

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 18 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24390157

研究課題名(和文)疫学調査と実験研究の融合による騒音性難聴の現状把握と発症機構の解析

研究課題名(英文)Review and analysis of mechanism for noise-induced deafness by epidemiological and experimental studies

研究代表者

加藤 昌志 (Kato, Masashi)

名古屋大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：10281073

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 10,700,000円

研究成果の概要(和文)：本疫学研究では、8k Hzの聴力と喫煙および爪のバリウム濃度には相関関係を認めた。しかし、8k Hzの聴力とMP3プレーヤーの音圧の間には、有意な相関関係を認めなかった。我々の疫学研究は、対象被検者数が限られていることを考慮し、現時点で、聴力と音圧に関する結論は保留とした。今後検討が必要である。我々の実験研究では、騒音性難聴を制御に関与する分子の候補と騒音性難聴の発症を予防できる薬物の候補を見つけた。さらに、バリウムの飲用により、マウスで聴力が低下することを確認した。以上のように、疫学研究と実験研究により、本研究は、環境因子を介した難聴に関する新しい知見を提供した。

研究成果の概要(英文)：Our epidemiological study in limited number of subjects showed significant correlation between hearing level of 8k Hz and smoking and barium concentration in toenail but not sound level from personal music players at present moment. We will keep analyzing the correlation between hearing level and sound level from personal music players with increasing the number of subjects. Our experimental study further identified candidates of preventive medicines as well as regulatory molecules for noise-induced deafness. Our experimental study also showed promoted hearing loss in mice by drinking barium. Thus, we provided new insight for environmental factors-mediated deafness by our epidemiological and experimental studies.

研究分野：衛生学・耳科学

キーワード：難聴 環境因子 騒音

1. 研究開始当初の背景

(1) 騒音性難聴の現状：

騒音性難聴は、労働衛生学領域における重要疾患としても位置づけられ、法令により厳しく管理されている。一方、EU 健康リスク評価委員会は、若者を中心とした MP3 プレーヤーの爆発的普及により EU 域内だけで最大 1000 万人の騒音性難聴患者が発症する可能性を警告し、MP3 プレーヤーの音量を 85 dB 以下に制限する対策を開始した。若者の騒音性難聴をめぐる環境保健問題は日本でも同じで、対策は緊急を要する。しかし、従来の音域 (0.5k-8k Hz) の聴力検査では、若者の軽度の聴力低下を測定することは容易ではない。

通常の純音聴力検査は 0.5k-8k Hz の音域で実施される。一方、20 歳代の若者の聴覚閾値は、耳疾患がない場合は、通常 20dB 以下の正常範囲と診断される。ゆえに、若者において、騒音刺激を含めた環境因子の聴覚閾値 (聴力) への影響を調べることは、容易ではない。

申請者らは、若者でも聴覚閾値に差が生じやすい 12k Hz の音域を含めて純音聴力検査を実施することにより、若者を含めた広い年齢層において、聴覚に対する環境因子の影響を鋭敏に調べることができることを、先行研究で報告している (Ohgami et al. *Toxicol Ind Health*, 2011)。

(2) 騒音性難聴の発症機構解析の現状：

音刺激が騒音性難聴を誘発する機構はほとんど不明である。世界的にも、音刺激に対する聴力への影響を制御する機能を持つ分子 (騒音性難聴制御分子) の報告は極めて少なく、分子を標的とした騒音性難聴を予防法は、ほとんど無いのが現状である。

(3) 騒音性難聴の予防対策の必要性：

若者が曝露されている騒音の音域 (Hz) や音圧 (dB) を把握し、これに準じた騒音を動物に負荷することにより、騒音性難聴の発症機構や病態を解明し、予知・予防の開発に結びつける疫学調査と実験研究の実施が必要である。

2. 研究の目的

(1) 疫学研究

年齢・性別・BMI に加えて、日常的に曝露されている音刺激・喫煙歴・飲酒歴等に関するアンケート調査および純音聴力検査等の生理学的検査を加えた疫学調査を実施し、日本人を対象として、騒音をはじめとする環境因子が聴覚に与える影響をヒトで調べる。

