

令和 5 年 5 月 6 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09688

研究課題名（和文）免疫・ストレス応答からみたメニエール病の聴力予後因子の検討

研究課題名（英文）Examination of hearing prognostic factors in Meniere's disease from the perspective of immune and stress responses

研究代表者

青木 光広 (Aoki, Mitsuhiro)

岐阜大学・大学院医学系研究科・招へい教員

研究者番号：30283302

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：MCP-1はその受容体であるC-C chemokine receptor type 2（CCR2）に結合することにより、効力を発揮する。MCP-1とCCR2は正常血管壁では発現していないが、血管が障害されると、その早期から血管壁細胞で発現が増加する。難治性メニエール病例の血漿MCP-1が健常成人に比較し、有意に上昇しており、両側メニエール病例で顕著であることを報告した。メニエール病症例ではNF- κ Bシグナル伝達が増進しているか、その下流にある単球走化因子であるMCP-1が増加することでTNF- α やIL-6が上昇し、緩徐に進行性の聴力障害や前庭障害をもたらすと考えた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

メニエール病は自然治癒あるいは薬物に反応して速やかに軽快する症例もいる一方、すべての薬物治療に抵抗を示し、強度が高い治療法を選択せざるを得ない場合もあり、中耳加圧治療や内リンパ嚢開放術が行われている。めまいは制御できたとしても、大半の症例で難聴や平衡障害の進行がみられ、47%のケースで両側化するとされている。特に、40歳～50歳で発症することが多く、社会活動に多大な影響を及ぼすため、経済的損出は極めて大きい。しかし、進行する難聴や前庭障害ならびに両側化に至るメカニズムは不明である。メニエール病の進行性難聴や両側化を予防あるいは抑制できる治療法の開発につなげることができる。

研究成果の概要（英文）：MCP-1 exerts its efficacy by binding to its receptor, C-C chemokine receptor type 2 (CCR2). MCP-1 and CCR2 are not expressed in normal vascular walls, but their expression increases in vascular wall cells from the early stage of vascular injury. We reported that plasma MCP-1 in refractory Meniere's disease patients was significantly elevated compared to healthy adults, and that this was significant in bilateral Meniere's disease patients. In Meniere's disease cases, either NF- κ B signaling is enhanced or the downstream monocyte chemoattractant MCP-1 is increased, resulting in increased levels of TNF- α and IL-6, leading to a slow progressive disease. It was thought to cause hearing impairment and vestibular damage.

研究分野：耳科学

キーワード：メニエール病 両側化 進行性難聴 慢性炎症

1 . 研究開始当初の背景

メニエール病の病態は原因不明の内リンパ水腫である。その主徴は数十分～数時間の激しいめまい発作を反復するとともに、難聴や耳鳴りが患者の生活質を著しく低下させる。病態が同じでも患者により、自然治癒あるいは薬物に反応して速やかに軽快する症例もいる一方、すべての薬物治療に抵抗を示し、強度が高い治療法を選択せざるをない場合もあり、中耳加圧治療や内リンパ嚢開放術が行われている。そうした治療により、めまいは制御できたとしても、大半の症例で難聴や平衡障害の進行がみられ、47%のケースで両側化するとされている。特に、40歳～50歳で発症することが多く、有病率は10万人あたり200人とされ、社会活動に多大な影響を及ぼすため、経済的損出は極めて大きい。しかし、進行する難聴や前庭障害ならびに両側化に至るメカニズムは不明である。メニエール病の進行性難聴や両側化を予防あるいは抑制できる治療法の開発は急務な課題である。

2 . 研究の目的

メニエール病の一部において、NF- κ B、MICA(major histocompatibility complex class I chain-related gene A)、TLR10(Toll-like receptor 10)などの炎症応答に関連性のある遺伝子多型が報告されてきている。さらに、難治性メニエール病に施行されることがある内リンパ嚢開放術時の病理所見で内耳におけるリンパ球活性化や炎症細胞浸潤を認めており、剖検病理では蝸牛血管条の萎縮やらせん靭帯の微小血管障害が報告されている。メニエール病症例ではNF- κ Bシグナル伝達が亢進しているか、その下流にある単球走化因子であるMCP-1が増加することで炎症性サイトカインTNF- α やIL-6が上昇し、蝸牛や前庭におけるマクロファージや単球の走化性を促進することで緩徐に進行性の聴力障害や前庭障害をもたらすかどうかを検証することを目的とする。

3 . 研究の方法

本研究登録日にヘパリン採血した静脈血20 mLを用いて、メニエール病および健常成人から採取した血液を用いて、MCP-1、TNF- α 、IL-6を計測した。さらに、リンパ球分離溶液に重層し、2,000 rpmで20分間遠心分離し、PBMC層を分取する。10%牛胎児血清を含むRPMI1640培地で洗浄する。PBMC密度が 5×10^5 cells/mLとなるように10%牛胎児血清を含むRPMI1640培地で希釈し、PBMC懸濁液を調製する。細胞培養用96wellマイクロプレートの各ウエルに上記PBMC懸濁液を分注し、コンカナバリンAを添加する。対照として、PBMC懸濁液に薬物溶液と同量のエタノールを添加したものをを用いる。マイクロプレートを、37℃、5%CO₂条件下で96時間培養後、遠心分離して上清150 μ Lを分取し、サイトカイン測定まで-80℃の超低温冷蔵庫に保管する。サイトカイン測定法として、前項のように調製したPBMCを分離し、コントロール(非刺激)、リポポリサッカライド(LPS)刺激でのMCP-1、TNF- α 、IL-6の濃度およびIL-1 β 刺激下でのMCP-1の濃度をELISA法にて測定した。

