

厚生労働科学研究費補助金

(感覚器障害研究事業 H18-感覚-一般-007)

感音難聴に対する内耳薬物投与システム臨床応用に  
関する研究

平成 18～20 年度 総合研究報告書

平成 21 年 3 月

研究代表者 中川 隆之

(京都大学医学部附属病院)

厚生労働科学研究費補助金

(感覚器障害研究事業 H18-感覚-一般-007)

感音難聴に対する内耳薬物投与システム臨床応用に  
関する研究

平成 18～20 年度 総合研究報告書

平成 21 年 3 月

研究代表者 中川 隆之

(京都大学医学部附属病院)

## 目 次

### I. 総合研究報告

- 感音難聴に対する内耳薬物投与システム臨床応用に関する研究・・・・・・・・・・ 1  
中川隆之

### II. 研究成果の刊行に関する一覧表・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 23

### III. 研究成果の刊行物・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 28

## 感音難聴に対する内耳薬物投与システム臨床応用に関する研究

研究代表者 中川隆之 京都大学医学部附属病院

### 研究要旨

本研究は、われわれが開発した生体吸収性徐放ゲルを用いた内耳薬物投与システムを感音難聴治療に臨床応用することを目的とした研究開発を行うものである。感音難聴症例に対する臨床研究を開始するために必要な基礎的研究を行い、本治療法の臨床的な有効性を検証することが目的となる。平成 18 年度には、動物実験およびヒト側頭骨標本を用いた研究により、非臨床試験を完了した。平成 19 年度には、臨床試験デザインに必要な急性高度難聴に関する臨床統計を行い、生体吸収性ゲルを用いたリコンビナント・ヒト・IGF1 内耳投与による感音難聴治療の検討・第 I - II 相臨床試験のプロトコルを作成し、倫理委員会の承認を受け、臨床試験を開始した。また、急性高度難聴の病態解明に関連する臨床的研究および本治療法の適応拡大に関する基礎的研究を行った。平成 20 年度には、生体吸収性ゲルを用いたリコンビナント・ヒト・IGF1 内耳投与による感音難聴治療の検討・第 I - II 相臨床試験を実施し、17 症例の登録を行い、円滑に臨床試験を施行した。急性高度難聴治療開発に関する基礎的研究として、低体温保護効果の検討、肝細胞増殖因子およびプロスタグランジン E 特異的受容体作動薬局所投与による治療効果の検討、リドカイン徐放による耳鳴り抑制効果の検討を施行した。

### 研究分担者

伊藤 壽一  
三浦 誠（平成 19 年度）  
（京都大学大学院医学研究科）  
坂本 達則（平成 20 年度）  
平海 晴一  
山本 典生（平成 20 年度）  
（京都大学医学部附属病院）  
羽藤 直人  
暁 清文  
（愛媛大学医学部耳鼻咽喉科）  
田畑 泰彦  
（京都大学再生医学研究所）  
熊川孝三（平成 19、20 年度）  
（虎の門病院）  
福嶋雅典（平成 19、20 年度）  
（京都大学医学部附属病院）

### A. 研究目的

身体障害者に認定される高度感音難聴者は約 36 万人におよび、65 歳以上人口の 60% は感音難聴を有するとされている。また、急性高度難聴も人口 10 万人あたり約 30 人発症しており、感音難聴に対する新しい治療法の開発の必要性は高い。以上のような背景から、多くの基礎的研究が行われており、多くの有効性が期待できる薬物が明らかにされている。しかし、実際に臨床応用に至った基礎的研究成果は、ほとんどない。その理由として、基礎的研究成果を臨床に橋渡しする探索医療的研究が進んでいない点が指摘される。わ

れわれは、この点に着目し、基礎的研究成果を臨床に橋渡しする手段として、生体吸収性徐放ゲルを用いた内耳薬物投与システムを開発した。近年、多くの施設から細胞成長因子や神経栄養因子などのポリペプチドの高い内耳保護効果が報告されている。本研究では、これらの成長因子の中ですでに治療薬物として入手可能なインスリン様細胞成長因子1 (IGF1) を用い、IGF1 を生体吸収性徐放ゲルにより内耳局所投与する方法を感音難聴治療に応用し、臨床的有効性を検討することを第一の目的とし、急性高度難聴およびその随伴症状である耳鳴りに対する新しい治療法の開発を行った。

## B. 研究方法

### 1) 生体吸収性徐放ゲルによる IGF1 内耳局所投与による急性高度難聴治療研究：動物実験

われわれは、すでに過去の研究成果から、生体吸収性ゲルを用いた IGF1 の内耳投与により、音響外傷による感音難聴を予防できることを明らかとした。しかし、治療的効果を得るためには、感音難聴発症後に投与した場合の有効性を明確にする必要がある。そこで、モルモット音響外傷モデルおよびスナネズミ内耳虚血モデルを用いて、それぞれ障害を加えた後に薬物投与を行い、その有効性を検討した。また、同時に治療効果の濃度依存性についても調べた。さらに、生体吸収性ゲルを中耳正円窓窩に留置した場合に、中耳における炎症反応の有無についても検討した。

### 2) 生体吸収性徐放ゲルによる IGF1 内耳局所投与による急性高度難聴治療研究：ヒト側頭骨解析

ヒト中耳および内耳の構造と齧歯類の中耳、内耳構造は、著しく異なる。したがって、生体吸収性ゲルによる内耳薬物投与を臨床応用するためには、ヒトの側頭骨解剖に即した投与方法の開発が必要となる。以上の背景から、ヒト側頭骨標本 10 個を用いて、超細径内視鏡を用い、経鼓膜的にゲルを正円窓窩に留置する方法を検討した。鼓膜切開の位置、サイズ、留置可能なゲルの体積を検討した。さらに、臨床での経鼓膜的な生体吸収性ゲル正円窓窩留置を安全、確実にを行うための検討として、3D-CT を用いた正円窓窩位置の把握に関する研究を行い、あらかじめ正円窓窩の位置がどの程度予測できるか、また、理想的な観察確度、鼓膜切開部位を、左右 4 耳を用いて検討した。また、ヒト側頭骨標本 (8 耳) での超細径内視鏡での正円窓窩視認性に関して、経乳突洞顕微鏡下観察、経外耳道顕微鏡観察の比較検討を行った。正円窓窩が見えるか否か、見えた場合全体の何%が見えるのかを計測した。内視鏡、顕微鏡共に、経鼓膜的観察では、後下象限に 2×1mm の鼓膜切開をおくこととした。

### 3) 生体吸収性徐放ゲルによる IGF1 内耳局所投与による急性高度難聴治療研究：プロトコルデザイン

1973 年の厚生省特定疾患突発性難聴研究班の報告書で定められた突発性難聴診断基準、1984 年同研究班報告による突発性難聴・聴力回復の判定基準、1998 年同研究班報告による重症度分類を参考資料とし、内外の急性高度難聴の臨床試験に関する文献を解析し、生体吸収性徐放ゲルによる IGF1 内耳局所投与による感音難聴治療の対象疾患、その診断基準、病期分類、重症度分類、適格基準、治療プロトコル、観察期間、データモニタリン