さらに、バングラデシュ等の国外においても年齢・性別・BMI・喫煙歴等のアンケート調査に加えて、純音聴力検査を実施し、環境因子が聴覚に与える影響をヒトで調べる。

(2) 実験研究

騒音性難聴の発症機構の解析

疫学調査で把握されたレベルの騒音 (Hz・dB) を遺伝子改変マウスに曝露し、難聴発症の感受性を修飾する分子 (騒音性難聴制御分子) を探索する。

さらに、騒音の聴覚以外に与える影響を、マウスを使用して調べた。

騒音性難聴予防療法の開発

化合物ライブラリーから標的分子の発現を修飾する化合物を細胞レベルで 1 次スクリーニングした。次に、騒音性難聴の予防効果を動物レベルで 2 次スクリーニングし、経口投与により騒音性難聴を予防できる薬物を動物レベルで探索する。効果を認めた薬物については、動物レベルで作用機構について検討した。

疫学調査と実験研究の融合

疫学調査と実験研究の成果を基に、騒音をはじめとする環境因子が聴覚および全身症状に与える影響について、20 歳代の若者を含めたより広い年齢層で考察する。

3. 研究の方法

(1) 疫学研究：

音刺激の測定：

FFT アナライザーを用いて MP3 プレーヤーから曝露される音刺激 (騒音) レベルを測定した。

聴力検査：

国内では ABR (聴性脳幹反応) 測定時に使用する音刺激装置にて、防音室内で 1-12k Hz 聴覚閾値を測定した。一方、海外の聴力検査では、FFT アナライザーを用いて調整した純音を iPod に録音して 1-12k Hz 聴覚閾値を室内で測定した。

アンケート調査：

参加同意書とともに年齢・性別・喫煙歴・飲酒歴・身長・体重 (BMI)・MP3 プレーヤーの使用時間等に関する質問に対する回答を紙に記載する方式で実施した。

(2) 実験研究：

音刺激を野生型マウスおよび遺伝子改変マウスに曝露し、騒音性難聴制御分子を探索した。さらに、対象とする分子が騒音性難聴の感受性を変化させる機構を解析した。また、騒音がマウスに与える聴覚以外の影響についても調べた。

さらに、代表者らが既に発見した騒音性難聴制御分子を標的とし、騒音性難聴の予防に有効な薬物の候補を動物で探索した。

(3) 疫学調査と実験医学研究の融合：

騒音を含めた環境因子が受けている騒音と聴力レベルから、環境因子依存的に発症する難聴を予防する技術について考察した。

4. 研究成果

(1) 疫学研究：

20 歳代の若者を対象とした国内疫学調査：

現時点では、「MP3 プレーヤーから受ける 8K Hz および 12kHz の騒音レベル」と「聴力」との間に統計学的に有意と言える相関関係は認めなかった(単変量解析)。さらに、「MP3 プレーヤーから受ける 8K Hz および 12kHz の騒音レベルと曝露時間との積」と「聴力」との間にも相関関係は認めなかった(単変量解析)。これらは、20 歳代の若者では、まだ騒音性難聴が顕在化していない可能性があることを示している。しかし、さらに被験者数を増やすことで異なる結果を得られる可能性もあるので、今後検討が必要であると考えられた。

国外疫学調査：

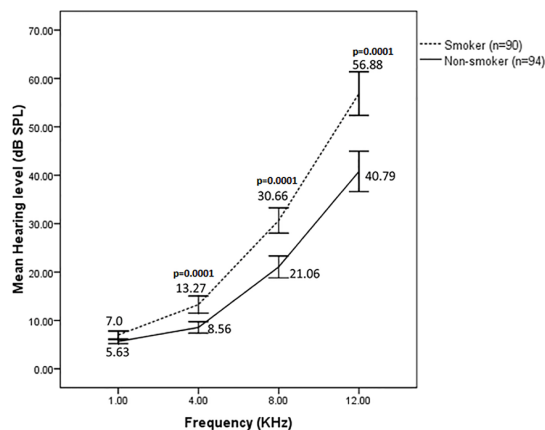
MP3 プレーヤーおよび飲酒の習慣がほとんど普及していないバングラデシュにおいて、184 名を対象として、環境因子が聴覚に与える影響を調べた。

図 1 に示すように、単変量解析では、特に喫煙の有無が聴覚に影響を与えることがわかった。

さらに、聴力に影響を与える年齢と BMI にて調整したオッズ比を調べた。表 1 に示すように、喫煙の有無は、40 歳以上・40 歳以下にかかわらず、4k Hz と 8k Hz の聴力に影響を与えることがわかった。12k Hz の聴力については、40 歳以下では喫煙の影響を受けるものの、40 歳以上では、喫煙の影響は限られていた。

上記の結果は、環境因子として、喫煙が聴覚に影響を与えることを示している。一方、単変量解析では、喫煙影響は 12k Hz の聴力に対して最も強い影響があったにもかかわらず、40 歳以上では、12k Hz の聴力に対して喫煙の影響が限られていた理由は不明である。しかし、聴覚は、加齢の影響を受けやすい感覚器なので、喫煙より加齢の影響を大きく受けた可能性は否定できない。

【図 1】



【表 1】

Table 2. Association between smoking and age on hearing impairment.

