

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 4月 5日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2009 ～ 2012

課題番号：21390460

研究課題名（和文）

突発性難聴における血液迷路関門の破綻と血管障害関連遺伝子

研究課題名（英文）Disruption of the blood-labyrinthine barrier and related genes in sudden sensorineural hearing loss

研究代表者

中島 務 (NAKASHIMA TSUTOMU)

名古屋大学・医学系研究科・教授

研究者番号：30180277

研究成果の概要（和文）：突発性難聴において血液迷路関門破綻の指標である内耳造影度を数値化した。突発性難聴耳の造影度は健側と変わらない症例と有意に増大している症例の両者があった。血液迷路関門の破綻には、血管障害、炎症、酸化ストレスが関連している。突発性難聴患者と一般住民の間に関連する遺伝子多型に違いがあるか検討した。Interleukin-1A (rs1800587), Interleukin-6 (rs1800796), Complement factor H (rs1061170), Aquaporin5 (rs3736309), NO synthase 3 (rs1799983) において突発性難聴とコントロールの間に差を認めた。

研究成果の概要（英文）：Disruption of the blood-labyrinthine barrier was evaluated by the degree of Gd contrast enhancement of the inner ear in sudden sensorineural hearing loss. There were ears with significant Gd enhancement but there were also ears without Gd enhancement. Disruption of the blood-labyrinthine barrier may be associated with impairment of the blood vessels, inflammation and oxidative stress. The relevant gene polymorphisms were investigated in patients with sudden sensorineural hearing loss and in controls. Polymorphisms of interleukin-1A (rs1800587), interleukin-6 (rs1800796), complement factor H (rs1061170), aquaporin5 (rs3736309) and NO synthase 3 (rs1799983) seemed to be related to onset of sudden sensorineural hearing loss.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
2010年度	3,700,000	1,110,000	4,810,000
2011年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2012年度	1,500,000	450,000	1,950,000
総計	10,900,000	3,270,000	14,170,000

研究分野:医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：突発性難聴、血液迷路関門、MRI、遺伝子多型

## 1. 研究開始当初の背景

ガドリニウム造影剤を鼓室内に投与し3テスラMRI FLAIRにて内リンパ水腫を画像化できた(Laryngoscope 2007)。ガドリニウム造影剤を静注すると突発性難聴では約3分の1の症例で造影剤が患側内耳に漏れる所見が認められ血液迷路関門が破綻あるいは障害されていることが推定された(Laryngoscope 2008)。また、突

発性難聴では、血管系や血流障害に関連する遺伝子多型に正常コントロールとは異なるパターンがあることが報告されていた。

## 2. 研究の目的

突発性難聴では、血液迷路関門がどの程度障害されているかを、MRIにて静注した造影剤がどれくらい漏れるかで定量的に調べようとした。遺伝子多型と突発性難聴の関連では、種々の遺伝子多型について突発性難聴ケ

一ス例をコントロール例と比較しようとした。

### 3. 研究の方法

(1) 突発性難聴で静注したガドリニウム造影剤が内耳にどれくらい移行するか小脳の造影度との比を求めることにより造影度を数値で表そうとした。10人の突発性難聴患者で9人は一側性、1人は両側性であった。造影剤投与4時間後に3テスラMRIを撮影した。

(2) ガドリニウム造影剤を静注し、10分後にMRIを撮った場合と4時間待ってMRIを撮った場合で内耳の造影度がどれくらい異なるか内耳疾患をもつ10人を対象に検討した。

(3) 内耳疾患のある耳にガドリニウム造影剤を鼓室内に注入し反対側の耳はガドリニウム造影剤静注のみで造影した例において、左右でどのように造影効果に差があるか検討した。対象は、10人のメニエール病患者（9人は1側性、1人は両側性）で、めまいコントロール不良にて鼓室内ゲンタマイシン治療の候補となった10耳に造影剤を鼓室内に投与した。MRI撮影は、造影剤の鼓室内投与からは24時間後、静脈内投与からは4時間後のタイミングで行った。