グ方法、統計学的解析方法など第Ⅰ-Ⅱ相臨床試験に必要な事項を京都大学医学部附属病院探索医療検証部と協力し、調査した。また、統計学的解析に必要な症例数を算出するために、急性高度難聴における2次治療としての高気圧酸素療法の有効性に関する後ろ向き研究を行った。京都大学医学部附属病院にて治療を行ったステロイド無効であった急性高度難聴例における高気圧酸素療法の有効性に関する臨床的研究を行った。2000年10月から2006年9月の期間に京都大学医学部附属病院にて2次治療として高気圧酸素療法を行った278例を対象とした。1973年の厚生省特定疾患突発性難聴研究班の報告書で定められた突発性難聴診断基準、1984年同研究班報告による突発性難聴・聴力回復の判定基準、1998年同研究班報告による重症度分類に基づき、症例の重症度分類、聴力回復に関する有効性の解析を行った。

#### 4) 生体吸収性徐放ゲルによる IGF1 内耳局所投与による急性高度難聴治療研究：第Ⅰ-Ⅱ相臨床試験

1973年厚生省特定疾患突発性難聴研究班の診断基準で突発性難聴あるいは疑い例と診断された症例を急性高度難聴とし、これらの症例の中でステロイド全身投与を受けたが、1984年同研究班報告による突発性難聴・聴力回復の判定基準にて不変と判定された成人例を臨床試験の対象と設定した。なお、投与されたステロイドの種類、量および難聴の重症度、聴力型には、特に制限を設けなかった。ただし、重篤な合併症がある、あるいは、治療中、治療後悪性腫瘍5年以内の症例などは、除外した。インフォームドコンセントの獲得後、症例を登録した。症例の登録にあたっては、担当医に加え、京都大学医学部

附属病院探索医療センター臨床部が臨床試験についての説明を行った。症例の登録は京都大学医学部附属病院探索医療センター検証部が行い、登録後にプロトコル治療を4日以内に行うこととした。薬物の投与は、京都大学医学部附属病院デイサージェリーセンターにて、局所麻酔下に行った。鼓膜後下象限に鼓膜切開刃にて2mmの切開を加え、内視鏡ガイド下、正円窓窩にIGF-1含有ゼラチンハイドロゲル(メカセルミンとして300 $\mu$ g含有)を中耳手術用の器機を用いて留置した。この後、4日間のみ入院治療とし、以後、投与1, 2, 4, 12, 24週間後に外来にて諸検査を施行した。聴力改善を厚生省特定疾患突発性難聴研究班が策定の突発性難聴・聴力回復の判定基準にて投与12週後に判定した。また、有害事象の発生率について検討した。

#### 5) 従来の初期治療法による急性高度難聴の治療成績の検討

生体吸収性徐放ゲルによるIGF1内耳局所投与による急性高度難聴治療の有効性を検討するためには、安全性、少数症例での有効性の検証を目的とする第Ⅰ-Ⅱ相臨床試験に立脚した第Ⅱ相臨床試験を行う必要がある。本研究では、虎の門病院耳鼻咽喉科に入院し、安静・点滴などの初期治療を施行した重症例29例の治療効果を解析することにより、第Ⅱ相臨床試験の対象となる患者数を調べた。

#### 6) 突発性難聴に対する3D-MRAを用いた画像診断に関する研究

突発性難聴における内耳虚血の臨床的な関与を調べるために、3.0T MRIを用いて内耳の栄養血管である前下小脳動脈(AICA)ならびに迷路動脈の描出を試みるとともに、AICA

のMRA像と内耳病変との関係を検討した。健康ボランティア12例、愛媛大学耳鼻咽喉科を受診した新鮮突発性難聴症例24例を対象とし、AICAの異常発生率について比較検討を行った。

7) 生体吸収性徐放ゲルによる薬物内耳局所投与の適応拡大に対する基礎的研究：内耳有毛細胞再生への応用

内耳障害後の有毛細胞再生を目的とし、内耳への薬物投与による有毛細胞再生に関する研究を行った。ノッチ情報伝達阻害薬である $\gamma$ セクレターゼ阻害薬を投与薬物とし、正常あるいは薬物全身投与により聾としたモルモットへの内耳局所投与を行った。アミノ配糖体であるカナマイシンおよび利尿薬であるエタクリン酸全身投与により聾としたモルモットを使用した。聾モデルでは、耳毒性薬物全身投与2日後に $\gamma$ セクレターゼ阻害薬の内耳局所投与を開始した。組織学的にノッチリガンドおよびレセプターの発現変化および有毛細胞新生についての解析を行った。

8) 生体吸収性徐放ゲルによる薬物内耳局所投与の適応拡大に対する基礎的研究：内耳道手術モデルの開発

聴神経腫瘍手術などの内耳道手術における残存聴力の温存を想定したモデルとしてラット聴神経の物理的圧迫モデルの検討を行った。IGF1を浸透させた生体吸収性徐放ゲルをラット正円窓窩に留置し、その後頭蓋窩アプローチにて内耳道を明視下におき、マイクロマニピュレーターを用い、聴神経に物理的圧迫損傷を加え、聴覚性脳幹反応消失後の圧迫時間を一定にし、障害の定量化を企図した。経時的に聴性脳幹反応にて聴力評価を

行った。

9) 生体吸収性徐放ゲルによる薬物内耳局所投与の適応拡大に対する基礎的研究：肝細胞増殖因子の治療効果

肝細胞増殖因子(HGF)に関する検討を *in vitro*、*in vivo* で施行した。*In vitro* では、生後3日齢マウスから採取した蝸牛感覚上皮の器官培養を用い、アミノ配糖体であるネオマイシンによる有毛細胞死に対するHGFの防止効果を解析した。ネオマイシンの容量依存的有毛細胞障害効果を検証し、HGFの添加による有毛細胞保護効果を24時間培養で評価した。*In vivo* 実験では、モルモットを実験動物とし、音響外傷に対する生体吸収性徐放ゲルによるHGF投与による感音難聴防止効果を検証した。音響外傷直前に正円窓窩にHGF含有生体吸収性徐放ゲルを留置し、経時的に聴性脳幹反応を計測した。さらに、治療効果の検討を目的として、音響外傷後に肝細胞増殖因子(HGF)を生体吸収性ハイドロゲルにて内耳局所投与し、聴性脳幹反応にて聴力測定を経時的に行い、投与3週間後に蝸牛感覚上皮の組織学的解析を行った。実験動物としてモルモットを用い、4kHz、120 dB SPL octave band noiseを4時間曝露し、1時間後に20 $\mu$ gのHGFを含有するハイドロゲルを正円窓膜状に留置した。

10) 生体吸収性徐放ゲルによる薬物内耳局所投与の適応拡大に対する基礎的研究：プロスタグランジンE受容体4作動薬投与の治療効果

プロスタグランジンE1製剤は、本邦で広く急性高度難聴治療に用いられているが、その有効性に関する報告は一定せず、統計学的に有効性を証明した報告はない。プロスタ

グランディン E 受容体は、EP1~EP4 のサブタイプが同定されており、各々作用が異なり、EP2、4 と EP3 の作用は拮抗することが知られている。したがって、それぞれのレセプター特異的作動薬を用いることにより、プロスタグランディン E1 製剤で認められる治療効果をもつことができる可能性がある。各受容体作動薬の中で、神経細胞の保護効果が報告されている EP4 作動薬に着目し、その内耳局所投与による急性高度難聴治療効果に対する基礎的研究を行った。モルモットを用いて、音響外傷 (4kHz, 120dB SPL octave band noise 4 時間) に対する保護効果を調べ、マウスを用いて、蝸牛における EP4 発現について解析した。

