

201122028A

厚生労働科学研究費補助金

(障害者対策総合研究事業 (感覚器障害分野))

内耳薬物投与システムを応用した感音難聴、耳鳴り治療 技術の臨床応用

平成23年度総括研究報告書

平成25年1月

研究代表者 中川隆之

(京都大学)

厚生労働科学研究費補助金

(障害者対策総合研究事業 (感覚器障害分野))

内耳薬物投与システムを応用した感音難聴、耳鳴り治療 技術の臨床応用

平成23年度総括研究報告書

平成25年1月

研究代表者 中川隆之

(京都大学)

目 次

I. 総括研究報告

内耳薬物投与システムを応用した感音難聴、耳鳴り治療技術の臨床応用・・・ 1
中川隆之

II. 研究成果の刊行に関する一覧表・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 19

III. 研究成果の刊行物・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 23

厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業（感覚器障害分野））

総括研究報告書

内耳薬物投与システムを応用した感音難聴、耳鳴り治療技術の臨床応用

研究代表者 中川隆之 京都大学

研究要旨

本研究課題は、感音難聴および耳鳴りに対する新規治療法の開発、臨床試験を行うことにより、聴覚障害の軽減、障害者数の抑制を実現することを目的とした新規治療法の開発に関わる基礎的研究、これらの基礎的研究成果に立脚した前臨床試験、さらに臨床試験を行うものである。主任研究者らが独自に開発した生体吸収性徐放ゲルを用いたインスリン様細胞増殖因子1（IGF1）の内耳徐放による感音難聴治療に関する研究を平成23年度から繰越、延長して行った。近年、ステロイド全身投与無効の急性高度難聴に対しての有効性が確立されつつあるステロイド鼓室内投与を対照治療とし、合計120例を目標症例数とした多施設共同試験を行い、109例の登録を行うことができた。これまでに、問題となる有害事象は認めていない。IGF1の感音難聴治療効果メカニズムの解析を目的とした臨床的、基礎的研究を行い、有毛細胞保護、蝸牛神経再生が主たる治療効果のメカニズムであることが分かった。

分担研究者

伊藤 壽一

（京都大学大学院医学研究科）

坂本 達則

平海 晴一

山本 典生

手良向 聡

（京都大学医学部附属病院）

田畑 泰彦

（京都大学再生医学研究所）

暁 清文

（愛媛大学医学部）

熊川 孝三

（虎の門病院）

内藤 泰

（神戸市立医療センター中央市民病院）

宇佐美 真一

(信州大学医学部)

佐々木 亮

(弘前大学医学部)

村上信五

(名古屋市立大学大学院医学研究科)

小宗 静男

(九州大学大学院医学研究科)

田渕 経司

(筑波大学人間総合科学研究科)

B. 研究方法

1) ゼラチンハイドロゲルによるインスリン様細胞成長因子1 (IGF1) 内耳投与による急性高度難聴治療

ゼラチンハイドロゲルによる IGF1 内耳投与による急性高度難聴治療効果を検証する目的で、ステロイド鼓室内投与を対照治療としたランダム化臨床試験を京都大学を中心とした弘前大学、筑波大学、虎の門病院、信州大学、名古屋市立大学、神戸市立医療センター中央市民病院、愛媛大学、九州大学を参加施設とする多施設共同研究を行った。

1. 適格基準、除外基準

第 I – II 相臨床試験「急性高度難聴症例に対する生体吸収性徐放ゲルを用いたリコンビナント・ヒト・インスリン様細胞成長因子1 内耳投与による感音難聴治療の検討」

(UMIN000000936) から一定の安全性が確認され、期待有効割合を試算するための基礎となるデータがえられた。この臨床試験での症例リクルートの問題点として、ステロイド全身投与に対する効果判定と併用治療に関する問題があった。すなわち、厚労省の突発性難聴聴力判定基準での不変判定は、純音聴力検査での 0.25, 0.5, 1, 2, 4 kHz の聴力レベルの算術平均値が 10 dB 未満の変化とされており、この基準を若干上回る症例が多く、症例登録のさまたげとなった。また、2002 年から 2009 年の間に京都大学医学部附属病院で初期治療としてステロイド全身投与を行った 89 症例を解析すると、不変は 15 症例

