

200930002A

厚生労働科学研究費補助金

感覚器障害研究事業

内外リンパ腔画像からみた内耳疾患の病態と局所療法

平成 21 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 中島 務

平成 22 (2010) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告書

メニエール病患者におけるガドリニウム造影剤静脈投与による内外リンパ腔の描出 中島 務 -----	1
---	---

II. 分担研究報告書

1. 超多チャンネルコイルによる内リンパ画像の高精度化 長縄 慎二 -----	4
2. 内外リンパ腔画像からみた内耳疾患の病態と局所療法 曾根 三千彦 -----	5
3. 動物モデルを用いたG d 鼓室内投与後の蝸牛血管条の超微形態変化の検討 寺西 正明 -----	7
4. 前庭型メニエール病における内リンパ腔の画像評価 杉浦 真 -----	9

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	12
---------------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----	16
-----------------------	----

メニエール病患者におけるガドリニウム造影剤静脈投与による 内外リンパ腔の描出

研究代表者：中島 務 (名古屋大学耳鼻咽喉科)

研究要旨

メニエール病患者において静脈注射 4 時間後の 3 テスラ MRI 撮影を行い、内耳構造の判別や内リンパ水腫の判定が可能かに関して研究を行った。その結果、ガドリニウム造影剤を倍量使うと両耳の内リンパ水腫が描出されることが判明した。しかし、内耳の造影程度は 16 倍に薄めたガドリニウム造影剤を鼓室に入れた時とほぼ同じで、8 倍に薄めたガドリニウム造影剤を鼓室に入れた時の造影度に比べ弱かった。メニエール病では無症状の耳においても、画像上所見を認めた。また、患耳の造影効果が高く、血管透過性の亢進が示唆された。

A. 研究目的

我々は、突発性難聴に対する静脈注射 4 時間後の 3 テスラ MRI 撮影に関する研究を報告した。突発性難聴においては外リンパへの造影剤の移行が増強しており、血液迷路閉門の障害が示唆された。

今回、メニエール病患者において同様の MRI 撮影を行い、内耳構造の判別や内リンパ水腫の判定が可能かに関して研究を行った。

B. 研究方法

対象：名大病院耳鼻科を受診しメニエール病と診断した 15 例。1 例は対側に聴神経腫瘍を認めた。1 例は対側に突発性難聴の既往がある。

方法：ガドテリドール（プロハンス、エーザイ）静注後 4 時間で 3 テスラ MRI を撮影した。造影剤は通常量の倍量（脳

腫瘍において適応がある）0.4ml/kg を投与した。

内リンパ水腫の評価：造影剤投与にて外リンパに造影剤が移行する。蝸牛の内リンパは通常確認できないが、内リンパ水腫を認めると、内リンパ腔が外リンパと対比され確認できる。

蝸牛内リンパ水腫の分類：水腫なし：ライスネル膜が前庭階方向に拡張していないもの、軽度水腫：ライスネル膜の前庭階方向への拡張はあるものの内リンパ腔が前庭階の外リンパ腔の大きさ以下のもの、水腫著明：ライスネル膜の前庭階方向への拡張があり、内リンパ腔が前庭階の外リンパ腔より大きいものと分類した。

前庭内リンパ水腫の分類：画像のトレーシングにより測定した。水腫なし：前庭の内リンパと外リンパの合計の面積に対する内リンパの面積比が 3 分の 1 以下

のもの、軽度水腫：3分の1より大きく、半分以下のもの、水腫著明：半分より大きいものと分類した。

当研究に当っては、名古屋大学医学部倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果および考察

患者背景：

年齢：平均 52.4±14.4 歳

性別：男性 8 名、女性 7 名

患側（症状および聴力変動）：右 7 名、左 4 名、両側 4 名

平均聴力（3 分法）：患側（19 耳）43.3±21.0dB。対側（9 耳）17.0±14.1dB

めまい：回転性 12 名、非回転性 3 名

AAO-HNS(1995) 分類：Definite 9 名、Probable 3 名、Possible 3 名

図 1、図 2 に実際の画像を提示する。

水腫に関する検討：全例の患側に内リンパ水腫を認め、両側の 4 例では両側ともに内リンパ水腫を認めた（図 3）。

17 耳は著明、2 耳は軽度となった。片側の 11 例のうち 8 例に、無症状に関わらず対側に所見を認め、1 例は著明、他の 7 例は軽度であった。

造影効果：小脳と蝸牛の基底回転での信号強度を比較した SIR（Signal intensity ratio）値を患耳 19 耳と健耳 9 耳で比較した。患耳で 1.06±0.34、健耳で 0.85±0.15 となり、 $p=0.018$ と有意差を認めた。このことから、メニエール病では患耳の造影効果が増強していることが分かった。

Gd 静注は、鼓室内注射を要さない、対側耳の評価が可能である、鼓室内投与時に Gd の内耳への移行の悪い症例に対して

も内リンパ腔の画像評価が可能という長所がある。3D-real IR 画像は内リンパ腔と周囲の骨が区別できるため、3D-FLAIR と比べるとより内リンパ腔の描出が一般に良好となる。しかし、外リンパの Gd 濃度が低い場合は、3D-real IR は 3D-FLAIR と比べると描出が難しくなる。したがって、Gd 静注後の MRI による内リンパ腔の描出には、両撮影法を組み合わせた評価が必要となる。メニエール病では無症状の耳においても、画像上所見を認めることがある。また、患耳の造影効果が高く、血管透過性の亢進が示唆された。

今後の展望として、ガドリニウム通常量静脈内投与での内リンパ水腫の視覚化を検討している。画像システムの改良により Heavily-T2-weighted 3D-FLAIR という画像で、前庭での内リンパの描出が次第に可能になってきている。

D. 結論

通常量の倍量の Gd を静脈注射を行い、4 時間後に 3T の MRI で 3D-FLAIR および 3D-real IR を撮影することにより、内リンパ水腫の画像化が可能になった。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

Endolymphatic hydrops revealed by intravenous gadolinium injection in patients with Meniere's disease.

Nakashima T, Naganawa S, Teranishi M, Tagaya M, Nakata S, Sone M, Otake H, Kato

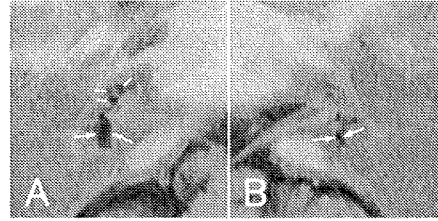
K, Iwata T, Nishio N.