#### 1 1) 急性高度難聴に対する低体温保護効果の研究

スナネズミを用いた内耳虚血モデルを用い、虚血—常温群、虚血—低体温群、コントロール—低体温群の 3 群を作製し、聴性脳幹反応による聴力測定および蝸牛感覚上皮の組織学的解析を行った。虚血—低体温群は、虚血負荷から低体温状態までの時間、低体温維持時間により 4 群に分けて検討した。

#### 1 2) ポリグリコール乳酸を用いたリドカイン徐放による耳鳴り抑制に関する実験的研究

感音難聴の多くには耳鳴りを伴うが、耳鳴りという症状に対する有効な治療法はなく、日常の耳鼻咽喉科臨床での大きな問題の一つとなっている。古くから、局所麻酔薬であるリドカインの全身投与および局所投与により耳鳴りが抑制されることが知られていたが、全身投与では不整脈、局所投与ではめまいという副作用が問題とされていた。最大

の問題点は、耳鳴り抑制効果の持続時間がきわめて短いことであった。これらの問題を解決する方法として、リドカインの内耳への徐放を考え、リドカインを 2 週間以上徐放する能力のあるポリグリコール乳酸にリドカインを封入したマイクロパーティクルを作製し、中耳正円窓膜上に投与した場合の徐放プロファイルおよび有害事象についての研究を行った。実験動物としてモルモットを用いた。

動物実験は、京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設および愛媛大学医学部の定める倫理規定に準じて行い、京都大学大学院医学研究科および愛媛大学医学部の動物実験委員会の承認を得て行ったものである。臨床研究については、京都大学大学院医学研究科・医学部医の倫理委員会および愛媛大学医学部倫理委員会の承認のもとに研究を行った。また、臨床疫学的研究は、文部科学省、厚生労働省が定める疫学研究に関する倫理指針に準じて行った。

### C. 研究結果

#### 1) 生体吸収性徐放ゲルによる IGF1 内耳局所投与による急性高度難聴治療研究：動物実験

モルモット音響外傷モデルで実験では、音響暴露 5 時間後に IGF1 を含浸させたゲルを正円窓膜上に留置した。含浸させた IGF1 は、1, 10 mg/mL の 2 つの濃度を用いた。生食を含浸させたゲルを留置した耳をコントロールとした。聴性脳幹反応を用いた聴力評価では、高濃度の IGF1 を投与した群で有意の差をもって、コントロールに比べた改善効果が認められた。蝸牛有毛細胞に関する組織学的



な解析でも、高濃度群において有意に残存している外有毛細胞が多いことが分かった。以上の結果から、音響外傷による急性高度難聴発症後、早期に IGF1 を、生体吸収性ゲルを用いて局所投与することにより感音難聴治療効果が得られることが示された。また、投与する IGF1 の濃度としては、薬剤添付文書にて指定されている濃度である 10 mg/mL が適切であると考えられた。さらに、本濃度の IGF1 を含浸させたゲルを正円窓膜上に留置した場合の蝸牛外リンパ液への徐放効果を調べた。投与 3 日目に最大の濃度が得られ、投与 7 日後には投与前レベルに低下していることが分かった。一方、脳脊髄液、血清における IGF1 濃度も並行して調べたが、投与に伴う変化は認められなかった。

椎骨動脈血流の遮断を用いるスナネズミ内耳虚血モデルでは、15 分間の虚血負荷を与え、虚血終了 15 分後に薬物局所投与を行った。生食含浸ゲル留置をコントロール耳に行った。結果、IGF1 投与耳では、有意に聴覚閾値の上昇が抑制されることが分かった。また、組織学的にも蝸牛有毛細胞の喪失が有意に抑制されることが明らかとなった。以上の結果から、生体吸収性徐放ゲルによる IGF1 内耳局所投与は、内耳虚血による急性高度難聴にも有効であることが示された。

安全性に関しては、各実験グループにて全身的副作用を示唆する所見を認めず、また、死亡に至る動物も認められなかった。局所所見としては、IGF1 あるいは生食を含浸させた生体吸収性ゲルを留置したすべての中耳腔で明らかな炎症所見を認めなかった。

2) 生体吸収性徐放ゲルによる IGF1 内耳局所投与による急性高度難聴治療研究：ヒト側頭骨解析

生体吸収性徐放ゲルのヒト正円窓窩への留置については、超細経内視鏡を用いることにより、経鼓膜的に十分可能であることが判明した。10 個の側頭骨の解析から、外耳道から見た正円窓窩の位置やその構造には個体差があることが示されたが、いずれの個体でも内視鏡下にゲルを正円窓窩に留置することが可能であった。また、内視鏡およびゲル留置に必要なデバイスの挿入に必要な鼓膜切開は、後下象限に 2mm おけば、十分であることが分かった。また、正円窓窩の体積は平均約 0.05 mL であった。半数の症例で、正円窓膜上に線維組織の存在を認めたが、ゲルの性状から線維組織が存在しても、その間隙から正円窓膜に接触させることが可能であることが分かった。ゲルを中耳腔、正円窓窩に送達する方法として、内視鏡のサイドチャンネルから注入する方法とピックにて留置する方法を検討したが、ゲルの性状および正円窓膜への接触を確実に行うとの観点から、ピックでの留置が望ましいと考えられた。

3D-CT を外耳道から鼓膜を見た状態に再構築し、経外耳動的な正円窓窩観察に適した観察精度および鼓膜切開部位を左右 4 耳を使用して検討した。結果、外耳道をやや前方から見上げる精度に設定することですべての標本において、経鼓膜的に正円窓窩が視認できることが分かった。本研究では内視鏡下に生体吸収性徐放ゲルを留置する方法を用いているが、本治療法を広く内外で行うことを想定すると耳鼻科外来に設置されている顕微鏡下での観察が理想的であるが、今回の結果は鼓膜切開を広くとれば、十分に外来、顕微鏡下でも生体吸収性徐放ゲルの投与が可能であることを示唆するものといえる。

内視鏡および顕微鏡での実際の正円窓窩認性の比較を行った結果では、経乳突洞顕微

鏡下観察ではすべての症例で正円窓窩が観察可能であり、正円窓膜全体を観察することが可能であった。ただし、今回使用した標本では、正円窓窩に偽膜が存在するものはなかった。一方、経外耳道顕微鏡観察では、8耳中2耳でしか正円窓膜を観察することができなかった。これに対して、内視鏡を用いた場合は、すべての標本で正円窓膜の観察が可能であった。したがって、侵襲を考慮して、鼓膜切開を小さくとどめた場合、超細経内視鏡を使用する利点が大きいことが分かった。しかし、経乳突洞に比較すると、正円窓膜の50%しか観察することができず、観察範囲に限界があることが分かった。この点は、今後、超細経内視鏡の曲がりなどの形状を経外耳道観察に至適に改善することにより、解決可能と考えられた。

