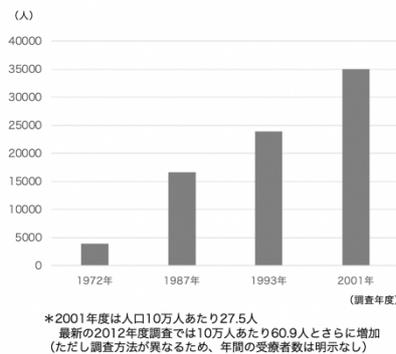


図1. 突発性難聴の患者数推移

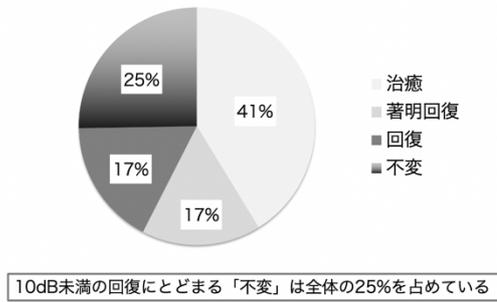


図2. 疫学調査による治療効果

突発性難聴の治療法が確立されない理由として、疾患自体が複数の病態から発症した「結果」を見ているに過ぎないため、単一治療を行う研究方法では適切な結果が得られないのではないか、と考えている。

このため、突発性難聴自体を原因病態や臨床的な予後因子などで細分化すること（細分化アプローチ）で、最終的に症例ごとに適切な治療を行うことに繋がる可能性があるものと思われる（図3）。その細分化の方法として「ゲノムワイド関連解析」と「突発性難聴患者 3400 名以上を対象に実施した本邦の疫学調査結果」を用いる。

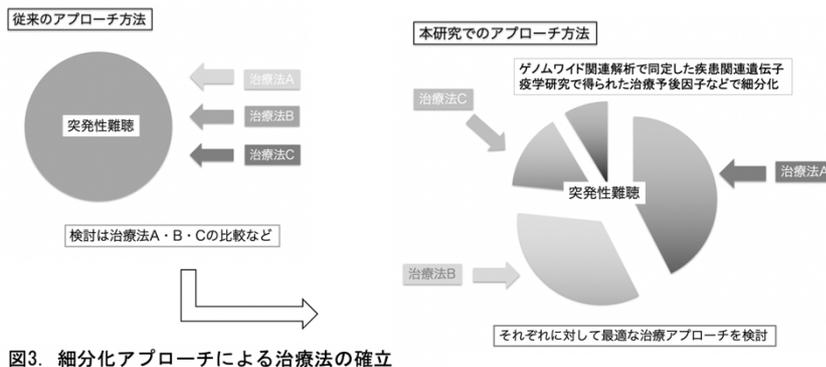


図3. 細分化アプローチによる治療法の確立

2. 研究の目的

疫学調査による臨床的な予後因子と遺伝子解析の結果などを組み合わせて、個別に最適な治療法の選択を可能とするアルゴリズムを確立することを最終目的としている。

3. 研究の方法

1) 疫学調査に基づく現状での治療アルゴリズムの作成と運用

「難治性聴覚障害に関する調査研究班」において作成された症例登録レジストリを活用して、専門施設によって収集された質の高い疫学データを用い、治療効果に関連した要素について検討を行う。すでに突発性難聴患者 3400 名以上を対象に解析した結果、本疾患における聴力障害の重症度や治療効果に関連した因子について一定の知見を得ている (Kitoh et al. 2017 Acta Otolaryngologica)。この知見をもとに、まずは臨床的に使用可能な治療アルゴリズムを作成し、またこのアルゴリズムが実際に運用可能か、さらには治療効果についても検討する。