Acta Otolaryngol. 2009 Aug 14:1-6. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

寺西正明、多賀谷満彦、大竹宏直、岩田知之、中田誠一、曾根三千彦、中島務：メニエール病におけるガドリニウム静注後のMRIによる内リンパ腔の画像化、第19回日本耳科学会総会・学術講演会 平成21年10月9日

3D-real IR A 右 B 左



Real-IR では水腫と外側壁が区別され、水腫の形を捉えやすい。右蝸牛および前庭に著明な水腫を認め、左前庭にも軽度の水腫を認めた。

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

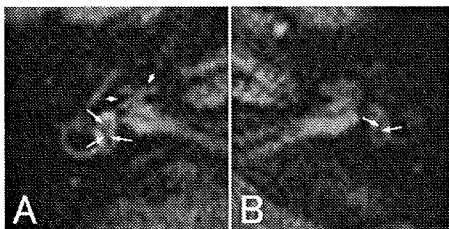


図1 症例2 右メニエール病 (41歳、男性)

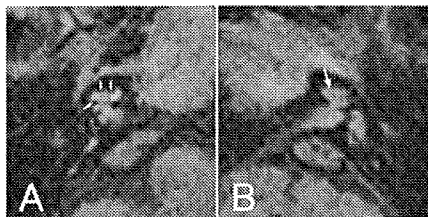
3D-FLAIR A 右 B 左

水腫所見はくさび型のくぼみのように見える。

3D-FLAIR はガドリニウムの移行が少ない症例でもコントラストが得られる長所がある。右蝸牛および前庭に著明な水腫を認めた。対側には水腫を認めない。

図2 症例3 右メニエール病 (67歳、女性)

3D-FLAIR A 右 B 左



3D-FLAIR では水腫と外側壁がともに黒くみえる。

表1 メニエール病患者の内リンパ画像所見

番号	患側	画像診断	番号	患側	画像診断
1	左	著明 (左蝸牛・前庭)	9	両	著明 (右前庭)、 軽度 (左蝸牛・前庭)
2	右	著明 (右蝸牛・前庭)	10	右	著明 (右蝸牛・前庭) 軽度 (左前庭)
3	右	著明 (右蝸牛・前庭)、 軽度 (左前庭)	11	左	著明 (右蝸牛・前庭) 軽度 (左前庭)
4	右	著明 (右蝸牛・前庭)	12	両	著明 (両蝸牛・前庭)
5	左	著明 (左蝸牛・前庭)、 軽度 (右前庭)	13	両	著明 (右蝸牛・前庭) 軽度 (左前庭)
6	左	著明 (左蝸牛・前庭)、 軽度 (右蝸牛・前庭)	14	右	著明 (右蝸牛・前庭) 軽度 (左前庭)
7	左	著明 (左蝸牛・前庭)、 軽度 (右蝸牛・前庭)	15	右	著明 (右前庭)、 軽度 (左前庭)
8	両	著明 (両前庭)			

超多チャンネルコイルによる内リンパ画像の高精度化

分担研究者：長縄 慎二（名古屋大学放射線科）

研究要旨

32channel コイルを用いて内外リンパ腔画像の立体表示と高精度化をはかった。世界ではじめて内外リンパ腔を分離立体表示した。また薄い濃度でも内外リンパ腔の分離ができるようなパルスシーケンスソフトの開発を行った。

A. 研究目的

MRIにより迷路内外リンパ分離描出が可能となってきたが、内リンパ各部位の拡張程度の違いや管の閉塞などの詳細、内リンパ、外リンパ体積の定量のためにはより高精細な画像化が必要である。32チャンネルコイルを導入するとともに、より時間効率、コントラスト、空間分解能を向上させたパルスシーケンスソフトの開発を行なう。

B. 研究結果

32チャンネルコイルと3D-real IR法を用いることによって3次的に内外リンパ腔を分離描出可能となった。0.4mm x 0.4mm x 0.8mmという従来では考えられない高分解能画像を高コントラストで取得できた。それによりメニエール病による内リンパ水腫が立体的に観察可能となった。また定量の可能性も出てきた。さらに静注4時間後でも内外リンパの分離が可能になりつつある。

C. 考察

メニエール病による内リンパ水腫を画像で描出する精度が向上することによって、従来の検査法による診断との対比や治療後の変化を画像でみることによりメニエール病の病態理解が進んでくる。病態を理解できれば効果的な治療法の開発に結びつく。

D. 結論

コイルやパルスシーケンスソフトの開発により内外リンパ腔画像の高精度化が実現した。さらなるソフト、ハードの開発をめざして、内リンパの詳細解剖を明らかにしたい。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1: Naganawa S, Ishihara S, Iwano S, Sone M, Nakashima T. Three-dimensional (3D) visualization of endolymphatic hydrops after intratympanic injection of Gd-DTPA: optimization of a 3D-real inversion-recovery turbo spin-echo (TSE) sequence and application of a 32-channel head coil at 3T. *J Magn Reson Imaging*. 2010 Jan;31(1):210-4.
- 2: Katayama N, Yamamoto M, Teranishi M, Naganawa S, Nakata S, Sone M, Nakashima T. Relationship between endolymphatic hydrops and vestibular-evoked myogenic potential. *Acta Otolaryngol*. 2010 Jan 28. [Epub ahead of print]
- 3: 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*. 2009 Dec 4. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

- 第37回日本磁気共鳴医学会大会
(2009.10.1-3)
長縄慎二 川井恒 中島務 静注Gdによるメニエール病による内リンパ水腫の描出

内外リンパ腔画像からみた内耳疾患の病態と局所療法

分担研究者：曾根 三千彦（名古屋大学耳鼻咽喉科）

研究要旨

同一のメニエール病患者において、Gd 鼓室内投与後に MRI で確認された内リンパ水腫の程度と聴力閾値に相関を認めた。得られる画像は、内リンパ水腫の程度を的確に反映した所見と判断された。

A. 研究目的

Gd 鼓室内投与による内リンパ水腫の同定が可能になってきているが、水腫の程度と臨床症状の出現には個体差が存在する。同一の内リンパ水腫患者において臨床症状、特に聴力変動と内リンパ水腫の程度に相関関係が認められれば、観察される画像は疾患の病態を反映した所見と評価できる。

B. 研究結果

めまい発作と聴力変動を呈する同一のメニエール病患者に Gd 鼓室内投与 24 時間後の MRI 撮影を行った。低音域の聴力悪化に伴い蝸牛上方回転の内リンパ水腫の増悪が認められた。めまい発作消失後に聴力が改善した状態では、蝸牛内リンパ水腫は全体的に改善傾向を示した。

C. 考察

ヒト側頭骨で得られるような内リンパ水腫の所見を経時的に観察できうる検査法は、メニエール病の病態の本質に迫る手段として評価できる。得られる画像所見は、各種治療法の効果判定のエビデンスの確率にも有効と考えられる。

D. 結論

Gd 鼓室内投与にて MR で得られる内リンパ水腫は、疾患の病態を的確に反映した所見であると評価できた。

E. 研究発表

1. 論文発表

Changes in endolymphatic hydrops in a patient with Meniere's disease observed using magnetic resonance imaging
Sone M, Naganawa S, Teranishi M, Nakata S, Katayama N, Nakashima T
Auris Nasus Larynx. 2010 37:220-222.