### 3) 生体吸収性徐放ゲルによる IGF1 内耳局所投与による急性高度難聴治療研究: プロトコルデザイン

対象疾患については、進行性難聴の予防や人工内耳手術時の蝸牛組織保護なども候補と考えられたが、疾患としての病態は不明であるが、診断基準、重症度判定、治療効果判定が明確に規定されており、過去にいくつかの臨床的研究が本邦でも行われている疾患である突発性難聴および疑い例を対象疾患とした。検査データの取得方法を工夫すれば、海外の急性高度難聴治療に関する臨床試験との比較も可能であり、有効性の検討が行いやすいと考えられた。治療プロトコルとしては、単独治療、ステロイドとの併用などが考えられた。効果検証の観点からは、新鮮例に対する単独治療が望ましいと考えられたが、感音難聴は一旦進行すると固定してしまうことが多いなど疾患予後を考慮し、最も一般

的な治療法であるステロイドの全身投与を行い、治療効果がない、もしくは不十分と判定された症例を対象とすることとした。また、突発性難聴では、発症から10日間を経過すると予後が悪く、治療効果が乏しくなる傾向にあることが知られている。しかしながら、本試験で使用する治療法については、発症後どの程度の期間まで有効であるかは不明であり、今後の臨床試験あるいは医師主導型試験の拡大を考慮すると、要検討項目であると考え、発症から30日未満を対象とすることにした。治療効果判定は、従来の突発性難聴・聴力回復の判定基準(1984年厚生省班研究)に基づいて行い、治療開始3ヶ月後の聴力にて効果判定を行う。有害事象の有無の判定についても、十分に検討するために観察期間を6ヶ月とし、中耳炎および鼓膜穿孔を可能性の高い合併症と想定した観察、解析を行うこととした。

次に、症例数決定のための historical control 作成のために、急性高度難聴における2次治療としての高気圧酸素療法の有効性に関する後ろ向き研究を行った。2000年10月から2006年9月の期間に京都大学医学部附属病院にて2次治療として高気圧酸素療法を行った278例のうち、ステロイド全身投与が不変であり、データ解析に必要な情報が揃っている199例について解析を行った。高気圧酸素治療開始前の重症度は、1998年厚生省特定疾患突発性難聴研究班報告による重症度分類のグレード1:46例、グレード2:53例、グレード3:53例、グレード4:47例であった。1984年厚生省研究班報告による突発性難聴・聴力回復の判定基準による効果判定では、治癒4例、著明回復15例、回復47例、不変133例であり、回復以上を有効とした場合の有効率は、33%であった。また、著

明回復以上は9.5%にとどまった。

以上の結果に基づき、プロトコル策定を行った。対象を一般的な治療法であるステロイド全身投与無効例に限定した。治療効果の判定は、ステロイド投与開始7~10日で判定することとした。ステロイド治療の詳細については、過去の報告で明らかな容量依存性やステロイドの種類の違いによる効果の差異は確認されていないこと、また表記の次項について限定を加えると他の医療施設からの紹介症例を登録できない、プロトコルをステロイド投与開始からにする必要となることから、ステロイド治療内容については、特に制限を設けず、1984年厚生省研究班報告による突発性難聴・聴力回復の判定基準による効果判定にて不変であったことを選択基準とした。登録可能な年齢については、過去の疫学的研究から突発性難聴の発症年齢の中心が中年以降であること、臨床試験であることを考慮し、20歳以上の成人例のみを対象とすることとした。発症からの時間経過については、本臨床試験が第I-II相試験であることから、安全性のみではなく、有効性の検証が重要となることを考え、発症後30日未満とした。

急性高度難聴における2次治療としての高気圧酸素療法の有効性に関する後ろ向き研究により、ステロイド無効急性高度難聴例に対する高気圧酸素療法の1984年厚生省研究班報告による突発性難聴・聴力回復の判定基準の回復以上を有効とした場合、33%の有効率が得られることが判明した。この結果に基づき、本試験では回復以上を有効とし、閾値有効割合を33%、期待有効割合を63%、 $\alpha$ エラー0.05(片側)、 $\beta$ エラー0.1とすると、二項分布に基づく必要適格例数は22例となるため、約10%の不適格例を見込んで目標登録

症例数を25例とした。

有効性エンドポイントとして、純音聴力検査による平均聴覚閾値の回復以上の割合とその95%信頼区間を推定し、過去のステロイド無効例に対して施行した高気圧酸素治療との比較検討を「疫学研究に関する倫理指針」に準じて行う。2000年10月から2006年9月の間に京都大学医学部附属病院耳鼻咽喉科・頭頸部外科にて治療を行った急性高度難聴ステロイド全身投与無効例に対する2次治療としての高気圧酸素療法の成績を対照とする。以上の集団から、年齢、発症から治療までの期間、性別をマッチさせた症例を対照として用い、統計学的解析を行うこととした。また、安全性エンドポイントとして、試験期間中に発生した有害事象について、種別に頻度と発生割合を算出することとした。

#### 4) 生体吸収性徐放ゲルによる IGF1 内耳局所投与による急性高度難聴治療研究：第I-II相臨床試験

これまでに17例の登録が完了し、13例で投与12週後の聴力評価が完了した。男性7例、女性6例で、平均年齢は $49 \pm 12$ 歳であった。IGF1投与を行った時期は、 $23 \pm 4$ 日と遅いタイミングであり、登録時の平均聴力は $80.3 \pm 25.4$ dBと高度障害例が中心であった。厚生省研究班の重症度分類ではgrade 3以上の症例が77%をしめた。IGF1投与12週後の効果判定では不変9例、回復4例であり、有効度は44%であった。有害事象としては、めまい、中耳炎、鼓膜穿孔について評価した。めまいは、76%の症例で認められたが、いずれも軽微なもので、すべての症例で投与7日以内に消失した。急性中耳炎は2例で認められたが、いずれも感冒の合併によるもので、抗生物質の投与により、治癒した。鼓膜穿孔

の残存は認められず、全症例4週間以内に閉鎖した。

#### 5) 従来の初期治療法による急性高度難聴の治療成績の検討

ステロイド投与1ヶ月目での初期治療の成績は厚労省班研究基準で検討した結果、

治癒	10例	(34.5%)
著明回復例	8例	(27.6%)
回復例	3例	(10.3%)
不変	8例	(27.6%)

であった。

#### 6) 突発性難聴に対する3D-MRAを用いた画像診断に関する研究

健常者での3D-MRIでは内耳の形状を描出することは可能であったが、内耳動脈の描出には至らなかった。3D-MRAでは椎骨・脳底動脈から前下小脳動脈までは十分に描出可能であることが判明した。3D-MRAによるAICA異常像は、片側AICAの描出不可、狭窄像、対側に比して明らかに細い血管像に分類された。これらの異常像は健常群では3例(12.5%)、3耳、突発性難聴群では19例(79.2%)、23耳にみられた。突発性難聴群において、健側の異常像は7例(29.2%)であったが、患側は16例(66.7%)と有意に多く( $p < 0.01$ )、突発性難聴とAICA異常像との関連が示唆された。