2) 突発性難聴の疾患感受性遺伝子・治療効果を予測する遺伝子の探索

難治性内耳疾患の遺伝子バンクプロジェクトによって集積された突発性難聴患者の DNA サンプルを用い、ゲノムワイド関連解析を行う。対照群には突発性難聴既往のない正常者の遺伝子多型タイピング結果を用いる。具体的には、バイオバンクなどに集積されたデータを用いることを予定している。疾患感受性遺伝子多型が同定された場合、その遺伝子の機能的特性に応じて、治療方法を模索する。仮に凝固機能に関連した遺伝子であった場合には、積極的に抗凝固療法を、また炎症に関連した遺伝子であった場合には、従来使用しているステロイドの増量や免疫抑制剤使用についての検討などを行う。

4. 研究成果

1) 疫学調査に基づく治療アルゴリズムの作成・運用

まず 2014-2016 年に実施された疫学調査の結果をもとに、実際に国内で実施されている治療に即したアルゴリズムを作成し、論文報告を行った (図 4 Kitoh R, Acta Otolaryngol. 2020 を改変)。

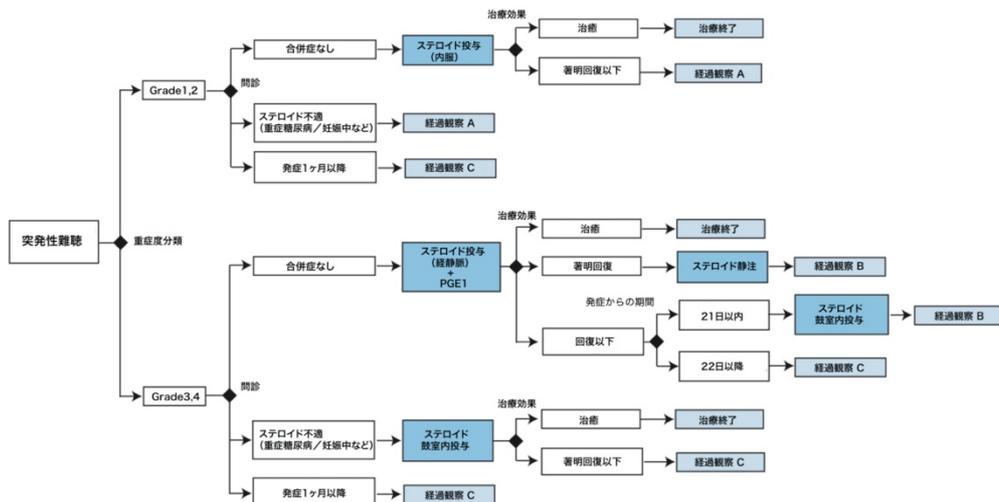


図 4 疫学調査結果に基づく突発性難聴に対する治療アルゴリズム

実際に臨床で運用可能かどうかについては、信州大学医学部附属病院と、その関連病院 (18 施設)、さらには大学病院近隣の開業医 2 施設のデータを収集して検証した。

127 症例（大学病院 50 例・関連病院 47 例・開業医 30 例）について検討を行い、上述のアルゴリズムに準拠したかどうか・また準拠と逸脱で治療成績の違いなどについても検討し、聴覚医学会学術講演会（2021 年 10 月）で発表を行った（図 5, 6）。

アルゴリズムの準拠・逸脱

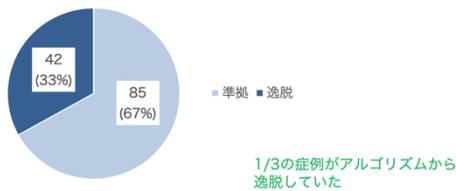


図 5 アルゴリズム準拠・逸脱の割合

治療アルゴリズムと治療効果判定

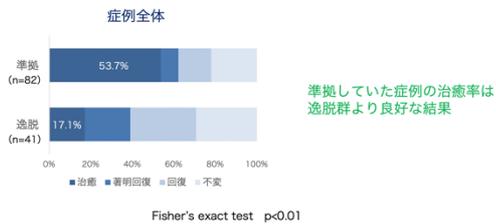


図 6 準拠と逸脱の治療効果の違い

本治療アルゴリズムは、全体では 67%の準拠率であったが、1 次治療例に限れば 80%程度が準拠した治療が可能で、また準拠できた症例は逸脱例よりも治療効果が良好であった。逸脱例が多いグループや準拠していても治療効果が低いグループを抽出でき、これらの症例では特に新規の治療選択が必要と考えられた。