(図の説明)

Figure 2 の A, B, C は Figure 1 のオーディオグラム A, B, C における内リンパ腔画像

C は A, B に比べて内リンパ水腫が軽減している

D は突発性難聴患者の内リンパ腔画像で水腫がない所見

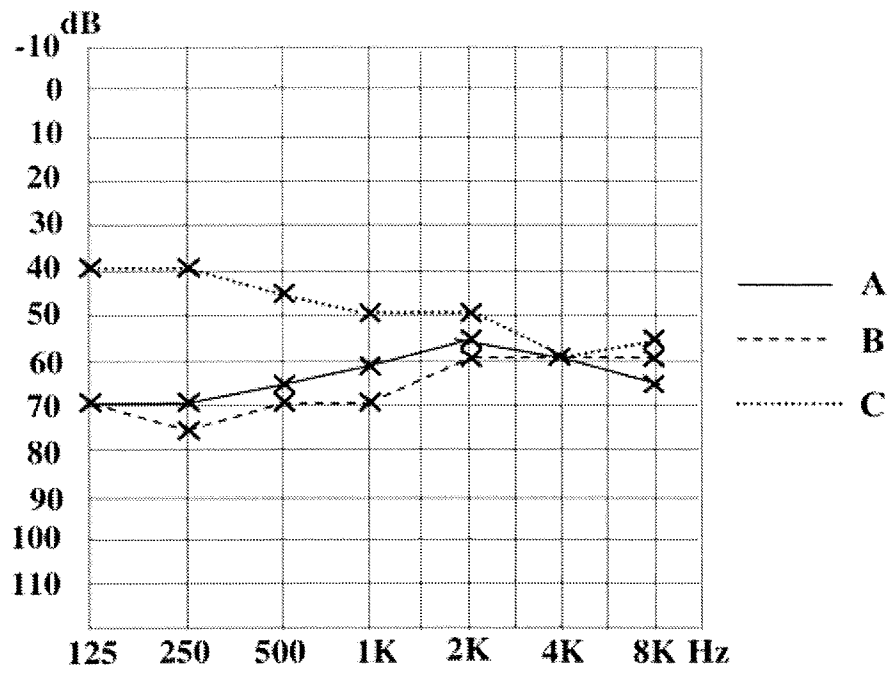


Figure 1

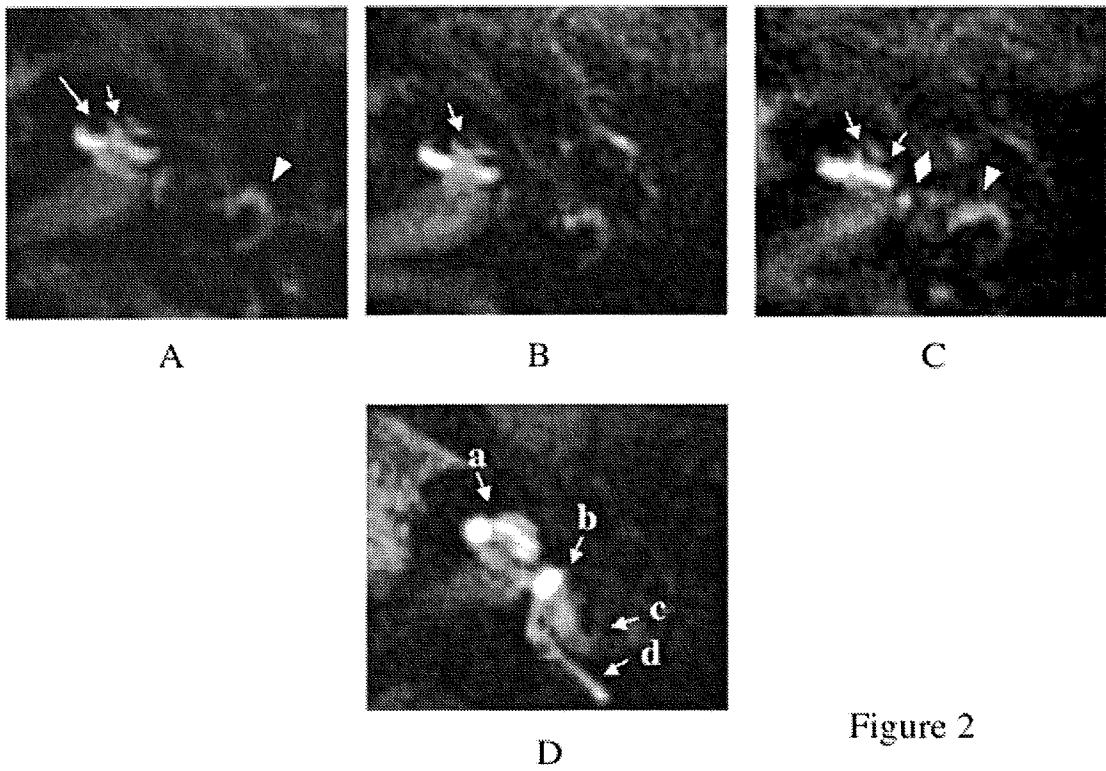


Figure 2

動物モデルを用いた Gd 鼓室内投与後の蝸牛血管条の超微形態変化の検討

分担研究者：寺西 正明（名古屋大学耳鼻咽喉科）

研究要旨

モルモットの中耳骨胞を耳後部より開放し、正円窓に生理食塩水および Gd 造影剤 (Gd-DTPA, Gd-DTPA-BMA) 原液を局所投与したのち、1 時間後に蝸牛を摘出、固定し、標本作製後、電子顕微鏡下で蝸牛外側壁を観察したところ、いずれの群においても血管条の形態変化は認められなかった。