#### 7) 生体吸収性徐放ゲルによる薬物内耳局所投与の適応拡大に対する基礎的研究：内耳有毛細胞再生への応用

$\gamma$ セクレターゼ阻害薬の内耳局所投与による有毛細胞新生については、コントロールである無処置モルモットでは、異所性有毛細胞の出現を認めなかった。薬物により聾とし

たモルモットでは、障害後早期の段階では、蝸牛感覚上皮の一部でノッチリガンドおよびレセプターの発現亢進が認められた。しかし、この発現亢進はごく一時的なものであった。ノッチリガンドおよびレセプターの発現亢進が認められているタイミングで $\gamma$ セクレターゼ阻害薬を内耳局所投与するとごく限られてはいるが、蝸牛内有毛細胞のさらに内側に新生有毛細胞の出現が認められた。しかしながら、機能的な回復は認められなかった。

#### 8) 生体吸収性徐放ゲルによる薬物内耳局所投与の適応拡大に対する基礎的研究：内耳道手術モデルの開発

内耳道手術モデルである聴神経の機械的圧迫モデルでは、第一に本モデルにおける蝸牛の組織学的変化および機能変化を詳細に検討した。結果、聴神経の圧迫損傷によりラセン神経節細胞は高度の変性に陥るが、蝸牛感覚上皮は温存されていることが分かった。聴性脳幹反応、耳音響放射による解析も組織学的な変化を裏付けるものであった。通常、有毛細胞が存在していると有毛細胞からの神経栄養因子供給によりラセン神経節細胞の生存維持が行われているが、聴神経の圧迫による変性では、有毛細胞から供給される神経栄養因子では不十分であることが分かった。

#### 9) 生体吸収性徐放ゲルによる薬物内耳局所投与の適応拡大に対する基礎的研究：肝細胞増殖因子の治療効果

HGFによる蝸牛感覚上皮保護効果に関するin vitro実験では、ネオマイシンにより誘導される容量依存性の有毛細胞障害がHGF添加により有意に抑制されることが分かった。ま

た、HGF の至適濃度が判明した。この結果をもとに、*in vivo*での音響外傷実験を行った。音響外傷前に HGF を、生体吸収性徐放ゲルを用いて投与することにより、一部の周波数領域において有意の聴力保護効果が認められた。次に、治療的効果を調べる目的で、音響外傷後に HGF を投与する実験を行った。HGF 投与を受けた動物では、16 kHz、投与 21 日後において、有意に聴性脳幹反応閾値上昇が抑制されることが示された。また、組織学的にも蝸牛の頂部から 60~80%の部位で外有毛細胞が有意に多く残存していることが示された。以上の結果から、音響外傷後に投与しても、HGF 内耳局所投与により蝸牛が保護され、聴覚改善が促進されることが明らかとなった。

#### 10) 生体吸収性徐放ゲルによる薬物内耳局所投与の適応拡大に対する基礎的研究：プロスタグランジンE受容体4作動薬投与の治療効果

マウス蝸牛における EP4 発現について、RT-PCR および免疫染色での評価を行った。結果、RT-PCR にてマウス蝸牛における mRNA レベルでの EP4 発現が示され (図4)、免疫染色でも蝸牛感覚上皮、ラセン神経節、ラセン靱帯、血管条での発現が認められた。

モルモット音響外傷モデルでは、音響曝露前あるいは直後に EP4 作動薬を局所投与した。音響曝露前投与では、4, 8, 16 kHz すべての周波数で有意に聴性脳幹反応閾値上昇が抑制されることが示された。一方、音響曝露後の投与では、16 kHz のみで有意の閾値上昇抑制が認められた。また、組織学的には、音響曝露前に投与を行った場合、残存外有毛細胞数に有意の差が認められたが、音響曝露後に投与を行った場合には有意差は認められな

かった。以上の結果より、蝸牛には EP4 が存在し、選択的に EP4 を作動させることにより、従来のプロスタグランジンE製剤よりも、より効果的な治療が行える可能性が示唆された。

#### 11) 急性高度難聴に対する低体温保護効果の研究

虚血-常温群では虚血後 1 日目に約 30dB の ABR 閾値の上昇がみられ、その後徐々に回復したが 7 日目にも約 23dB の閾値上昇が残った。虚血-低体温群では閾値上昇は 1, 4, 7 日目いずれにおいても虚血-常温群より軽減されていた。7 日目の閾値上昇は約 11dB であり、虚血-常温群との間には有意な差が認められた ( $p < 0.05$ )。虚血-低体温群 (15 分間虚血の 60 分後から 360 分間) では閾値上昇は 1, 4, 7 日目いずれにおいても虚血-低体温群 (15 分間虚血の 60 分後から 180 分間) よりさらに軽減されていた。7 日目の閾値上昇は虚血-常温群のそれとの間には有意な差が認められた ( $p < 0.01$ )。虚血-低体温群 (虚血の 180 分後から 180 分間) では 7 日目の閾値上昇は約 16dB であったが、他の虚血-低体温群との間に有意な差は認められなかった。虚血-低体温群 (虚血の 180 分後から 180 分間) では閾値上昇は 1, 4 日目ではむしろ虚血-常温群より増大している傾向にあり、7 日目の閾値上昇も約 21dB と虚血-低体温群 (15 分間虚血の 60 分後から 360 分間) のそれとの間に有意な差が認められた ( $p < 0.05$ )。

基底回転内毛細胞の脱落細胞割合 (7 日目) は、虚血-常温群で約 16%、虚血-低体温群 (15 分間虚血の 60 分後から 360 分間) で約 5.1%、虚血-低体温群 (15 分間虚血の 60 分後から 180 分間) で約 7%、虚血-低体

温群（虚血の 180 分後から 180 分間）で約 10.1%、虚血—低体温群（虚血の 180 分後から 180 分間）で約 13.4%であった。虚血—常温群と虚血—低体温群（15 分間虚血の 60 分後から 360 分間）、虚血—常温群と虚血—低体温群（15 分間虚血の 60 分後から 180 分間）の間には統計学的な有意差が認められた（ $p < 0.01$ ）。

#### 1.2) ポリグリコール乳酸を用いたリドカイン徐放による耳鳴り抑制に関する実験的研究

まず、リドカインを含有する 2 種類のポリグリコール乳酸マイクロパーティクルを作製した。外径  $5\mu\text{m}$  の小さいサイズのパーティクルと外径  $100\mu\text{m}$  の大きなサイズのパーティクルを作製した。第一にそれぞれの徐放特性を調べる目的で、*in vitro* での徐放 profile を調べた。結果、 $100\mu\text{m}$  のパーティクルの方が長い期間安定して、リドカインを徐放することが示された。

次に、径  $100\mu\text{m}$  の大きなサイズのパーティクルをモルモット正円窓膜上に留置し、蝸牛外リンパへの *in vivo* での徐放を評価した。結果、投与 14 日後でも外リンパ中のリドカインは計測可能なレベルにあり、投与 1, 3 日目には、高濃度のリドカインが確認された。