(4) 名古屋大学病院を受診した突発性難聴患者と「国立長寿医療センター研究所-老化に関する長期縦断疫学研究 (ILS-LSA)」第一次調査（1997年11月～2000年4月）に参加した地域住民との間で、炎症、血管・血流、酸化ストレスに関連する遺伝子多型に差があるかどうか検討した。調査は各施設の倫理委員会承認のもとに行った。調べた遺伝子は、40種。（下記27種については、論文掲載）

Interleukin-1A (IL1A-889) rs1800587,  
Interleukin-1B (IL1B-511) rs1694,  
Interleukin-6 (IL-634) rs1800796,  
Interleukin 4 receptor (IL4 Receptor-1902) rs1801275,  
Interleukin-10 (IL-10-592) rs1800872,  
Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ -863) rs1800630, TNF receptor superfamily B (TNFRSF1B) rs1061624, Vascular endothelial growth factor (VEGF-936) rs3025039, (VEGF-2758) rs699947, (VEGF-1154) rs1570360, complement factor H (CFH Y402) rs1061170, Aquaporin4 (AQP4) rs2075575, Aquaporin5 (AQP5) rs3736309, Estrogen Receptor  $\alpha$ 1 (ER $\alpha$ 1) rs2234693, Estrogen Receptor  $\alpha$ 2

(ER $\alpha$ 2) rs9340799, glutathione peroxidase 1 (GPX1) rs1050450, paraoxonase 1 (PON1) rs662, rs854560, paraoxonase 2 (PON2) rs7493, superoxide dismutase 2 (SOD2) rs4880, Nitric oxide (NO) synthase 3 (NOS3) rs1799983

統計学的解析は、多重ロジスティック回帰分析を行い、目的変数を突発性難聴の有無、説明変数をそれぞれの遺伝子多型（相加モデル使用）、調整項目については年齢、性別を検討に入れた。糖尿病、難聴の程度など様々な観点から検討した。

### 4. 研究成果

(1) 内耳造影度：患耳11耳で0.45～2.17、健耳9耳で0.43～1.48であった。1側性突発性難聴9人において明らかに患側の内耳造影度が健側と比し高いのは9人中5人であった。突発性難聴では、血液迷路関門が破綻あるいは障害される例と血液迷路関門に異常が認められない両者がある。(Tagaya et al, 2010)

(2) 内耳造影度は静脈内投与10分後より4時間後に撮影したときの方が有意に高かった。4時間待った影響は患側内耳で強かった。10分後では患側内耳と無症状内耳の差ははっきりしなかったが4時間後では患側内耳と無症状内耳との間に有意な差があった(Sano et al, 2012)。

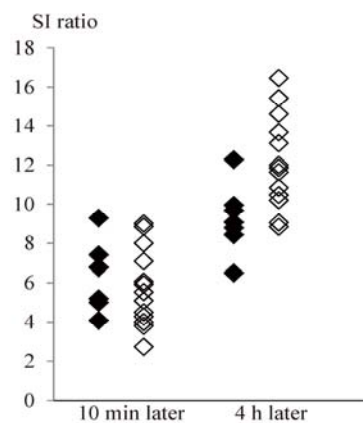


図1. 縦軸 SI ratio は、Signal intensity ratio で小脳の造影度との比を示している。造影剤投与10分後より4時間後の造影度が高い。シンボル黒は無症状内耳、白は患側内耳。

(3) 造影剤を1側鼓室内に投与した後、造影剤を静注すると1側は鼓室と血液の両者から造影され、血液からだけの造影に比べ造影度が大きくなった。  
(Iida, et al, 2013)