A. 研究目的

これまでの研究で、鼓室内に Gd を注入し、3T の内耳 MRI (3D-FLAIR および 3D-real IR) を撮影することにより、メニエール病の症例において、蝸牛、前庭の内リンパ腔の拡大を描出することができることを報告した (Laryngoscope 2007, 117:415-420, Eur Radiol 2008, 18:920-924)。鼓室への Gd の注入による内耳への毒性に関して、柿木らは、Gd-DTPA-BMA 原液をモルモットの中耳骨胞に投与 1 時間後では、endocochlear DC potential の低下と電子顕微鏡下、血管条の intrastrial space の拡大を認めたが臨床で通常用いている 8 倍希釈の Gd-DTPA-BMA 中耳内投与では上記の変化は認めなかったと報告している (Acta Otolaryngol, 2008; 128:841-845)。今回、モルモットの中耳骨胞を開放後、正円窓に Gd-DTPA, Gd-DTPA-BMA 原液を投与した時の血管条の電子顕微鏡下での形態変化について検討を行った。

B. 研究方法

動物：ハートレー系白色モルモット (250g、メス) 6 匹 (生理食塩水群、Gd-DTPA 群, Gd-DTPA-BMA 群それぞれ 2 匹ずつ) を用いた。
方法：pentobarbital sodium 40mg/kg の筋注による麻酔後、耳後部を切開し、中耳骨胞を開放後、顕微鏡下に蝸牛正円窓上に 0.1ml の生理食塩水、Gd-DTPA 原液、Gd-DTPA-BMA 原液を 27G シリンジを用い置いた。1 時間後に蝸牛を固定液 (1.0%paraformaldehyde, 1.5%glutaraldehyde) で局所還流したのち、側頭骨から蝸牛を摘出し、基底回転の外側壁を摘出し浸漬固定をした。さらに 1.0%OsO4 で固定ののち、エタノール系列で脱水、Spurr 樹脂包埋し、超薄切片を作成、電子染色 (uranyl acetate, lead citrate) を行い、電子顕微鏡 ((株)日本電子 JEM-100S 型電子顕微鏡 80KV) で観察した。

C. 研究結果および考察

生理食塩水投与群 (図 1 - A)、

Gd-DTPA-BMA 原液投与群 (図1-B)、Gd-DTPA 原液投与群 (図1-C) のいずれにおいても、血管条の形態に差は認められなかった。柿木らの報告では、中耳骨胞に 1.0ml の Gd-DTPA-BMA を注入する方法をとっており、骨胞全体が薬液に浸されることになる。最近 Mikulec らの報告 (Otol Neurotol 2009; 30:131-138) によると、モルモットでは、正円窓膜経由のみならず bony otic capsule 経由でも中耳に投与された薬物の内耳への移行が認められるため、骨胞全体が薬液に浸された場合、より多くの Gd が内耳に移行し血管条の障害を生じた可能性が考えられた。

D. 結論

動物モデルにおいて正円窓上に局所投与された Gd 造影剤により、血管条の超微形態変化は認められなかった。

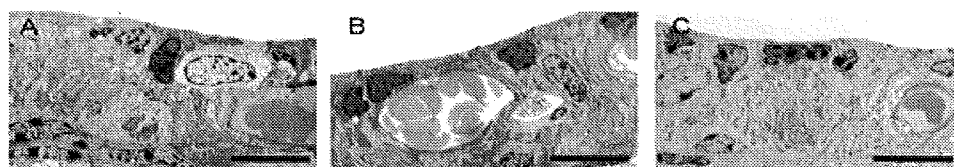
E. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図1 生理食塩水および Gd 局所投与後の血管条の電子顕微鏡所見



A: 生理食塩水投与 B: Gd-DTPA-BMA 原液投与 C: Gd-DTPA 原液投与
Scale bar = 10 μ m

三群間で血管条の形態学的な差は認められない。

前庭型メニエール病における内リンパ腔の画像評価

分担研究者：杉浦 真（刈谷豊田総合病院耳鼻咽喉科）

研究要旨

聴力低下を伴わない回転性めまいを繰り返す4患者（前庭型メニエール病）のうち、2患者にGd鼓室内投与後にMRIで内リンパ水腫を確認した。得られる画像は、内リンパ水腫の程度を的確に反映した所見と判断された。

A. 研究目的

Gd鼓室内投与による内リンパ水腫の同定が可能になってきているが、原因不明の回転性めまい患者において内リンパ水腫の描出ができればめまいの病態を知ることができ治療にも有効となる。聴力低下を伴わない回転性めまい患者において内リンパ水腫が認められれば、観察される画像は疾患の病態を反映した所見と評価できる。

B. 対象

American Academy of Otolaryngology Head & Neck Surgery (AAO-HNS)の1995年のメニエール病診断基準でメマイ発作を繰り返すが、難聴のない4症例。AAO-HNSの1995年診断基準ではpossible Meniere's diseaseに該当する。

C. 研究結果

聴力低下を伴わない回転性めまいを繰り返す患者にGd鼓室内投与24時間後のMRI撮影を行った。4患者中2患者で前庭に内リンパ水腫を描出できた。そのうち1患者では聴力低下や耳鳴など蝸牛症状を認めなかったのに蝸牛に内リンパ水腫を認めた（図1～7）。

D. 考察

ヒト側頭骨で得られるような内リンパ水腫の所見を画像的に観察できうる検査法は、メニエール病の病態の本質に迫る手段として評価できる。得られる画像所見は、各種治療法の効

果判定のエビデンスの確立にも有効と考えられる。

E. 結論

Gd鼓室内投与にてMRで得られる内リンパ水腫は、疾患の病態を的確に反映した所見であると評価できた。

G. 研究発表

1. 論文発表：

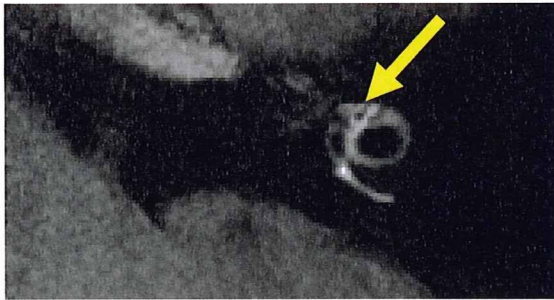
Clinical significance of endolymphatic imaging after intratympanic gadolinium injection.
Nakashima T, Naganawa S, Katayama N, Teranishi M, Nakata S, Sugiura M, Sone M, Kasai S, Yoshioka M, Yamamoto M.
Acta Otolaryngol Suppl. 2009 Feb;(560):9-14.

