

平成 29 年 5 月 29 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25462634

研究課題名(和文) レドックス制御・炎症性サイトカインからみた内耳性難聴の病態解明と治療への応用

研究課題名(英文) Investigation of pathology of sensorineural hearing loss from redox state and inflammatory cytokines and application for treatment

研究代表者

寺西 正明 (Teranishi, Masaaki)

名古屋大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：20335037

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：内耳性難聴は病態は不明の点が多く、治療法もいまだ確立されていない。疾患の原因や発症のメカニズムは不明であるが環境要因や遺伝要因を含めた多因子疾患であると考えられる。内耳性難聴の代表的疾患である突発性難聴の症例とコントロールでレドックス制御、酸化ストレス、炎症に関連する遺伝子多型について検討を行ったところ、一酸化窒素合成酵素(NOS)3とuncoupling protein (UCP)が突発性難聴のリスクとなることがわかった。

研究成果の概要(英文)：Because genetic factors may contribute partly to the etiologies of inner ear diseases, we investigated the association between genetic polymorphisms located in genes related to the free-radical process or inflammatory pathway and susceptibility to sudden deafness. We found that NOS 3 and uncoupling protein 2 polymorphisms were significantly associated with the risk of sudden deafness.

研究分野：医歯薬学

キーワード：難聴 レドックス

1. 研究開始当初の背景

内耳性難聴は症例数の多い疾患であるが、その病態は不明の点が多く、治療法もいまだ確立されていない。近年 3T の内耳 MRI(Gd 静脈注射後、3D-FLAIR)により、血液迷路関門の破綻症例が臨床的に捉えられるようになってきた。突発性難聴はおよそ三分の一の症例で患耳に、単純MRI撮影のうち造影MRIを撮影すると血管内に投与したガドリニウムの内耳への移行を認め、血液迷路関門の破綻(内耳血管透過性亢進)が存在することがわかり、また一側性のメニエール病症例においても、Gd 倍量静脈注射後、4時間での内耳 MRI にて患側の内耳での造影効果の増強を認め、内耳血管透過性の亢進が存在することがわかりいずれも炎症との関連が示唆される所見である。突発性難聴患者では分光光度測定法により血清中の ROS (活性酸素)産生が増加しているとの報告もある。

突発性難聴やメニエール病のような内耳性難聴をきたす疾患の原因や発症のメカニズムは不明であるが環境要因や遺伝要因を含めた多因子疾患であると考えられる。臨床的研究として内耳性難聴でのレドックス制御の状態、酸化ストレス、炎症に関連のある遺伝子多型を評価し、内耳 MRI 画像(Gd 造影後の 3D-FLAIR)から血液迷路関門破綻(内耳血管透過性亢進)の所見と比較し、予後を検討するとともに、遺伝子型多型からも病態を分類することは予防や治療の面で有意義なことと考えられる。

2. 研究の目的

内耳性難聴のレドックス制御、酸化ストレスからみた病態解明と予防・治療法の確立

3. 研究の方法

内耳性難聴の代表的疾患である突発性難聴の症例とコントロールでレドックス制御、酸化ストレス、炎症に関連する遺伝子多型について検討を行った。また突発性難聴の症例群において聴力予後、MRI 所見について遺伝子多型別に検討を行った。

4. 研究成果

正常細胞における酸素消費量のうち約 95%は正常に代謝され H₂O が産生されるが、約 2%~5%は副産物として活性酸素(O₂⁻, H₂O₂, OH⁻)を生じる。活性酸素は SOD, CAT(catalase), GPx(glutathione peroxidase), VitE, VitC などの抗酸化物質で消去され、バランスを保っている。NO は蝸

牛において神経伝達や血流の調節また病的な状態での細胞毒性の誘導など重要な役割を果たしている。NO は NO 合成酵素(NOS)により産生されるが NOS はカルモジュリン依存性酵素で細胞内 Ca²⁺の増加が活性化に必要な構造型 NOS (NOS1, NOS3)とカルモジュリンがもともと酵素に結合しており細胞内 Ca²⁺の増加を必要としない誘導型 NOS (NOS2)に分類される。NO は可溶性グアニル酸シクラーゼ(sGC)を活性化し cGMP の産生増加を介し細胞内で機能を発揮する。

突発性難聴症例において葉酸関連、一酸化窒素合成酵素(NOS3)、カベオリン、メラトニン受容体、uncoupling protein (UCP)2 のような酸化ストレス、炎症に関連する遺伝子多型を検討したところ、NOS3 と UCP2 が突発性難聴のリスクとなることがわかった。突発性難聴の聴力の予後と遺伝子多型のアレル頻度を比較したが、予後良好群と予後不良群の間でアレル頻度に差は認めなかった。内耳 MRI (3D-FLAIR)では造影前高信号は内耳液タンパク質濃度上昇や微量の内耳出血を、造影後高信号は血液迷路関門破綻や内耳血管透過性亢進を示唆し、炎症との関連があるが、内耳 MRI (3D-FLAIR)造影前高信号ありとなしの群で遺伝子多型のアレル頻度を比較したが、両群に差は認めなかった。また造影効果ありの群となしの群でも同様にアレル頻度を比較したが、両群に差は認めなかった(表 1~表 4)。NO は血管内皮より産生され血管拡張に関連する。NOS3 の遺伝子多型により NO の産生が障害されると赤血球の変形能に影響を与え、血液の粘度が増す可能性がある。過去の報告では UCP2 Ala55Val 多型の T アレルを含む群では有意に中高年者における難聴の危険率が高かった。今回突発性難聴においても UCP2 Ala55Val 多型の T アレル含有者はリスクが高いことがわかり UCP2 の内耳での役割の重要性が示唆された。