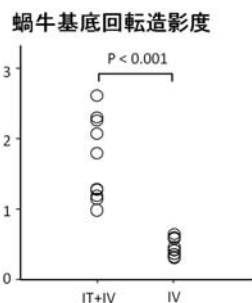


図2. IT+IVは、鼓室内に造影剤を投与した側の蝸牛基底回転の造影度。反対側(IV)の蝸牛基底回転の造影度との差は歴然。

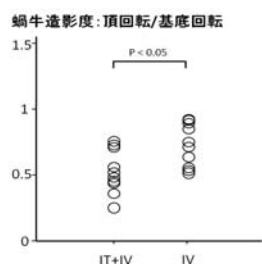


図3. 造影度を蝸牛頂回転の基底回転に対する比で示した。血液からのみ造影された耳(IV)では比が1に近く各回転間で差が少ない。

(4) Interleukin-1A (rs1800587), Interleukin-6 (rs1800796), Complement factor H (rs1061170), Aquaporin5 (rs3736309), NO synthase 3 (rs1799983) において突発性難聴とコントロールの間に差を認めた。下記に遺伝子型ごとにコントロールと突発性難聴での割合を人数とともに示す。

		Control N (%)	突発性難聴
Interleukin-1A	CC	1788 (81)	47 (65)
IL1A-889	CT	395 (18)	12 (17)
rs1800587	TT	19 (1)	13 (18)
Interleukin-1B	CC	613 (28)	24 (33)
IL1B-511	CT	1121 (51)	34 (47)
rs16944	TT	468 (21)	14 (20)

表1. (Furuta et al, 2011)

		Control N (%)	突発性難聴
Interleukin-6	CC	1168 (58)	32 (44)
IL6-634	CG	720 (36)	34 (47)
rs1800796	GG	122 (6)	6 (8)
Interleukin 4 receptor	AA	1484 (74)	55 (76)
IL4 Receptor-1902	AG	486 (24)	17 (24)
rs1801275	GG	40 (2)	0 (0)
Interleukin-10	AA	904 (45)	40 (56)
IL-10-592	AC	892 (44)	27 (38)
rs1800872	CC	214 (11)	5 (7)
Tumor necrosis factor-α	CC	1449 (72)	48 (67)
TNF-α-863	CA	402 (20)	19 (26)
rs1800630	AA	159 (8)	5 (7)
TNF receptor superfamily B	AA	524 (26)	26 (36)
TNFRSF1B	AG	1003 (50)	33 (46)
rs1061624	GG	483 (24)	13 (18)
Vascular endothelial growth factor	CC	1193 (59)	39 (55)
VEGF-936	CT	731 (36)	28 (39)
rs3025039	TT	86 (4)	4 (6)
Vascular endothelial growth factor	CC	981 (49)	33 (46)
VEGF-2578	CA	855 (43)	33 (46)
rs699947	AA	174 (9)	6 (8)
Vascular endothelial growth factor	GG	1530 (76)	53 (74)
VEGF-1154	GA	421 (21)	15 (21)
rs1570360	AA	59 (3)	4 (6)

表2. (Hiramatsu et al 2012)

		Control N (%)	突発性難聴
complement factor H	TT	1918 (89)	59 (82)
CFH Y402	TC	238 (11)	12 (17)
rs1061170	CC	5 (0.2)	1 (1)
Aquaporin4 (AQP4)	CC	1208 (57)	54 (63)
(rs2075575)	CT	794 (37)	27 (32)
	TT	134 (6)	4 (5)
Aquaporin5 (AQP5)	AA	874 (41)	38 (45)
(rs3736309)	AG	1004 (47)	34 (40)
	GG	257 (12)	13 (15)
	TT	760 (36)	34 (40)
Estrogen Receptor α1 (ERα1)	TC	1025 (48)	38 (45)
(rs2234693)	CC	351 (16)	13 (15)
	AA	1434 (67)	56 (66)
Estrogen Receptor α2 (ERα2)	AG	625 (29)	25 (29)
(rs9340799)	GG	77 (4)	4 (5)

表3. (Nishio et al, 2012, 2013)