2. 学会発表

Visualization of endolymphatic hydrops in "Vestibular" Meniere's disease
2008 Nagoya symposium on Endolymphatic and Perilymphatic Imaging for Management of Inner Ear Diseases Sugiura M, Nakashima T
聴力変動を伴わない反復する回転性めまい症例 第14回東海メニエール病研究会学会発表

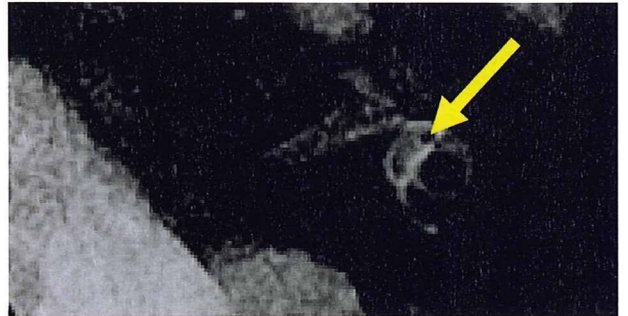
MRIを用いた内耳画像診断 栃木画像診断研究会特別セミナー 講演

☒1 Case 1 44 y.o. woman
 Vertigo: 1 - 3 hrs.
 EcochG: SP / AP ratio is 42% (Right),
 39% (Left),
 VEMP: normal



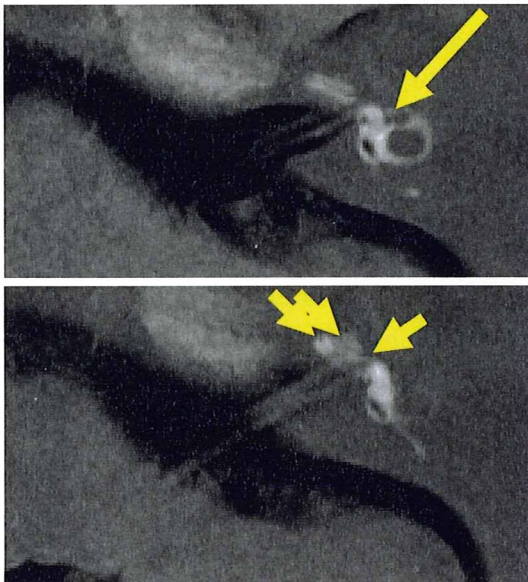
After intratympanic Gd injection (18hrs), 3D-FLAIR showed no hydrops in her bilateral cochleas and vestibules.

☒3 Case 2 38 y.o. man
 Vertigo: about 1 hr.
 EcochG: SP / AP ratio is 24 % (Left),
 VEMP: normal



After intratympanic Gd injection (24hrs), 3D-FLAIR showed no hydrops in his bilateral cochleas and vestibules.

☒2 Case 1 3D-Real IR



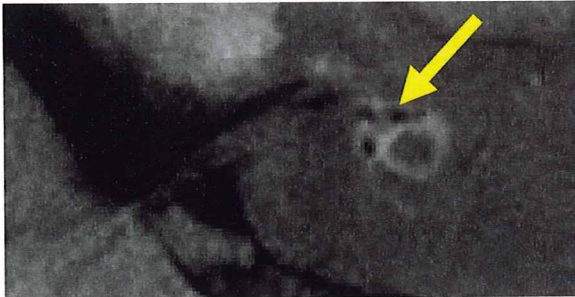
After intratympanic Gd injection (18hrs), 3D-real IR showed no hydrops in her bilateral cochleas and vestibules.

☒4 Case 3 26 y.o. woman
 Vertigo: 5 min to 3 hrs.
 EcochG: SP / AP ratio is 34% (Left),
 VEMP: normal



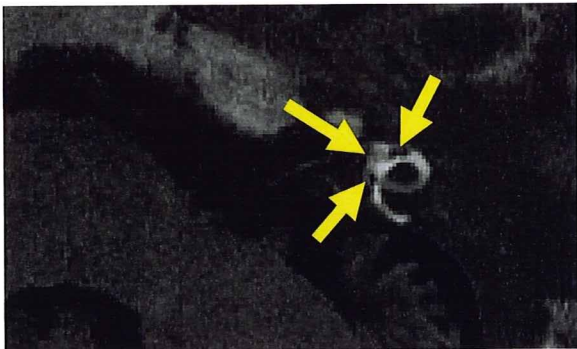
After intratympanic Gd injection (24 hrs), 3D-FLAIR showed hydrops in her left vestibule.

☒5 Case 3 3D-Real IR



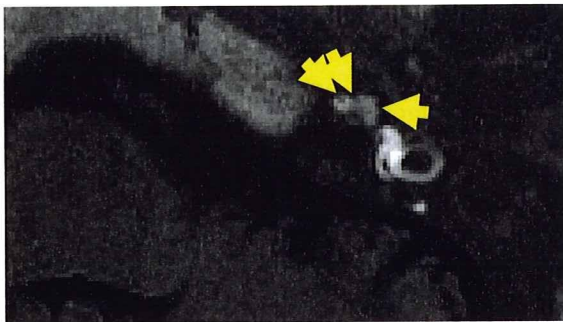
After intratympanic Gd injection (24 hrs), 3D-real IR showed hydrops in her left vestibule.

☒6 Case 4 59 y.o. man
Vertigo: 1-2 hrs. EcochG: poor response
VEMP: poor response



After intratympanic Gd injection (24 hrs), 3D-FLAIR showed hydrops in his right vestibule, and left cochlea and vestibule.

☒7 Case 4



After intratympanic Gd injection (24 hrs), 3D-FLAIR showed hydrops in his right vestibule, and left cochlea and vestibule.

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
中島 務	蝸牛の新しい画像診断	小川 郁	よくわかる聴覚障害－難聴と耳鳴のすべて	永井書店	東京	2010	

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sone M, Naganawa S, Teranishi M, Nakata S, Katayama N, Nakashima T.	Changes in endolymphatic hydrops in a patient with Meniere's disease observed using magnetic resonance imaging.	Auris Nasus Larynx	37(2)	220-2	2010
Uchida Y, Sugiura S, Ando F, Shimokata H, Nakashima T.	The Ala54Thr polymorphism in the fatty acid-binding protein 2 (FABP2) gene is associated with hearing impairment: A preliminary report.	Laryngoscope [Epub ahead of print]			2010
Katayama N, Yamamoto M, Teranishi M, Naganawa S, Nakata S, Sone M, Nakashima T.	Relationship between endolymphatic hydrops and vestibular-evoked myogenic potential.	Acta Otolaryngol. [Epub ahead of print]			2010 [Jan 28]
Uchida Y, Sugiura S, Ando F, Shimokata H, Nakashima T.	Association of the C677T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene with sudden sensorineural hearing loss.	Laryngoscope [in press]			2010
Naganawa S, Ishihara S, Iwano S, Sone M, Nakashima T.	Three-dimensional (3D) visualization of endolymphatic hydrops after intratympanic injection of Gd-DTPA: optimization of a 3D-real inversion-recovery turbo spin-echo (TSE) sequence and application of a 32-channel head coil at 3T.	J Magn Reson Imaging	31(1)	210-4.	2010
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. [Epub ahead of print]			2009 [Dec 4.]
Nakashima T, Nananawa S, Sone M, Teranishi M, Kawauchi H.	ROUND WINDOW SURGERY.	Otol Neurotol. [Epub ahead of print]			2009 [Dec 30]