表 1 遺伝子多型とオッズ比

遺伝子多型	年齢と性別で調整したモデル ¹		
	Odds Ratio	95%CI	p value
<i>MTR</i>	1.040	0.700-1.544	0.8474
<i>MTRR</i>	1.124	0.815-1.550	0.4748

<i>NOS3</i>			
	2.108	1.343- 3.309	0.0012
<i>Cav1</i>			
	0.653	0.268- 1.588	0.3468
<i>MTNR1B</i>			
	1.009	0.734- 1.388	0.9541
<i>NADH/NADPHp22</i>			
<i>phox</i>			
	1.319	0.796- 2.185	0.2822
<i>MT5178</i>			
	0.788	0.498- 1.249	0.3110
<i>UCP2</i>			
	1.468	1.056- 2.040	0.0222

¹ *UCP2* は、年齢と性別、既往歴（高血圧、糖尿病、高脂血症）で調整した値を示す。

methionine synthase (*MTR*; rs1805087); methionine-synthase reductase (*MTRR*; rs1801394); nitric oxide synthase 3 (*NOS3*; rs1799983); caveolin 1 (*Cav1*; rs3840634); melatonin receptor 1B (*MTNR1B*; rs1387153); NAD(P)H oxidase p22(*phox*) subunit (*NADH/NADPHp22phox*; rs4673); mitochondria 5178 (*MT5178*; rs28357984); uncoupling protein 2 (*UCP2*; rs660339)

表 2 聴力予後別でのアレル分布

	聴力予後 良好群	聴力予後 不良群	<i>P</i> value
人数	22	40	
<i>MTR</i> A,G	36, 8	67, 13	0.784
<i>MTRR</i> A,G	29, 15	52, 28	0.919

<i>NOS3</i> G,T	36, 8	69, 11	0.512
<i>Cav1</i> I,D	40, 4	76, 4	0.375
<i>MTNR</i> C,T	28, 16	52, 28	0.879
<i>NADH</i> C,T	40, 4	69, 11	0.447
<i>MT</i> C,A	15, 7	26, 14	0.800
年齢	57.3 ± 12.0	58.9 ± 16.2	0.682
初診時	74.7 ±	67.7 ±	0.262
聴力 (dB)	19.6	25.2	
発症か ら初診 (日数)	4.6 ±	7.9 ±	0.100
めまい 伴う人	4.6	8.6	
	8	15	0.917

表 3 MRI (3D-FLAIR 造影前)とアレル分布

	高信号 あり	高信号 なし	<i>P</i> value
人数	18	15	
<i>MTR</i> A,G	32, 4	24, 6	0.255
<i>MTRR</i> A,G	25, 11	17, 13	0.283
<i>NOS3</i> G,T	28, 8	27, 3	0.160
<i>Cav1</i> I,D	36, 0	28, 2	0.203
<i>MTNR</i> C,T	24, 12	18, 12	0.575
<i>NADH</i> C,T	29, 7	28, 2	0.125
<i>MT</i> C,A	13, 5	9, 6	0.294

表 4 MRI (3D-FLAIR 造影後)とアレル分布

	造影効果 あり	造影効果 なし	<i>P</i> value
人数	16	17	
<i>MTR</i> A,G	28, 4	28, 6	0.407
<i>MTRR</i> A,G	22, 10	20, 14	0.402
<i>NOS3</i> G,T	26, 6	29, 5	0.456
<i>Cav1</i> I,D	32, 0	32, 2	0.262
<i>MTNR</i> C,T	18, 14	25, 9	0.141
<i>NADH</i> C,T	28, 4	29, 5	0.540
<i>MT</i> C,A	12, 4	10, 7	0.164

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計3件)

1. Teranishi M, Uchida Y, Nishio N, Kato K, Otake H, Yoshida T, Suzuki H, Sone M, Sugiura S, Ando F, Shimokata H, Nakashima T. Polymorphisms in genes in the free-radical process in patients with sudden sensorineural hearing loss and Meniere's disease. Free Radic Res 査読有 47, 498-506, 2013.

2. Huang Y, Teranishi M, Uchida Y, Nishio N, Kato K, Otake H, Yoshida T, Sone M, Sugiura S, Ando F, Shimokata H, Nakashima T. Association between polymorphisms in genes encoding methylenetetrahydrofolate reductase and the risk of Meniere's disease. J Neurogenet 査読有, 27, 5-10, 2013.