登録時に検査した聴力検査平均4分法聴力レベル、カロリックテスト(最大緩徐相速度)、病悩期間、年齢と各種血液検査パラメーターとの相関性を検討した。

4 . 研究成果

聴覚障害の進行とメニエール病(MD)の両側性の関与は、疾患の期間と加齢に依存する可能性があ

る。また、MD は炎症性変化により損傷した微小血管循環の機能障害を伴う可能性があることが報告されている。そこで、MD の聴覚障害と両側性障害の進行における炎症性プロセスの病因関連性について研究を行った。対象は30人の片側MD 確実例(56.8 ± 14.7 歳)、7人の両側MD 確実例(65.3 ± 13.9 歳)、および17人の年齢を一致させた対照健常被験者(53.5 ± 14.4 歳、 $p > 0.05$)とした。血漿血管内皮増殖因子(VEGF)、血漿インターロイキン-6(IL-6)、血漿腫瘍壊死因子 (TNF)、および血漿単球走化性タンパク質-1 (MCP-1)を測定した。両側性 MD 群および片側性 MD 群の血漿 MCP-1 (204.7 ± 41.0 pg/mL および 169.5 ± 32.0pg/ mL)は対照群(149.2 ± 30.7 pg / mL)よりも高い値を示した($p < 0.05$)。3 グループ間で血漿 TNF 、IL-6、および VEGF に有意差はなかった($p > 0.05$)。MD 患者の血漿 MCP-1 と年齢の間には強い相関関係があった($r = 0.58$, $p < 0.01$)。一方、対照被験者では血漿 MCP-1 と年齢の間に有意な相関は認めなかった($p > 0.05$)。血漿 MCP-1 は、500、1000、2000、4000Hz の平均聴力レベルと、良聴耳のカロリックテストにおける最大緩徐相速度と有意に相関していた ($p < 0.05$)。また、MD 群では、血漿 MCP-1 は、血漿 IL-6($r = 0.49$, $p < 0.01$)および血漿 TNF ($r = 0.32$, $p < 0.05$)と有意な正の相関を示した。本研究結果は、炎症性プロセスに伴う血漿 MCP-1 の増加が、聴覚障害の進行とMD の両側性障害に関連していることを示唆していると思われた。

1. Serum Fibrinogen Level and Cytokine Production as Prognostic Biomarkers for Idiopathic Sudden Sensorineural Hearing Loss.
Okuda H, Aoki M, Ohashi T, Ogawa B, Shibata H, Ueda N, Hayashi H, Nishihori T, Kuze B, Ohnishi H, Ogawa T. *Otol Neurotol.* 2022 Aug 1;43(7):e712-e719.
2. Increased Monocyte Chemotactic Protein-1 Accompanying Pro-Inflammatory Processes are Associated with Progressive Hearing Impairment and Bilateral Disability of Meniere's Disease.
Iinuma R, Okuda H, Obara N, Matsubara Y, Aoki M, Ogawa T. *Audiol Neurootol.* 2022;27(3):208-216.
3. Differences in responsiveness of intratympanic steroid injection for intractable vertigo in Meniere's disease.
Okuda H, Aoki M, Ogawa B, Shibata H, Ueda N, Ohashi T, Hayashi H, Nishihori T, Kuze B, Ogawa T. *Am J Otolaryngol.* 2021 Nov-Dec;42(6):103141.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Iinuma Ryota, Okuda Hiroshi, Obara Natsuko, Matsubara Yoshitaka, Aoki Mitsuhiro, Ogawa Takenori	4. 巻 27
2. 論文標題 Increased Monocyte Chemotactic Protein-1 Accompanying Pro-Inflammatory Processes are Associated with Progressive Hearing Impairment and Bilateral Disability of Meniere's Disease	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Audiology and Neurotology	6. 最初と最後の頁 1~9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1159/000518839	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 青木光広 奥田 弘 林 寿光 西堀丈純 久世文也
2. 発表標題 メニエール病の聴力予後に与える因子の検討
3. 学会等名 日本めまい平衡医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 飯沼亮太 奥田 弘 青木光広
2. 発表標題 メニエール病の難聴進行および両側化におけるMCP-1の関与
3. 学会等名 日本めまい平衡医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 青木光広 奥田 弘 林 寿光 西堀丈純 久世文也
2. 発表標題 メニエール病の聴力予後に与える因子の検討
3. 学会等名 日本めまい平衡医学会
4. 発表年 2020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	奥田 弘 (Okuda Hiroshi) (20769509)	岐阜大学・医学部附属病院・助教 (13701)	

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
---------	---------