Naganawa S, Ishihara S, Iwano S, Sone M, Nakashima T.	Detection of presumed hemorrhage in the ampullar endolymph of the semicircular canal: a case report.	Magn Reson Med Sci.	8(4)	187-91	2009
Yamamoto M, Teranishi M, Naganawa S, Otake H, Sugiura M, Iwata T, Yoshida T, Katayama N, Nakata S, Sone M, Nakashima T.	Relationship between the Degree of Endolymphatic Hydrops and Electrocochleography.	Audiol Neurotol.	15(4)	254-260.	2009
Yamazaki M, Naganawa S, Kawai H, Nihashi T, Fukatsu H, Nakashima T.	Increased signal intensity of the cochlea on pre- and post-contrast enhanced 3D-FLAIR in patients with vestibular schwannoma.	Neuroradiology	51(12)	855-63	2009
Nakashima T, Teranishi M, Yoshida T.	In reference to Randomized, double blind, placebo controlled trial on the safety and efficacy of continuous intratympanic dexamethasone delivered via a round window catheter for severe to profound sudden idiopathic sensorineural hearing loss after failure of systemic therapy (Laryngoscope 119:359-369, 2009).	Laryngoscope	119(12)	2480-2	2009
Yoshida T, Sone M, Mizuno T, Nakashima T.	Intratympanic membrane congenital cholesteatoma.	Int J Pediatr Otorhinolaryngol	3(7)	1003-5.	2009
Uchida Y, Sugiura S, Nakashima T, Ando F, Shimokata H.	Endothelin-1 gene polymorphism and hearing impairment in elderly Japanese.	Laryngoscope	119(5)	938-43	2009
Naganawa S, Sone M, Otake H, Nakashima T.	Endolymphatic hydrops of the labyrinth visualized on noncontrast MR imaging: a case report.	Magn Reson Med Sci.	8(1)	43-6	2009
Nakata S, Mizuno T, Naganawa S, Sugiura M, Yoshida T, Teranishi M, Sone M, Nakashima T.	3D-FLAIR MRI in facial nerve paralysis with and without audio-vestibular disorder.	Acta Otolaryngol [Epub ahead of print]			2009 [Nov 17]

Kasai S, Teranishi M, Katayama N, Sugiura M, Nakata S, Sone M, Naganawa S, Nakashima T.	Endolymphatic space imaging in patients with delayed endolymphatic hydrops.	Acta Otolaryngol	129	1169-74	2009
Nakashima T, Naganawa S, Teranishi M, Tagaya M, Nakata S, Sone M, Otake H, Kato K, Iwata T, Nishio N.	Endolymphatic hydrops revealed by intravenous gadolinium injection in patients with Meniere's disease.	Acta Otolaryngol [Epub ahead of print]			2009 [Aug 14]
Teranishi M, Naganawa S, Katayama N, Sugiura M, Nakata S, Sone M, Nakashima T.	Image evaluation of endolymphatic space in fluctuating hearing loss without vertigo.	Eur Arch Otorhinolaryngol	266	1871-7	2009
Yoshioka M, Naganawa S, Sone M, Nakata S, Teranishi M, Nakashima T.	Individual differences in the permeability of the round window: evaluating the movement of intratympanic gadolinium into the inner ear.	Otol Neurotol	30	645-8	2009
Teranishi M, Yoshida T, Katayama N, Hayashi H, Otake H, Nakata S, Sone M, Schachern PA, Paparella MM, Nakashima T.	3D computerized model of endolymphatic hydrops from specimens of temporal bone.	Acta Otolaryngol Suppl	560	43-7	2009
Naganawa S, Nakashima T.	Cutting edge of inner ear MRI.	Acta Otolaryngol Suppl	560	15-21	2009
Nakashima T, Naganawa S, Katayama N, Teranishi M, Nakata S, Sugiura M, Sone M, Kasai S, Yoshioka M, Yamamoto M.	Clinical significance of endolymphatic imaging after intratympanic gadolinium injection.	Acta Otolaryngol Suppl	560	9-14	2009
Nakashima T, Naganawa S, Pyykko I, Gibson WP, Sone M, Nakata S, Teranishi M.	Grading of endolymphatic hydrops using magnetic resonance imaging.	Acta Otolaryngol Suppl	560	5-8	2009

Sone M, Mizuno T, Naganawa S, Nakashima T.	Imaging analysis in cases with inflammation-induced sensorineural hearing loss.	Acta Otolaryngol	129	239-43	2009
Otake H, Yamamoto H, Teranishi M, Sone M, Nakashima T.	Cochlear blood flow during occlusion and reperfusion of the anterior inferior cerebellar artery--effect of topical application of dexamethasone to the round window.	Acta Otolaryngol	129	127-31	2009
Mizuno T, Sugiura S, Kimura H, Ando Y, Sone M, Nishiyama Y, Nakashima T.	Detection of cytomegalovirus DNA in preserved umbilical cords from patients with sensorineural hearing loss.	Eur Arch Otorhinolaryngol	266	351-5	2009
Sugiura S, Uchida Y, Nakashima T, Yoshioka M, Ando F, Shimokata H.	Tinnitus and brain MRI findings in Japanese elderly.	Acta Otolaryngol	128	525-9	2008
Uchida Y, Ando F, Shimokata H, Sugiura S, Ueda H, Nakashima T.	The effects of aging on distortion-product otoacoustic emissions in adults with normal hearing.	Ear Hear	29	176-84	2008
Ishida IM, Sugiura M, Teranishi M, Katayama N, Nakashima T.	Otoacoustic emissions, ear fullness and tinnitus in the recovery course of sudden deafness.	Auris Nasus Larynx	35	41-6	2008
中島 務	突発性難聴の画像所見と病態	Audiology Japan	52	179-87	2009
杉浦彩子、 内田育恵、 中島 務	高齢者診療の臨床背景	日耳鼻会報	112(7)	534-9	2009
中島 務	突発性難聴の原因	学会会報	870	104-9	2008



ELSEVIER

Auris Nasus Larynx xxx (2009) xxx-xxx

AURIS NASUS
LARYNX
INTERNATIONAL JOURNAL
OF ORL & HNS

www.elsevier.com/locate/anl

The Ala54Thr polymorphism in the fatty acid-binding protein 2 (FABP2) gene is associated with hearing impairment: A preliminary report