有害事象については、眼振の発生およびその持続時間と中耳粘膜における炎症所見について評価した。2 あるいは 4%リドカイン液を局所投与した後には、強い眼振が観察されたが、リドカイン含有パーティクル投与後には眼振は全く観察されなかった。また、リドカイン含有パーティクル投与 7 日後の中耳粘膜における炎症細胞の浸潤をコントロールとしたシャムオペ動物と比較したが、有意の差は認められなかった。したがって、リ

ドカイン含有パーティクル投与により、めまいや中耳炎が惹起される可能性はきわめて低いと考えられた。

#### D. 考察

これまでに、急性高度難聴に対する介入を伴う臨床試験は、国際的に登録されているもので、3 件行われていた。1 件は、免疫抑制剤をステロイドに併用するものであり、他 2 件はステロイド局所投与に関するものであった。また、国内では厚労省事業として、聴覚・平衡機能系疾患調査班（急性高度難聴）にて疫学的な調査が行われている。また、本邦でも、ステロイド全身投与を含めたいくつかの突発性難聴に対して有効とされていた治療法の評価を行う臨床試験も行われている。これら過去の研究成果に基づいて、生体吸収性徐放ゲルによる IGF1 内耳局所投与による急性高度難聴治療に関する臨床試験プロトコルの土台を作成し、京都大学医学部付属病院探索医療センター・検証部の協力の下、過去の高気圧酸素療法の治療成績に関する調査結果に立脚し、第 I—II 相臨床試験プロトコルを作成した。プロトコルの京都大学大学院医学研究科・医学部医の倫理委員会に提出し、承認をうけ、UMIN Clinical Trial Registry に登録した。その後、京都大学医学部付属病院薬剤部にて院内製剤として生体吸収性徐放ゲルの作製を行った。作製したサンプルの安全性試験を日本食品センターおよび三井化学分析センターにて行い、残留エチレンオキシド、グルタルアルデヒド濃度が基準値以下であることを確認し、エンドトキシン検出閾値以下、無菌であることを確認した。これらの結果確認後、症例登録を平成 19 年 12 月 19 日から開始した。平成 20 年

3月時点で17例の登録にとどまっている。これまでの登録、試験を施行した症例では、問題となる有害事象は認めておらず、第Ⅰ-Ⅱ相臨床試験の目的である安全性の評価という点では、良好な結果が得られているといえる。めまいが76%と多くの症例で認められたが、すべて7日以内に消失しており、激しいめまい症状を訴える症例はなく、むしろ確実に薬物が内耳に移行した証明と理解された。薬物投与に際して、鼓膜切開を行うが、すべての症例で鼓膜は問題なく閉鎖しており、投与方法についても安全性が高いといえる。有効性については、44%の症例で、回復が認められた。ステロイド無効例で、IGF1投与開始のタイミングが発症後21日であることを考慮すれば、高い有効性と考えられる。本試験での症例数は、ステロイド無効例に対する高気圧酸素療法の有効度30%に対して、60%の有効度を期待し、有意の差を得るために必要な症例数を算出したものである。これまでの結果から推察すると、本試験では高気圧酸素療法に対して、有意に高い有効性を示すことは難しいと予想される。今後予定登録症例がすべて解析可能となった時点で、高気圧酸素療法のサンプルから、年齢、性別、治療開始前重症度、治療開始時期をマッチさせた症例を選び、統計学的解析を行う予定である。すべての症例の登録が完了していないので推論にとどまるが、今回の第Ⅰ-Ⅱ相臨床試験で示された安全性、有効性から、第Ⅱ相臨床試験にて詳細な有効性の検討を行う意義は高いと考えられる。一方で、われわれの予想よりも症例登録の速度が遅かった要因として、登録前治療に対する除外基準が厳しかったことなどが考えられる。第Ⅱ相臨床試験デザインに際しては、症例リクルートについても十分に考慮したい。

上記の症例リクルートの経験に基づき、大都市の大学病院でない基幹病院での突発性難聴臨床の調査を行い、第Ⅱ相試験デザインに役立てることを考慮し、虎の門病院での突発性難聴症例で入院治療を要した症例数および初期治療として行ったステロイド全身投与の効果を調べ、予想される登録対象となる症例数の予測を行った。結果、2年間で29症例が突発性難聴で入院治療をうけ、11例が回復あるいは不変にとどまることが分かった。第Ⅰ-Ⅱ相臨床試験での症例登録状況を見ると、17例の登録中2例のみが、初期のステロイド全身投与を行った症例であった。虎の門病院での不変症例は8例であり、年間4例と考えられる。これは、京都大学での年間不変症例数と変わらないことから、同じ条件で臨床試験を行った場合、京都大学と同等の症例数が見込めると推察される。

突発性難聴の診断基準には、原因不明が含まれる。すなわち、特殊な症例を除くと、日常臨床で遭遇する急性高度難聴の多くの病態は不明である。そこで、内耳虚血の急性高度難聴の病態としての重要性を明確にする目的で、臨床的研究を行った。3D-MRAによる検討ではAICAの異常所見が多くの症例で認められた。MRAは血管内血液の移動による信号の違いを画像化したものであり、血流が極端に遅い血管では描出不良となる。このため実際には血流が保たれていても、MRA画像上は血液移動の信号が見られず、血管はあたかも閉塞しているように描出される。すなわちMRAの血管閉塞像は必ずしも実際の血管閉塞を意味しない。しかし、MRAで認められた血管異常像は少なくとも血流低下や乱流の存在を示すものであり、今回のAICAの検討でも間接的に内耳虚血病変との関連が示唆された。今後、MRIやMRAの技術がさらに進歩

し、短時間で高解像度の血管像が得られるようになれば、内耳領域の詳細な血流動態の評価も可能となり、突発性難聴と虚血の関係もより明確になると推測された。

内耳基礎的研究成果を実際の臨床までトランスレイトすることが本件課題の主たる目的である。IGF1の内耳局所投与については、非臨床試験、プロトコルデザインを経て、臨床試験実施を実現することができた。本研究課題のもうひとつの目的は、今後臨床試験に発展させることが可能な治療法の基礎的な研究開発を行い、次のシーズを発掘することにある。そこで、本研究課題では、将来の臨床応用の可能性がある薬物として、HFG、EP4作動薬に関する動物実験を行い、さらに大きな目標である内耳有毛細胞再生を目的として、薬物によるノッチ上方伝達系の制御に関する研究開発を行った。また、低体温療法の可能性についても検討した。低体温療法の臨床応用を考えた場合、全身を低体温にするのはリスクが高いと考えられることから、側頭骨の温度を下げる局所的な治療法が想定される。低体温療法は、内耳虚血後、1時間経過した段階でも高い有効性を示した。また、HGFおよびEP4作動薬でも音響曝露後の投与でも有効性を示唆する所見がえられた。したがって、これらの治療法も急性高度難聴に対しての有効性が期待でき、今後の臨床応用が期待できる。薬物によるノッチ上方伝達系の制御に関しては、器官培養系の実験では、支持細胞から有毛細胞への分化転換が可能であることが示されており、今回の実験では *in vivo* での有効性を示すことが主眼となった。*In vitro* 同様に異所性の有毛細胞を誘導できたことから、内耳薬物投与による有毛細胞再生の可能性があることを呈示できた。しかし、誘導された新生有毛細胞の数はきわめて限