		Control N (%)	突発性難聴
glutathione peroxidase 1	CC	1782 (85)	71 (85)
GPX1	CT	318 (15)	12 (14)
rs1050450	TT	7 (0.3)	1 (1)
paraoxonase 1	GG	928 (44)	34 (40)
PON1	GA	952 (45)	37 (44)
rs662	AA	227 (11)	13 (16)
paraoxonase 1	AA	1820 (86)	78 (93)
PON1	AT	271 (13)	5 (6)
rs854560	TT	16 (0.8)	1 (1)
paraoxonase 2	CC	1375 (65)	59 (70)
PON2	CG	631 (30)	20 (24)
rs7493	GG	101 (5)	5 (6)
superoxide dismutase 2	TT	1595 (76)	60 (71)
SOD2	TC	460 (22)	23 (27)
rs4880	CC	52 (2)	1 (1)

表4. (Teranishi et al. 2012)

		Control N (%)	突発性難聴
nitric oxide synthase 3	GG	1756 (86)	60 (72)
NOS3	GT	280 (14)	22 (27)
rs1799983	TT	12 (0.6)	1 (1)
methionine synthase	AA	1356 (66)	53 (64)
MTR	AG	622 (30)	28 (34)
rs1805087	GG	70 (3)	2 (2)
methionine-synthase reductase	AA	952 (46)	35 (42)
MTRR	AG	870 (43)	38 (46)
rs1801394	GG	226 (1)	10 (12)
caveolin 1	II	1866 (91)	78 (94)
Cav 1	ID	174 (9)	5 (6)
rs3840634	DD	8 (0.4)	0 (0)
melatonin receptor 1B	CC	760 (37)	33 (40)
MTNR1B	CT	976 (48)	35 (42)
rs1387153	TT	312 (15)	15 (18)
NAD(P)H oxidase p22(phox) subunit	CC	1713 (84)	66 (80)
NADH/NADPHp22phox	CT	322 (16)	16 (19)
rs4673	TT	13 (0.6)	1 (1)
mitochondria 5178			
MT5178	C	1217 (59)	54 (65)
rs28357984	A	831 (41)	29 (35)

表 5. (Teranishi et al. Epub ahead of print)

## 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 7 3 件)

以下は報告書の数字、図表と直接関連する文献

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 involved in the free-radical process in patients with sudden sensorineural hearing loss and Ménière's disease. Free Radic Res (Epub ahead of print) May 7 2013 (査読有)

2. Iida T, Teranishi M, Yoshida T, Otake H, Sone M, Kato M, Shimono M, Yamazaki M, Naganawa S, Nakashima T. Magnetic resonance imaging of the inner ear after both intratympanic and intravenous gadolinium injections. Acta Otolaryngol. 133: 434-438, 2013. (査読有)

3. Nishio N, Teranishi M, Uchida Y, Sugiura S, Ando F, Shimokata H, Sone M, Otake H, Kato K, Yoshida T, Tagaya M, Hibi T, Nakashima T. Polymorphisms in genes encoding aquaporins 4 and 5 and estrogen receptor  $\alpha$  in patients with Ménière's disease and sudden sensorineural hearing loss. Life Sci 92:541-546, 2013. (査読有)

4. Sano R, Teranishi M, Yamazaki M, Isoda H, Naganawa S, Sone M, Hiramatsu M, Yoshida T, Suzuki H, Nakashima T.

Contrast enhancement of the inner ear in magnetic resonance images taken at 10 minutes or 4 hours after intravenous gadolinium injection. Acta Otolaryngol 132:241-246, 2012. (査読有)

5. 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 Involved in Oxidative Stress Response in Patients with Sudden Sensorineural Hearing Loss and Meniere's Disease in a Japanese Population. DNA Cell Biol 31: 1555-1562, 2012. (査読有)

6. Hiramatsu M, Teranishi M, Uchida Y, Nishio N, Suzuki H, Kato K, Otake H, Yoshida T, Tagaya M, Suzuki H, Sone M, Sugiura S, Ando F, Shimokata H, Nakashima T. Polymorphisms in Genes Involved in Inflammatory Pathways in Patients with Sudden Sensorineural Hearing Loss. J Neurogenet. 26: 387-396, 2012. (査読有)