Yasue Uchida^{a,*}, Saiko Sugiura^a, Tsutomu Nakashima^b, Fujiko Ando^{c,d}, Hiroshi Shimokata^d

^a Department of Otorhinolaryngology, National Center for Geriatrics and Gerontology, 36-3 Gengo, Morioka, Obu City, Aichi Prefecture 474-8511, Japan

^b Department of Otorhinolaryngology Cognitive and Speech Medicine, Nagoya University School of Medicine, 65 Tsuruma-Cho, Showa Ward, Nagoya City, Aichi Prefecture 466-8550, Japan

^c Faculty of Medical Welfare, Aichi Shukutoku University, 23 Sakuragaoka, Chikusa Ward, Nagoya City, Aichi Prefecture 464-8671, Japan

^d Department of Epidemiology, National Center for Geriatrics and Gerontology, 36-3 Gengo, Morioka, Obu City, Aichi Prefecture 474-8511, Japan

Received 27 July 2009; accepted 5 January 2010

Abstract

Objective: The fatty acid-binding protein 2 (FABP2) is involved in the transport and metabolism of fatty acids. The FABP2 gene has been proposed as a candidate gene for diabetes and obesity. This study evaluates the hearing impairment risk in the Ala54Thr polymorphism of FABP2 in middle-aged and elderly Japanese.

Methods: Our sample population comprised 1428 community-dwelling Japanese aged 40–86 years (mean \pm standard deviation [SD]: 63.1 \pm 9.8) who participated in the Study of Aging between 2004 and 2006. An average hearing threshold level greater than 25 dB in the better ear for frequencies 500, 1000, 2000 and 4000 Hz was defined as hearing impairment. Data were analyzed by means of a multiple logistic regression with adjustment for potential confounders.

Results: The per-allele odds ratio for hearing impairment risk was 1.262 (95% confidence interval [CI]: 1.012–1.574) in model 1, adjusting for age, sex, history of ear disease, and history of occupational noise exposure; and 1.259 (CI: 1.009–1.571) in model 2, which adjusted for diabetes, body mass index and the histories of heart disease and hypertension, as well as the moderators in model 1. A significant adverse effect of the Thr54 variant on hearing was observed and the effect was independent of both diabetes and obesity in the present analyses.

Conclusions: This study demonstrated that the Ala54Thr polymorphism of FABP2 was associated with a risk of hearing impairment in middle-aged and elderly people. The results might support caloric restriction theory indirectly, but additional researches are desired.

© 2010 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

Keywords: FABP2 gene; Polymorphism; Age-related hearing loss; Population-based study

1. Introduction

With the expected rapid increase in the number of elderly in Japan, hearing difficulty has become a common social and health problem. Numerous studies indicate that age-related hearing loss, known as presbycusis, is likely polygenic and multifactorial; however, little is known about common sequence variants that may have some phenotypic effect on age-related hearing loss.

Fatty acid-binding protein 2 (FABP2) belongs to the family of cytoplasmic proteins involved in the intracellular transport and metabolism of long-chain fatty acids. The

expression of FABP2 gene is limited to the small intestine [1]. A G-to-A nucleotide polymorphism in codon 54 results in the substitution of threonine (Thr) for alanine (Ala). In vitro experiments have shown that this substitution increases the affinity of FABP2 for long-chain fatty acids, and is associated with increased triglyceride transport in human intestinal cells [2].

Because its product is involved in fatty acid absorption and may affect insulin sensitivity and glucose metabolism, the FABP2 gene has been proposed as a candidate gene for diabetes and obesity. In the meantime, researches have obtained preceding evidence that diabetic subjects [3] and adults with high body mass index (BMI) are at increased risk for hearing loss [4]. In this study, we examined the association between the Ala54Thr polymorphism of FABP2

* Corresponding author. Tel.: +81 562 46 2311; fax: +81 562 44 8518.
E-mail address: yasueu@nccgg.go.jp (Y. Uchida).

and hearing impairment in a population of middle-aged and elderly Japanese. No previous trials have studied the effect of the FABP2 gene polymorphism on hearing.

2. Materials and methods

Data were collected from Japanese men and women who participated in the fourth-wave examination of the National Institute for Longevity Sciences-Longitudinal Study of Aging (NILS-LSA), an ongoing population-based study conducted in the National Center for Geriatrics and Gerontology, with a 2-year follow-up. The details of the NILS-LSA have been described elsewhere [5,6].

Briefly, the participants of NILS-LSA were residents, who were randomly selected from a register stratified by both age and gender, in cooperation with the local government. The study consisted of various gerontological and geriatric measurements such as medical examinations, blood chemical analysis, physical function, nutritional analysis, psychological tests, and assays of visual and auditory function. The study protocol was approved by the Committee of Ethics of Human Research of the National Center for Geriatrics and Gerontology. Written informed consents were obtained from all subjects. A blood sample was drawn from each subject after an overnight fast. With respect to DNA analysis, a number of candidate genes for geriatric diseases such as Alzheimer's disease, arteriosclerosis, osteoporosis, benign prostate hypertrophy, diabetes mellitus and other lifestyle-related diseases were examined with the agreement of the participants. Venous blood samples for genetic analysis were collected only in the first wave of examinations implemented between 1997 and 2000; sera and DNA samples were stored in deep freezers for later examination. In the present study, data obtained in the fourth-wave examination (2004–2006) from participants who took part in both the first and fourth waves were analyzed cross-sectionally. Participants without any missing values were 1428 adults, aged 40–86 years (mean \pm SD: 63.1 \pm 9.8) at the fourth-wave examination visit.

Histories of ear disease, occupational noise exposure, heart disease and hypertension were obtained in the self-reported account. Each of these was treated as a binary variable (presence = 1, absence = 0). Definition of diabetes was based on medical history obtained by questionnaires. We also classified as "diabetic" any subject with a fasting plasma glucose concentration greater than 126 mg/dl and an HbA1c of more than 6.5%, as well as any subject taking medication to lower blood glucose levels. BMI was calculated as weight (in kg) divided by height (in m) squared.

DNA samples were isolated from peripheral blood cells. Genotypes were determined using an allele-specific primer/polymerase chain reaction (PCR) assay system (Toyobo Gene Analysis, Tsuruga, Japan). Genotypes were also determined in control blood known to be from subjects

homozygous for the wild-type genotype and heterozygous and homozygous for each variant genotype.