られていることから、今後薬物投与に関する条件の至適化、あるいは投与する薬物の追加を考えなければならない。一方、今回の実験で使用したγセクレターゼ阻害薬は神経疾患治療を含め多くの領域で臨床応用が試みられている薬物であり、近い将来の臨床応用が期待できる薬物といえる。

耳鳴りは、明らかな体外音源がない状態で感じる音覚と定義され、人口の約15%が経験を有し、感音難聴を伴わない場合もある。しかし、多くの感音難聴症例の随伴症状として、高頻度に認められる。現在、耳鳴りに有効な治療法はなく、今回耳鳴り軽減のための治療法として、リドカイン内耳徐放に関する研究開発を行った。リドカインは疎水性の薬物であることから、ゼラチンハイドロゲルではなく、ポリグリコール乳酸による徐放システムを用いた。ポリグリコール乳酸によるリドカイン徐放の特性を調べるために、大きさの異なるパーティクルを用意し、その徐放動態を調べ、外径100 $\mu\text{m}$ のパーティクルが望ましい徐放動態を示すことが分かった。外径100 $\mu\text{m}$ のパーティクルは、7日間で含有するリドカインの約80%を徐放し、残り20%が、以後50日以上かかって、ゆっくりと徐放されるプロファイルを示した。このパーティクルを用いて、*in vivo*での徐放動態および有害事象についての検討を行ったところ、投与3日目まで高い蝸牛外リンパ中の濃度が確認され、以後濃度は明らかに低下するものの14日目まで測定可能なレベルを維持した。この結果は、ほぼ *in vitro*での解析結果に準ずるものであり、蝸牛内に送達されたリドカインが比較的早い速度で外リンパ外に運び出されていることを示唆する。この結果は、これまで通常の塩酸リドカイン溶液を鼓室内投与した場合に耳鳴り抑制効果が数時間以



内に消失してしまう結果を支持するものあり、臨床的な耳鳴り抑制効果を考えた場合のリドカイン徐放の重要性を示唆するものといえる。また、著明な有害事象を示唆する所見が認められなかったことから、安全性も高いことが期待できる。これらの結果をもとに、第Ⅰ-Ⅱ相臨床試験のプロトコル作成を行う予定である。

#### E. 結論

内耳への薬物徐放を可能とする内耳薬物投与システムを応用した感音難聴治療法開発として、生体吸収性徐放ゲルによる IGF1 内耳局所投与法を開発し、非臨床試験および臨床研究を行い、第Ⅰ-Ⅱ相臨床試験プロトコルを作成した。これまでに、17例の症例が登録され、現在のところ問題となる有害事象は発生していない。有効性を認める症例も散見されるが、最終的な結論は25例の登録、評価終了を待たなければならない。また、次の段階となる第Ⅱ相臨床試験に向けた準備となる臨床研究を施行し、臨床試験デザインに有用な所見を与えることができた。一方、内耳薬物投与システムによる感音難聴および耳鳴り治療のシーズ開発と位置づけられる基礎的研究開発を行い、将来の臨床応用が期待できる薬物、治療法が開発できた。

#### F. 健康危険情報

特記すべき健康危険情報はない。

#### G. 研究発表

##### 著書

1. 中川隆之, 伊藤壽一: 12. BDNF 2) 内耳 細胞増殖因子と再生医療 松本邦夫, 田畑泰彦編 pp346-350 メジカルレビュー社. 大阪. 2006
2. 中川隆之. 内耳再生のストラテジー メディカルバイオ オーム社. 東京. 2007
3. 暁 清文: 虚血性内耳病変の発生機序と臨床 第108回日本耳鼻咽喉科学会宿題報告モノグラフ. 2007.
4. 中川隆之, 伊藤壽一: 第2章 生体シグナル因子の利用 1. 細胞増殖因子 MOOK13号 臨床再生誘導治療 2009 患者までとどいている再生誘導治療 田畑泰彦編. メディカル ドゥ. 大阪. 2009

##### 論文

1. 中川隆之: DDS を用いた内耳疾患の治療. 炎症と免疫 15: 60-65, 2007.
2. Fujita K, Hakuba N, Hata R, Morizane I, Yoshida T, Shudou M, Sakanaka M, Gyo K. Ginsenoside Rb1 protects against damage to the spiral ganglion cells after cochlear ischemia. *Neurosci Lett* 415:113-117, 2007.
3. Yoshida T, Hakuba N, Morizane I, Fujita K, Cao F, Zhu P, Uchida N, Kameda K, Sakanaka M, Gyo K, Hata R. Hematopoietic stem cells prevent hair cell death after transient cochlear ischemia through paracrine effects. *Neuroscience* 45:923-930, 2007.

4. 坂本達則, 中川隆之, 伊藤壽一:  
DDSを用いた感覚器領域における再生医療. 再生医療 16: 27-31, 2007.
5. Nakagawa T, Ito J. Drug delivery systems for the treatment of sensorineural hearing loss. Acta Otolaryngol Suppl. 557; 30-35, 2007.
6. 田畑泰彦:Tissue Engineering の最前線—生体組織の再生誘導治療を実現する医工学技術. 医学のあゆみ 217; 463-467, 2006.
7. Suzuki T, Nomoto Y, Nakagawa T, Kuwahata N, Ogawa H, Suzuki Y, Ito J, Omori K. Age-dependent degeneration of the stria vascularis in human cochleae. Laryngoscope 116:1846-1850, 2006.
8. Okano T, Nakagawa T, Kita T, Endo T, Ito J. Cell-gene delivery of brain-derived neurotrophic factor to the mouse inner ear. Mol Ther 14: 866-871, 2006.
9. Hato N, Kohno H, Okada M, Hakuba N, Gyo K, Iwakura T, Tateno M. A new tool for testing ossicular mobility during middle ear surgery: preliminary report of four cases. Otol Neurotol 27:592-595, 2006.
10. Iwai K, Nakagawa T, Endo T, Matsuoka Y, Kita T, Kim TS, Tabata Y, Ito J. Cochlear protection by local IGF-1 application using biodegradable hydrogel. Laryngoscope 116: 526-533, 2006
11. Nakagawa T, Ito J. Local drug delivery to inner ear for treatment of hearing loss. Current Drug Therapy 3: 143-147, 2008.
12. Hori R, Nakagawa T, Sakamoto T, Matsuoka Y, Takebayashi S, Ito J. Pharmacological inhibition of Notch signaling in the mature guinea pig cochlea. Neuroreport. 18:1911-1914, 2007.
13. Lee KY, Nakagawa T, Okano T, Hori R, Ono K, Tabata Y, Lee SH, Ito J. Novel therapy for hearing loss: Delivery of insulin-like growth factor-1 to the cochlea using gelatin hydrogel. Otol Neurotol 28; 976-981, 2007.
14. 伊藤壽一、中川隆之、山本典生: 内耳障害への再生医学的アプローチ 最新医学 62: 130-169, 2007.
15. 中川隆之、吉川弥生、伊藤壽一: 内耳性難聴: 新しい治療法開発への展望 実験医学 25: 3052-3057, 2007
16. Hori R, Nakagawa T, Sugimoto Y, Sakamoto T, Yamamoto N, Hamaguchi K, Ito J. Prostaglandin E receptor subtype EP4 agonist protects auditory hair cells against noise-induced trauma. Neuroscience in-print.
17. Kikkawa YS, Nakagawa T, Horie RT, Ito J. Hydrogen protects auditory hair cells from free radicals. Neuroreport in-print.
18. Inaoka T, Nakagawa T, Kikkawa YS,