2) 突発性難聴の疾患感受性遺伝子・治療効果を予測する遺伝子の探索

難治性内耳疾患に関する調査研究班で全国の施設から集積した突発性難聴の遺伝子サンプル 192 名分を用い、またアレイには東北メディカルメガバンクが構築した日本人全ゲノムから設計したジャポニカアレイ version. 2 を用いて、約 66 万遺伝子多型のタイピングを実施した。まず試験的にすでに同様のアレイを用いて遺伝子多型のタイピングが行われ、公開されている jMorp (Japanese Multi Omics Reference Panel <https://jmorp.megabank.tohoku.ac.jp>) の 38000 名分のデータを対照群として用い、疾患感受性遺伝子の探索を実施、学会報告した（日本耳鼻咽喉科頭頸部外科学会総会 2023 年 5 月）。本検討では以下のようなマンハッタンプロットが作成され（図 7）、特に低い p 値の 6 番染色体部分は、NFKBIL1 遺伝子が該当していた。本遺伝子は他領域（糖尿病・心筋梗塞・ベーチェット病）の GWAS で感受性遺伝子の候補として報告されている。

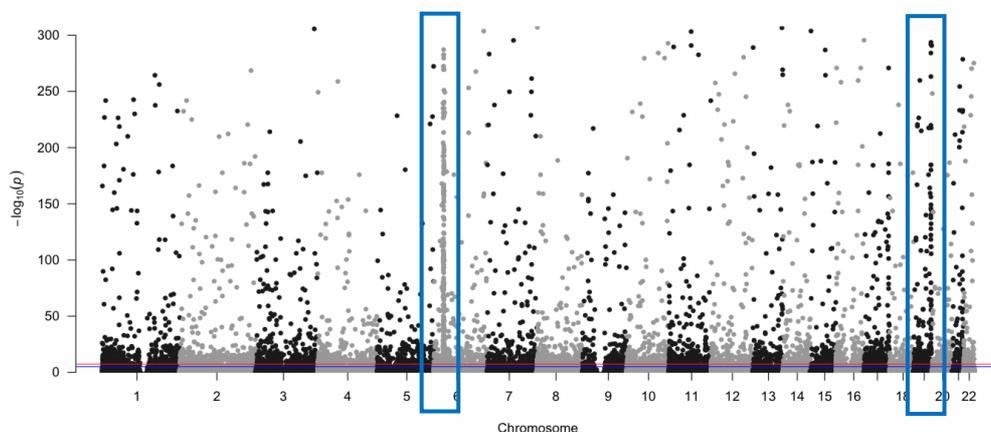


図 7 jMorp の公開データとの比較で作成したマンハッタンプロット

さらに治療効果を予測する因子の探索のため、192名のSNPタイピング結果を治療効果判定で2群（著明回復以上と回復以下）に分けて、比較検討を行った（日本耳鼻咽喉科頭頸部外科学会総会 2024年5月に学会発表）。本解析では、解析精度を向上させる目的で、遺伝子型のインピュテーションを行い、66万遺伝子多型から、1000万遺伝子多型の遺伝子型を解析に使用した。インピュテーションは東北メディカルメガバンクのインピュテーションサービス（3.5kHz JPNv2 Haplotype Reference Panel）を利用した。解析結果で作成したマンハッタンプロットの結果を図8に示す。