Frequency	Age & smoking status	Subjects undergoing hearing impairment		p-value	Odds ratio (95% CI)
		No.	%		
12 kHz	<40 years				
	Smoker (n = 49)	26	53.1	0.0003*	5.08 (2.09-12.33)
	Non-smoker (n = 55)	10	18.2		
	>40 years				
Smoker (n = 41)	38	92.7	0.06	3.80 (0.94-15.20)	
8 kHz	<40 years				
	Smoker (n = 49)	18	36.7	0.002*	5.80 (1.95-17.22)
	Non-smoker (n = 55)	5	9.1		
	>40 years				
Smoker (n = 41)	28	68.3	0.004*	3.84 (1.52-9.72)	
4kHz	<40 years				
	Smoker (n = 49)	10	20.4	0.03*	4.44 (1.14-17.23)
	Non-smoker (n = 55)	3	5.5		
	>40 years				
Smoker (n = 41)	16	39.0	0.005*	5.60 (1.67-18.77)	
1kHz	<40 years				
	Smoker (n = 49)	2	4.1	0.05	2.2 (0.20-26.15)
	Non-smoker (n = 55)	1	1.8		
	>40 years				
Smoker (n = 41)	6	14.6	0.17	3.1 (0.59-16.77)	

*Statistically significant.

Abbreviation: CI: confidence interval; OR: odds ratio.

本研究の実験研究において、代表者等は、バングラデシュの飲用井戸水に含まれるレベルのバリウム飲用により、難聴が発症する可能性を報告した。また、本研究の疫学調査では、バングラデシュの住民における尿・爪・毛髪中のバリウム濃度が、ヒトの 1k・4k・8k・12k Hz の聴覚に影響を与える可能性を調べた。多変量解析によると、特に、爪に蓄積しているバリウム濃度と 4k・8k・12k Hz の間に、統計学的に有意な相関関係を認めた。本研究の実験研究と疫学調査の結果は、バリウムが聴覚毒性を持つ可能性が高いことを示している。

(2) 実験研究

騒音性難聴の発症機構の解析

野生型マウスと遺伝子改変マウスに同レベルの騒音を曝露し、難聴発症の感受性を検討し、騒音性難聴制御分子を特定した。

さらに、騒音による聴覚以外に与える影響を、野生型マウスを使用して調べた。マウスでは、非可聴域となる 100 Hz の騒音を曝露した際の亜急性変化を歩行試験・ロータロッド等の生理機能検査により検討したところ、曝露マウスでは平衡機能障害を発症している可能性が高いことがわかった。

次に、免疫組織染色等を用いて内耳を形態学的に調べたところ、前庭の有毛細胞に形態学的異常を見つけた。また、酸化ストレスマーカーにて、内耳前庭の有毛細胞を染色したところ、100 Hz の騒音曝露群で酸化ストレスが亢進している可能性を見つけた。一方、100 Hz の騒音を曝露にて、難聴は誘発されなかった。

マウスにとって非可聴域となる 100 Hz の騒音は、前庭の有毛細胞を障害して、平衡機能障害を誘発する可能性があることを、世界で初めて示した。本研究により、低周波騒音の健康リスクを動物にて評価する道が開かれた。

騒音性難聴予防療法の開発

現時点で、経口投与で騒音性難聴を予防できることが証明されている薬物は、世界的に見ても限られている。一方、将来の騒音曝露をあらかじめ予測することも少なくないので、騒音性難聴の治療だけでなく、予防の開発にも意義を認めることができる。

本研究では、低分子化合物ライブラリーから標的分子の発現を修飾する化合物を細胞レベルで1次スクリーニングし、複数の候補を得た。次に、マウスを用いて、個体レベルで効果を確認する2次スクリーニングを現在も継続している。さらに、騒音性難聴予防効果を示す可能性がある薬物について、形態学的に検討を進めた。候補薬物は、騒音により障害を受ける内耳の異常を緩和できる可能性がある。現在、騒音性難聴制御分子に焦点をあて、さらに詳細な解析を進めている。