- Tabata Y, Ono K, Yoshida M, Tsubouchi H, Ido A, Ito J. Local application of hepatocyte growth factor using gelatin hydrogels attenuates noise-induced hearing loss in guinea pigs. *Acta Otolaryngol* 2009 Feb 13:1-5. [Epub ahead of print]
19. Kada S, Nakagawa T, Ito J. A mouse model for degeneration of the spiral ligament. *J Assoc Res Otolaryngol* 2009 Feb 11. [Epub ahead of print]
20. Hiraumi H, Nakagawa T, Ito J. Efficiency of a transtympanic approach to the round window membrane using a microendoscope. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 266:367-71, 2009.
21. Fujiwara T, Hato N, Nakagawa T, Tabata Y, Yoshida T, Komobuchi H, Takeda S, Hyodo J, Hakuba N, Gyo K. IGF1 treatment via hydrogels rescues cochlear hair cells from ischemic injury. *Neuroreport* 19:1585-1588, 2008.
22. Okano T, Nakagawa T, Kita T, Kada S, Yoshimoto M, Nakahata T, Ito J. Bone marrow-derived cells expressing Ibal are constitutively present as resident tissue macrophages in the mouse cochlea. *J Neurosci Res* 86: 1758-1767, 2008.
23. 中川隆之:内耳疾患の治療をめざして—基礎研究の最前線 薬物の経正円窓投与 日耳鼻 111:655-663, 2008.
24. Hato N, Sawai N, Teraoka T, Wakisaka H, Takahashi H, Hinohira Y, Gyo K: Valacyclovir for the treatment of Bell's palsy. *Expert Opin. Pharmacother* 9:14:2531-2536, 2008.
25. Hato N, Murakami S, Gyo K: Steroid and antiviral treatment for Bell's palsy. *Lancet* 371:1818-1820, 2008.
26. Takeda S, Hakuba N, Yoshida T, Fujita K, Hato N, Hata R, Hyodo J, Gyo K: Postischemic mild hypothermia alleviates hearing loss because of transient ischemia. *Neuroreport* 19:13:1325-1328, 2008.

#### 学会発表

1. Nakagawa T, Endo T, Tamura T, Iwai K, Okano T, Kita T, Higaki M, Tabata Y, Ito J. Drug delivery to the inner ear: nanoparticle, hydrogel and ex vivo gene transfer. The 11th Korea-Japan Joint Meeting of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery. Busan, Korea, April 6-8, 2006.
2. 中川隆之, 遠藤 剛, 田村哲也, 岩井浩治, 金 泰秀, 伊藤壽一:生体吸収性徐放製剤による内耳ドラッグデリバリー. 第 107 回日本耳鼻咽喉科学会. 平成 18 年 5 月 11~13 日. 東京.
3. 嘉田真平, 中川隆之, 岡野高之, 松本昌宏, 大野恒久, 伊藤壽一:マウスラセ

- ン靱帯障害モデルの検討. 第 107 回日本耳鼻咽喉科学会. 平成 18 年 5 月 11~13 日. 東京.
4. 盛實 勲, 白馬伸洋, 兵頭 純, 篠森裕介, 藤田健介, 吉田 正, 羽藤直人, 暁 清文:一過性内耳虚血が血管条に及ぼす影響. 第 107 回日本耳鼻咽喉科学会. 平成 18 年 5 月 11~13 日. 東京.
  5. 菰刈勇人, 羽藤直人, 寺岡正人, 脇坂浩之, 高橋宏尚, 暁 清文:Drug delivery system を用いた bFGF の顔面神経再生促進効果 (第 2 報). 第 29 回日本顔面神経研究会. 平成 18 年 6 月 1~2 日. 新潟.
  6. 伊藤壽一:内耳再生. 第 48 回日本老年医学会シンポジウム. Aging Science Forum 高齢医学における未来医療. 平成 18 年 6 月 7 日. 石川.
  7. 藤田健介, 白馬伸洋, 兵頭 純, 吉田正, 暁 清文:一過性内耳虚血によるラセン神経節細胞障害に対する Ginsenoside Rb1 の効果. 第 24 回頭頸部自律神経研究会. 平成 18 年 8 月 26 日. 大阪.
  8. Ito J, Nakagawa T, Endo T. A novel method for treatment of inner ear using new drug delivery system. Collegium Oto-Rhino-Laryngologicum Amicitiae Sacrum 2006. Moscow, Russia. Aug 27-30, 2006.
  9. 中川隆之, 田畑泰彦, 遠藤 剛, 岩井浩治, 喜多知子, 金 泰秀, 伊藤壽一:ゼラチンハイドロゲルを用いた感音難聴治療. 第 9 回日本組織工学会. 平成 18 年 9 月 7~8 日. 京都.
  10. 寺岡正人, 羽藤直人, 菰刈勇人, 暁清文, 田畑泰彦:DDS を用いた bFGF の顔面神経再生促進効果. 第 9 回日本組織工学会. 平成 18 年 9 月 7~8 日. 京都.
  11. Kada S, Nakagawa T, Ito J. A mouse model for selective degeneration of the spiral ligament due to local application of 3-nitropropionic acid. The 43rd Inner Ear Biology Workshop. Montpellier, France. Sep. 17-20, 2006.
  12. 嘉田真平, 中川隆之, 伊藤壽一:3-nitro propionic acid(3-NP)によるマウス内耳障害. 第 16 回日本耳科学会. 平成 18 年 10 月 19~21 日. 青森.
  13. 中川隆之, 松本昌宏, 小島 憲, 岡野高之, 伊藤壽一:遺伝子導入を目的とした前庭感覚上皮器官培養システム開発の試み. 第 65 回日本めまい平衡医学会. 平成 18 年 11 月 15~17 日. 東京.
  14. 藤原崇志, 吉田 正, 兵頭 純, 羽藤直人, 暁 清文:一過性内耳虚血障害に対するゼラチンハイドロゲルを用いた IGF-1 の保護効果. 第 49 回日本耳鼻咽喉科学会愛媛県地方部会学術講演会. 平成 18 年 12 月 17 日. 松山.
  15. Nakagawa T, Lee KY, Okano T, Matsumoto M, Hiraumi H, Ono K, Tabata Y, Ito J. Therapeutic effects of IGF-1-hydrogel therapy on noise-induced hearing loss in guinea pigs. The 30th Midwinter Meeting of Association for Research in Otolaryngology. Denver, Colorado, USA, Feb. 10-15, 2007.
  16. Sakamoto T, Nakagawa T, Hori R, Matsuoka Y, Takebayashi S, Ito J. Pharmacological inhibition of Notch