A. 研究目的

本研究の目的は、研究代表者らが独自に開発した生体吸収性材料を用いた内耳薬物投与システム (Endo 2005; Iwai 2006; Lee 2007) を用いた感音難聴治療研究をさらに推進させ、高度医療、先進医療として臨床に供し、感音難聴の治療・重症化防止による感音難聴者の社会参加を促進することにある。感音難聴は最も頻度の高い身体障害であり、人口の約 20% が感音難聴に伴う症候である耳鳴りに悩まされている。したがって、感音難聴および耳鳴り治療の新規開発に対する社会的要求度は高い。本研究では、急性高度難聴に対するゼラチンハイドロゲルを用いたインスリン様細胞成長因子1の内耳投与の臨床試験を進捗させると同時にその作用機序解明を目的とした基礎的研究を行う。

(17%)のみ、不変+回復 31 症例 (35%) となることが判明した。この点を考慮し、ランダム化対照試験では、厚労省聴力回復の判定基準の回復症例も対象に含めることとした。併用薬に関しては、試験治療中は原則なしとするが、前治療期間中に関しては特に制限を設けないこととした。

先行試験である第 I-II 相臨床試験「急性高度難聴症例を対象とした生体吸収性徐放ゲルを用いた IGF-1 含有ゼラチンハイドロゲル内耳投与による感音難聴治療の検討」(UMIN000000936) では、ステロイド全身投与無効例を対象として試験を行った。試験治療後 12 週の段階で 25 例中 12 例、24 週の段階において 14 例で、1984 年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で回復以上の効果が認められたが、有効性が示された症例は、すべて発症から 26 日以内に試験治療が行われた症例であった。以上の結果から、本試験では、ステロイド全身投与無効の急性高度難聴症例で、症例登録時に急性高度難聴発症から 25 日以内の症例を対象とすることとした。また、この他の基準については、先行する臨床試験で問題となる有害事象を認めなかったことから、同様の基準を用いることとした。すなわち、選択基準として、

- 1) 急性高度難聴、すなわち突発性難聴診断基準の突発性難聴の確実例または疑い例と診断されている。
- 2) 誘発耳音響放射検査にて蝸牛有毛細胞障害が示されている。
- 3) 急性高度難聴に対する前治療として以下

を満たしている。

- ・ ステロイド全身投与を、合計 7 日間以上実施している。
- ・ 7 日間以上実施した後に行われた効果判定で、不変あるいは回復と判定されている。

ただし、効果判定以降もステロイド全身投与を継続していてもよい。

- 4) 急性高度難聴の発症後 25 日以内である。
 - 5) 同意取得時の年齢が 20 歳以上である。
 - 6) 外来通院が可能な全身状態である。
 - 7) 試験参加について、被験者本人から文書による同意が得られている。
- とした。

除外基準を

- 8) 活動性の慢性中耳炎、急性中耳炎、浸出性中耳炎等の炎症所見が存在するあるいは耳管機能障害が存在する。
- 9) 抗凝固剤を継続投与している。
- 10) 以下のいずれかの合併症を有する。
 - ・ 重篤な肝障害
 - ・ コントロール不良の糖尿病
 - ・ 治療中の下垂体機能不全、副腎機能不全
 - ・ その他、生命予後が不良の合併症
- 11) 以下のいずれかの既往を有する。
 - ・ ゼラチンアレルギー
 - ・ 本試験で問題となる薬剤等のアレルギー
 - ・ 過去 1 年以内にアルコール依存もしくは薬物依存を認めた。
- 12) 活動性の悪性腫瘍（無病期間が 5 年以内の悪性腫瘍）を有する。ただし、carcinoma in situ（上皮内癌）や粘膜内癌は活動性の悪性腫瘍に含めない。

- 13) 妊娠中または妊娠の可能性があり、妊娠を希望している、授乳中である女性。
- 14) その他、試験の担当医師が本試験を安全に実施するのに不適切と判断している。
- とした。