(3) 疫学調査と実験研究の融合

疫学研究と実験研究を平行して実施している研究施設は、世界的に見ても限られている。一方、本研究では、バリウムと聴力の関係を疫学調査と実験研究で調べ、より信頼性の高い成果を提供した。本研究では、同一の研究室で、条件を類似させた疫学研究と実験研究を平行して推進することが、「新しい衛生学研究」を構築する方向性の1つである可能性を提案した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 46 件)

- ① [Ohgami N](#), Mitsumatsu Y, Ahsan Nazmul, Akhand AA, Li X, Iida M, [Yajima I](#), Naito M, Wakai K, Ohnuma S and [Kato M](#). Epidemiological analysis of the association between hearing and barium in humans. *J Expo Sci Environ Epidemiol* in press, 2016. 査読有
- ② [Kato M](#), Ninomiya H, Maeda M, Tanaka N, Ilmiawati C, Yoshinaga M. Commentary to Gorelenkova Miller and Mieyal (2015): Sulfhydryl-mediated redox signaling in inflammation: role in neurodegenerative diseases. *Arch Toxicol* in press, 2016. 査読有
- ③ Sumit AF, Das A, Sharmin Z, Ahsan N, [Ohgami N](#), [Kato M](#), Akhand AA. Cigarette smoking causes hearing impairment among Bangladeshi population. *PLoS ONE* 10(3): e0118960, Mar, 2015. 査読有
- ④ [Ohgami N](#), [Yamanoshita O](#), Thang ND, [Yajima I](#), Nakano C, Wu W, Ohnuma S, [Kato M](#). Carcinogenic risk of chromium, copper and arsenic in CCA-treated woods. *Environ Pollut* 206:456-60, Nov, 2015. 査読有
- ⑤ Jia X, Suzuki Y, Naito H, Yetti H, Kitamori K, Hayashi Y, Kaneko R, Nomura M, Yamori Y, Zaitso K, [Kato M](#), Ishii A, Nakajima T. A possible role of chenodeoxycholic acid and glycine-conjugated bile acids in fibrotic steatohepatitis in a dietary rat model. *Dig Dis Sci* 59(7):1490-501, Jul, 2014. 査読有
- ⑥ Chang J, Oikawa S, Iwahashi H, Kitagawa E, Takeuchi I, Yuda M, Kato C, Yamada Y, Ichihara G, [Kato M](#), Ichihara S. Expression of proteins associated with adipocyte lipolysis was significantly changed in the adipose tissues of the obese spontaneously hypertensive/NDmcr-cp rat. *Diabetol Metab Syndr* 6(1):8, Jan, 2014. 査読有
- ⑦ [Ohgami N](#), Iida M, [Yajima I](#), Tamura H, Ohgami K, [Kato M](#). Hearing impairments caused by genetic and environmental factors. *Environ Health Prev Med* 18(1):10-5, Jan, 2013. 査読有
- ⑧ [Kato M](#), Kumasaka YM, Ohnuma S, Furuta A, Kato Y, Shekhar HU, Kojima M, Koike Y, Thang ND, [Ohgami N](#), Ly TB, Jia X, Yetti H, Naito H, Ichihara G, [Yajima I](#). Comparison of barium and arsenic concentrations in well drinking water and in human body samples and a novel remediation system for these elements in well drinking water. *PLoS ONE* 8(6):e66681, Jun, 2013. 査読有
- ⑨ [Ohgami N](#), Hori S, Ohgami K, Tamura H, Tsuzuki T, Ohnuma S, [Kato M](#). Exposure to low-dose barium by drinking water causes hearing loss in mice. 査読有 *Neurotoxicol* 33(5):1276-83, Oct, 2012.
- ⑩ [Yajima I](#), Kumasaka YM, Thang ND, Goto Y, Takeda K, [Yamanoshita O](#), Iida M, [Ohgami N](#), Tamura H, Kawamoto Y, [Kato M](#). RAS/RAF/MEK/ERK and PI3K/PTEN/AKT signaling in malignant melanoma progression and therapy. *Dermatol Res Pract* 2012:354191, Oct, 2012. 査読有
- ⑪ Tamura H, [Ohgami N](#), [Yajima I](#), Iida M, Ohgami K, Fujii N, Itabe H, Kusudo T, Yamashita H, [Kato M](#). Chronic exposure to low frequency noise at moderate levels causes impaired balance in mice. *PLoS ONE* 7(6):e39807, Jun, 2012. 査読有