3. Shimono M, Teranishi M, Yoshida T, Kato M, Sano R, Otake H, Kato K, Sone M, Ohmiya N, Naganawa S, Nakashima T. Endolymphatic hydrops revealed by magnetic resonance imaging in patients with acute low-tone sensorineural hearing loss. Otol Neurotol 査読有 34, 1241-1246, 2013.

[学会発表](計12件)

1. Teranishi M, Uchida Y, Nishio N, Kato K, Otake H, Yoshida T, Sone M, Sugiura S, Ando F, Shimokata H, Nakashima T. Polymorphisms in genes in patients with Meniere's disease. 53rd Inner Ear Biology Workshop, Montpellier, France, Sep.17-21, 2016.

2. 寺西正明, 内田育恵, 西尾直樹, 加藤健, 大竹宏直, 吉田忠雄, 曾根三千彦, 杉浦彩子, 中島務. メニエール病における遺伝子多型の検討. 第25回日本耳科学会, 長崎ブリックホール(長崎県長崎市), 2015年10月7日-10日.

3. Teranishi M, Uchida Y, Nishio N, Kato K, Otake H, Yoshida T, Sone M, Sugiura S, Ando F, Shimokata H, Nakashima T. Polymorphisms in genes involved in oxidative stress in patients with Meniere's disease. 52nd Inner Ear Biology Workshop, Rome, Italy, Sep.12-15, 2015.

4. 寺西正明, 小出悠介, 内田育恵, 西尾直樹, 加藤健, 大竹宏直, 吉田忠雄, 曾根三千彦, 杉浦彩子, 中島務. 突発性難聴における遺伝子多型の検討. 第24回愛知県難聴・耳鳴に関する懇話会, エーザイホール(愛知県名古屋市), 2015年4月11日.

5. Teranishi M, Koide Y, Uchida Y, Nishio N, Kato K, Otake H, Yoshida T, Sone M, Sugiura S, Ando F, Shimokata H, Nakashima T. Polymorphisms in genes involved in oxidative stress and inflammatory process in patients with sudden deafness. The 17th International Congress in Audiological Medicine, Pattaya, Thailand, Nov.5-7, 2014.

6. 寺西正明, 内田育恵, 加藤健, 大竹宏直, 吉田忠雄, 曾根三千彦, 杉浦彩子, 中島務. 突発性難聴における遺伝子多型の検討. 第59回日本聴覚医学会, 海峡メッセ下関(山口県下関市), 2014年11月27日-28日.

7. 寺西正明, 内田育恵, 加藤健, 大竹宏直, 吉田忠雄, 西尾直樹, 曾根三千彦, 杉浦彩子, 中島務. メニエール病における遺伝子多型の検討. 第24回日本耳科学会, 朱鷺メッセ(新潟県新潟市), 2014年10月15日-18日.

8. Teranishi M, Uchida Y, Nishio N, Kato K, Otake H, Yoshida T, Sone M, Sugiura S, Ando F, Shimokata H, Nakashima T. Polymorphisms in genes involved in the immune-inflammatory process in patients with Meniere's disease. 51st Inner Ear Biology Workshop, Sheffield, UK, Aug.30-Sep.2, 2014.

9. Teranishi M, Yoshida T, Sone M, Nakashima T. Visualization of endolymphatic hydrops with MR imaging in patients with Meniere's disease. 15th Korea Japan Joint Meeting of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Seoul, Korea, Apr.3-5, 2014.

10. 寺西正明, 加藤健, 大竹宏直, 吉田忠雄, 中島務. メニエール病における酸化ストレス関連の遺伝子多型の検討. 第72回日本めまい平衡医学会, 大阪国際交流センター(大阪府大阪市), 2013年11月13日-15日.

11. 寺西正明, 内田育恵, 加藤健, 大竹宏直, 吉田忠雄, 曾根三千彦, 杉浦彩子, 中島務. 突発性難聴における酸化ストレス関連の遺伝子多型の検討. 第58回日本聴覚医学会, ホテル・ブエナビスタ(長野県松本市), 2013年10月23日-25日.

12. 寺西正明, 内田育恵, 西尾直樹, 加藤健, 大竹宏直, 吉田忠雄, 鈴木宏和, 曾根三千彦, 杉浦彩子, 安藤富士子, 下方浩史, 中島務. 突発性難聴・メニエール病における酸化ストレス関連の遺伝子多型の検討. 第66回日本酸化ストレス学会, ウィンクあいち(愛知県名古屋市), 2013年6月13日-14日.

5 . 研究組織

(1)研究代表者

寺西 正明 (TERANISHI MASA AKI)
名古屋大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：20335037

(2)研究分担者(2013～2015)

中島 務 (NAKASHIMA TSUTOMU)
名古屋大学・大学院医学系研究科・教授
(2013)
国立研究開発法人国立長寿医療研究センター
・耳鼻咽喉科部長(2014～2015)
研究者番号：30180277