7. Nishio N, Teranishi M, Uchida Y, Sugiura S, Ando F, Shimokata H, Sone M, Otake H, Kato K, Yoshida T, Tagaya M, Hibi T, Nakashima T. Contribution of complement factor H Y402H polymorphism to sudden sensorineural hearing loss risk and possible interaction with diabetes. Gene 499(1):226-230, 2012. (査読有)

8. Furuta T, Teranishi M, Uchida Y, Nishio N, Kato K, Otake H, Yoshida T, Tagaya M, Suzuki H, Sugiura M, Sone M, Hiramatsu M, Sugiura S, Ando F, Shimokata H, Nakashima T. Association of interleukin-1 gene polymorphisms with sudden sensorineural hearing loss and Ménière's disease. Int Journal Immunogenet 38: 249-254, 2011. (査読有)

9. Tagaya M, Teranishi M, Naganawa S, Iwata T, Yoshida T, Otake H, Nakata S, Sone M, Nakashima T. 3 Tesla magnetic resonance imaging obtained 4 hours after intravenous gadolinium injection in patients with sudden deafness. Acta Otolaryngol 130: 665-669, 2010. (査読有)

[学会発表] (計 1 2 0 件)

1. Nakashima T, Iida T, Teranishi M, Yoshida T, Kato M, Sone M, Yamazaki M, Naganawa S. Magnetic resonance imaging of the inner ear after intratympanic and intravenous gadolinium injections. 49<sup>th</sup> Inner Ear Biology Workshop, Tübingen, Germany, Sep.30- Oct.02, 2012

2. Teranishi M, Uchida Y, Nishio N, Kao K, Otake H, Yoshida T, Sone M, Sugiura S, Ando F, Shimokata H, Nakashima T. Polymorphic analysis in patients with Meniere's disease and sudden sensorineural hearing loss  
49<sup>th</sup> Inner Ear Biology Workshop, Tubingen, Germany, Sep. 30- Oct. 02, 2012

3. Nishio N, Teranishi M, Uchida Y, Sugiura S, Ando F, Shimokata H, Sone M, Otake H, Kato K, Yoshida T, Tagaya M, Hibi T, Nakashima T. Contribution of complement factor H Y402H polymorphism to sudden sensorineural hearing loss risk and possible interaction with diabetes.  
11<sup>th</sup> Japan-Taiwan Conference on Otolaryngology-Head and Neck Surgery Kobe, Japan, Dec 8-8, 2011

4. Teranishi M, Hiramatsu M, Uchida Y, Nishio N, Suzuki H, Kato K, Otake H, Yoshida T, Tagaya M, Suzuki H, Sone M, Sugiura S, Ando F, Shimokata H, Nakashima T. Polymorphisms in genes involved in inflammatory pathways in patients with sudden sensorineural hearing loss  
48<sup>th</sup> Inner Ear Biology Workshop, Lisbon, Portugal, Sep 18-21, 2011

[図書] (計4件)

1. 寺西正明、中島務「紹介の最適のタイミングは？」急性難聴の鑑別とその対処 (中山書店) 232-235 平成 24 年 8 月
2. 寺西正明、中島務「予後診断は可能か？」急性難聴の鑑別とその対処 (中山書店) 229-232 平成 24 年 8 月

[その他]

ホームページ等 (研究代表者 Researcher ID)  
<http://www.researcherid.com/rid/B-8259-2012>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

中島 務 (Nakashima Tsutomu)  
名古屋大学 大学院医学系研究科 教授  
研究者番号 : 30180277

### (2) 研究分担者

長縄 慎二 (Naganawa Shinji)  
名古屋大学 大学院医学系研究科 教授  
研究者番号 : 50242863

下方 浩史 (Shimokata Hiroshi)  
国立長寿医療センター 国立長寿医療センター研究所 疫学研究部長  
研究者番号 : 10226269

寺西 正明 (Teranishi Masaaki)  
名古屋大学 大学院医学系研究科 講師  
研究者番号 : 20335037

### (3) 連携研究者

内田 育恵 (Uchida Yasue)  
愛知医科大学 医学部 講師  
研究者番号 : 80313998