〔学会発表〕(計 43 件)

- ① 第88回日本産業衛生学会
発表年月日：2015年5月13-16日
場所：グランフロント大阪（大阪府大阪市）
発表様式：一般演題（口頭発表）
発表者：大神信孝、飯田真智子、
矢嶋伊知朗、加藤昌志
演題名：低周波騒音が平衡感覚に与える影響
- ② 第85回 日本衛生学会学術総会
発表様式：一般演題（口頭発表）
発表年月日：2015年3月27-28日
場所：和歌山県民文化会館（和歌山県和歌山市）
発表者：大神信孝、光松佑時、李香、Nazmul Ahsan、Anwarul Azim Akhand、大沼章子、
矢嶋伊知朗、加藤昌志
演題名：ヒトの毛髪に蓄積するバリウムレベルと聴力の関連
- ③ フォーラム2013 衛生薬学・環境トキシコロジー
発表年月日：2013年9月13-14日
場所：九州大学医学部（福岡県福岡市）
発表様式：一般演題（口頭発表）
発表者：大神信孝、飯田真智子、
矢嶋伊知朗、加藤昌志
演題名：飲水投与した低用量バリウムの組織分布の検討と聴覚系疾患への影響
- ④ 第83回日本衛生学会学術総会
発表年月日：2013年3月24~26日
場所：金沢大学（石川県金沢市）
発表様式：一般演題（口頭発表）
発表者：大神信孝、飯田真智子、加藤昌志
演題名：飲水投与した低用量バリウムの聴覚系疾患への影響
- ⑤ 第12回分子予防環境医学研究会
発表年月日：2013年2月1~2日
場所：つくばサイエンスインフォメーションセンター（茨城県つくば市）
発表様式：一般演題（口頭発表）
発表者：大神信孝、田村青鳥、飯田真智子、
矢嶋伊知朗、加藤昌志
演題名：低周波騒音曝露による平衡感覚異常の解析

〔図書〕(計 2 件)

- ① 加藤昌志、高橋雅英：モデル動物利用マニユアルシリーズ 疾患モデルの作製と利用. 第I部疾患モデルの作成と利用、第2章多臓器発がんモデル、第7節 Ret. 633 (237-242) 株式会社エル・アイ・シー、2012
- ② 矢嶋伊知朗、大神信孝、山本博章、加藤昌志. 色素細胞 (第2版) 第17章 皮膚以外に存在するメラノサイトの機能. 310 (223-235) 慶應義塾大学出版会、2015

〔産業財産権〕

- 出願状況 (計 1 件)
名称：聴覚障害又は小脳性運動失調症の予防・治療剤
発明者：大神信孝、加藤昌志
権利者：名古屋大学
種類：特許
番号：特願 2012-259456
出願年月日：2012年11月28日
国内外の別：国内
- 取得状況 (計 2 件)
名称：難聴モデル動物及びその用途
発明者：加藤昌志、大神信孝、高橋雅英、浅井直也、時々輪真由美
権利者：名古屋大学
種類：特許
番号：特許 5531198 号
取得年月日：2014年5月9日
国内外の別：国内
- 名称：難聴又は耳鳴りの予防・治療剤
発明者：加藤昌志、大神信孝、伊田みちる、田口暢彦
権利者：名古屋大学
種類：特許
番号：特許 5548839
取得年月日：2014年5月30日
国内外の別：国内

〔その他〕

名古屋大学医学系研究科公式ホームページ
<http://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical/2511/index.html>
名古屋大学環境労働衛生学ホームページ
<http://www.med.nagoya-u.ac.jp/hygiene/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

加藤 昌志 (KATO, Masashi)
名古屋大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：10281073

(2) 研究分担者

大神 信孝 (OHGAMI, Nobutaka)
名古屋大学・大学院医学系研究科・講師
研究者番号：80424919

矢嶋 伊知朗 (YAJIMA, Ichiro)
名古屋大学・大学院医学系研究科・講師
研究者番号：80469022 (平成 25-26 年度)

山ノ下 理 (YAMANOSHITA, Osamu)
中部大学・生命健康科学部・講師
研究者番号：50424924 (平成 24 年度)