Air-conduction pure-tone thresholds at octave intervals from 125 to 8000 Hz were obtained using a diagnostic audiometer (AA-73A and AA-78; Rion, Tokyo, Japan). The presence of hearing impairment was defined as a pure-tone average of hearing thresholds (AHT) at 500, 1000, 2000, and 4000 Hz greater than 25 dB HL (hearing level) in the better ear, according to the World Health Organization grades. This definition means bilateral hearing impairment.

Statistical analyses were conducted using Statistical Analysis System (SAS) version 9.13 (SAS Institute, Cary, NC, USA). Genotypes were coded as follows: wild-type homozygotes, GG; heterozygotes, GA; and mutant homozygotes, AA. Because no preceding information regarding the mode of inheritance of the Ala54Thr FABP2 polymorphism on hearing impairment can be found, we considered different modes of inheritance as follows: the additive per-allele model, the A allele was compared between cases and controls by assigning scores of 0, 1, and 2 to homozygotes for the G allele, heterozygotes, and homozygotes for the A allele, respectively; the dominant model compared genotypes GG versus GA and AA; and the recessive model compared genotype GG and GA versus AA. A multiple logistic regression was carried out to obtain odds ratios (ORs) for hearing impairment in subjects with the Ala54Thr FABP2 polymorphism; in this analysis, we used two adjusted models, adjusting for different combinations of confounding variables. In model 1, age, sex, history of ear disease, and history of occupational noise exposure were taken as moderator variables. History of heart disease, history of hypertension, diabetes, and BMI were added as moderators in model 2 to those in model 1.

The results were presented as means \pm standard errors (SEs) and *p* values of less than 0.05 were considered statistically significant unless otherwise stated.

3. Results

According to univariate analysis, the characteristics of the participants (other than hearing impairment) were not significantly different among FABP2 Ala54Thr (G/A) genotypes (Table 1). Prevalence rate of heart disease, hypertension and diabetes were not significantly different among FABP2 genotypes (data not shown). The genotype frequencies were not significantly different from those expected based on the Hardy–Weinberg equilibrium (χ^2 test, *p* > 0.05).

The results from the analyses of multiple logistic regression are presented in Table 2. The per-allele odds ratio for hearing impairment risk was 1.262 (95% confidence interval [CI]: 1.012–1.574) in model 1, with fewer moderators; and 1.259 (CI: 1.009–1.571) in model 2, which adjusted for diabetes, BMI and the histories of heart disease and hypertension, as well as the moderators in model 1.

Table 1
Characteristics of participants according to FABP2 Ala54Thr (G/A) genotype.

Genotype	GG	GA	AA	<i>p</i>
<i>N</i>	584 (40.9%)	672 (47.1%)	172 (12.0%)	
Age	62.8 ± 0.4	63.4 ± 0.4	63.0 ± 0.7	NS
AHT (dB)	20.1 ± 0.5	20.2 ± 0.5	21.8 ± 1.0	NS
Serum triglyceride (mg/dl)	120.9 ± 3.0	115.6 ± 2.8	114.9 ± 5.6	NS
Sex (male %)	48.6	53.9	54.7	NS
Hearing impairment (%)	25.0	25.0	34.3	0.0336

AHT: average hearing threshold level for frequencies 500,1000,2000, and 4000 Hz for the better ear. Mean ± standard error. NS: not significant. Hearing impairment: AHT > 25 dB. *p*-Value tested by the analysis of variance or χ^2 test.

Under the recessive model of inheritance, the risk for hearing impairment increased significantly in mutant homozygotes. The significant association of the FABP2 Ala54Thr polymorphism with hearing impairment was independent of the presence of diabetes or obesity.

4. Discussion

In a population-based sample of middle-aged and elderly Japanese, the Thr54 variant of FABP2 gene had a significant adverse effect on hearing. The FABP2 is found exclusively in the epithelium of the small intestine, therefore, the etiological role of the gene polymorphism on hearing impairment is likely to be indirect. Since the effect on hearing may be due to various confounders associated with Thr54, possible risk-modifying factors, including diabetes and obesity, should be taken into account in analyses. After adjustment for confounders, a significant effect of the Thr54 variant on hearing was observed in the additive and recessive models and the effect was independent of both diabetes and obesity.

Several studies have shown the association between the Ala54Thr polymorphism with variations in fatty acid

absorption and insulin resistance. The Ala54Thr variant FABP2 results in increased fatty acid uptake from the intestinal lumen, since variant (Thr54-containing) FABP2 binds fatty acid with twofold greater affinity than wild-type Ala54-containing protein [7]. It has been reported that carriers of the Thr54 variant had lower peripheral insulin sensitivity and an increased concentration of free fatty acids after the intake of a diet rich in saturated fats [8]. Regarding an association between the Thr54 allele and dyslipidemia, the findings from previously reported studies have not always been consistent. The present study did not show an association between the Ala54Thr polymorphism and fasting triglyceride concentration. Postprandial lipemia in Thr54 carriers had been dependent on the type of fat ingested when diet–gene interactions of FABP2 Ala54Thr were tested using 3 different diets [9]. Gene–environment interactions or variation in the FABP2 promoter region may also have a role in accounting for some of the observed phenotypic differences in lipid metabolism between carriers of the Thr54 polymorphism across populations [10,11].

One speculative hypothesis about the influence of FABP2 gene polymorphism in the aged population is caloric restriction theory. Since McCay et al. first reported that

Table 2
Odds ratios of hearing impairment and comparison of hearing level among FABP2 genotypes.

Mode of inheritance			GG (A = 0)	GA (A = 1)	AA (A = 2)	<i>p</i>
Additive genetic model ^a	Number		584	672	172	
	Per-allele odds ratios	Model 1	1	1.262 (1.012–1.574)/A allele		0.0386
		Model 2	1	1.259 (1.009–1.571)/A allele		0.0410
Dominant genetic model	Number		584	844		
	Odds ratios	Model 1	1	1.085 (0.802–1.468)		NS
		Model 2	1	1.081 (0.799–1.463)		NS
Recessive genetic model	Number		1256	172		
	Odds ratios	Model 1	1	2.096 (1.366–3.216)		0.0007
		Model 2	1	2.097 (1.365–3.221)		0.0007

Moderator variable – Model 1: age, sex, history of ear disease, and history of occupational noise exposure. Model 2: history of heart disease, history of hypertension, diabetes, and BMI, in addition to those in model 1. Parenthetical reference shows 95% confidence interval. *Abbreviations*: BMI: body mass index. NS: not significant.

^a The additive genetic model assumes that there is a linear gradient in risk between the GG, GA and AA genotypes (GG genotype base). This is equivalent to a comparison of the A allele versus the G allele. The per-allele odds ratio for hearing impairment risk is shown under the additive genetic model.