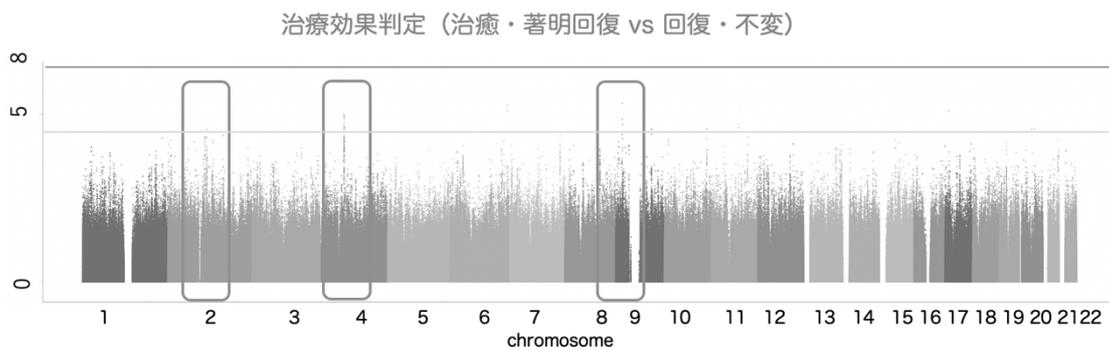
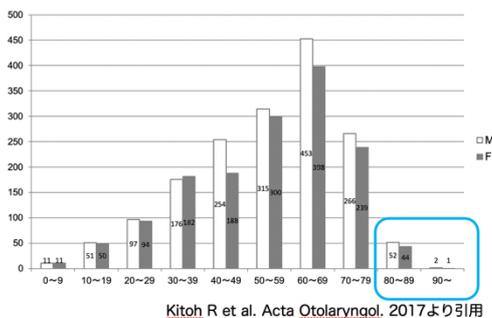


図8 治療効果判定別解析のマンハッタンプロット(著明回復以上 91例・回復以下 101例) 本検討では、症例数が少なかったこともあり、ゲノムワイド水準である 10^{-8} 未満のp値をもつ遺伝子多型領域は認められなかったが、 $10^{-4.5}$ 未満で区切った結果、3カ所の領域が候補として挙げられた。うち、2番染色体についてはFBLN7遺伝子が該当し、本遺伝子は炎症反応制御に関連することが報告されている遺伝子である。

上記で示してきた結果のうち、対照群にjMorpのデータを用いた場合、突発性難聴の既往があるケースや今後突発性難聴を発症するケースを除外できないため、臨床データを利用可能な、バイオバンクの遺伝子タイピング結果を対照群として使用することとした。この目的のため、バイオバンクネットワークの資料・情報を利用する研究課題の公募に応募し、バイオバンク横断検索システムで参照するタイピング結果の絞り込みを行った（具体的な対象は図9に示す）。

バイオバンク横断検索システムを利用した対照群のサンプル抽出

突発性難聴の疫学調査データ (n=3419)



年齢分布より
80歳以上は全体の3.1%程度



- ・ 検体採取時80歳以上
 - ・ 「難聴」の既往症なし
- 以上の条件のサンプルを対照群として抽出

図9

対照群のサンプル抽出方法

結果として、バイオバンクジャパン・NBDCの約15500名分の臨床データとSNPデータの分譲を受け、我々がタイピングを行った192名の突発性難聴患者のデータとの間でGWAS解析を現在実施中である。今後、上記の解析結果を論文報告し、さらに臨床的に応用すべく検討を進める予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鬼頭良輔
2. 発表標題 突発性難聴症例の重症度・治療効果に関するGWAS
3. 学会等名 日本耳鼻咽喉科頭頸部外科学会総会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 鬼頭良輔
2. 発表標題 バイオバンク横断検索システムを利用した 突発性難聴の GWAS 解析
3. 学会等名 バイオバンク信州セミナー
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 鬼頭良輔
2. 発表標題 突発性難聴のGWAS解析
3. 学会等名 日本耳鼻咽喉科学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鬼頭良輔
2. 発表標題 疫学調査結果に基づいた突発性難聴の治療アルゴリズムの実臨床での適用について
3. 学会等名 日本聴覚医学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	宇佐美 真一 (Usami Shin-ichi) (10184996)	信州大学・医学部・特任教授 (13601)	
研究 分担者	西尾 信哉 (Nishio Shin-ya) (70467166)	信州大学・医学部・特任講師 (13601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------