2. 対照治療

IGF1 含有ゼラチンハイドロゲルを鼓室内に留置する試験治療群に対して、比較対照となる対照群として、プラセボ（生食含有ゼラチンハイドロゲル投与）を用いることが、試験治療の有効性検証の目的に最も合致するが、急性高度難聴治療において、発症から介入までの時間が有効性の重要な因子となり、プラセボ群の被験者を試験終了後に救済することが困難なこと、初期治療が無効となった急性高度難聴患者は心理的に鬱傾向にあり、プラセボ対照試験に対する抵抗が強いことを考慮し、倫理的な面からプラセボは用いず、実薬対照とすることとした。プラセボの代わりに、ステロイド全身投与無効例に対する2次治療として、現在世界で最も広く用いられているステロイド鼓室内投与を対照治療とすることとした。ステロイド鼓室内投与では、メチルプレドニゾロンとデキサメタゾンが広く用いられているが、鼓室内投与に用いるステロイドとして、力値が高く、生物学的半減期の長いデキサメタゾンを用いることとした。弘前大学でのデキサメタゾン鼓室内投与のステロイド全身投与無効例 38 例での解析では、厚労省の判定基準にて回復以上が 50%の症例で認められており、対象とした症例の選択基準などは一致しないものの、

IGF1 治療とほぼ同様の成績が認められており、ランダム化に関する患者説明の点からも問題がない治療法と考えられた。

3. エンドポイント

主要エンドポイントに関しては、先行する第 I-II 相臨床試験では投与 12 週後の聴力改善の有無を設定したが、投与 12 週後と 24 週後の平均聴覚閾値に大きな差は認められず、IGF-1 含有ゼラチンハイドロゲル内耳投与の効果は、投与 12 週後以前に得られる可能性が示唆された。よって、本試験の主要エンドポイントとしては、最も効果が期待される投与 8 週目の聴力改善と設定し、副次エンドポイントとして投与 12 週、16 週の聴力改善を設定した。

統計解析としては、主たる解析として、最大の解析対象集団（FAS）を対象とし、治療開始前と試験治療開始 8 週目の純音聴力検査の評価により「聴力改善」と判断された症例の割合を改善割合（聴力改善割合）とし、その両側 95%信頼区間を群別に推定する。さらに Fisher の正確検定を用いて、IGF-1 投与群がデキサメタゾン投与群に比べ優れているか判断する。有意水準は片側 5%とする。副次的解析として、最大の解析対象集団（FAS）を対象とし、試験治療開始後から試験治療開始 16 週目までの純音聴力検査による気導の平均聴覚閾値の推移を、各時点の平均値と両側 95%信頼区間を用いて、群別に記述する。また、平均聴覚閾値の経時推移に、治療群、時間、治療群と時間の交互作用を共変量とした混合効果モデルを当てはめ、時間に関する

傾きの群間差を回帰係数の t 検定により検討する。有意水準は片側 5%とする。さらに、試験治療開始 8 週目、12 週目または 16 週目の平均聴覚閾値の変化が、治癒、著明回復、回復、不変と判断されるそれぞれの症例数、それぞれの割合とその両側 95%信頼区間を、群別に算出する。治療開始前と試験治療開始 12、16 週目の純音聴力検査の評価により「聴力改善」と判断された症例の割合を改善割合（聴力改善割合）とし、その両側 95%信頼区間を群別に推定する。補助的な解析として、聴力改善割合の群間差を Fisher の正確検定を用いて検討する。安全性の解析に関しては、本試験に登録され、試験薬が一部でも投与された症例を解析対象とする。試験治療開始後から試験治療開始 8 週目まで、および試験治療開始 16 週目までの各期間における有害事象および副作用の発現頻度を集計し、有害事象・副作用発現割合およびその両側 95%信頼区間により要約する。区間推定は、二項分布に基づく正確な方法を用いる。集計は発現期間、事象名、重篤度、重症度、群別に行うこととした。

4. 目標症例数

先行する第 I - II 相臨床試験では、ステロイド全身投与が無効例に対して生体吸収性徐放ゲルによる IGF-1 内耳投与を行った 25 症例を、1984 年厚生省特定疾患突発性難聴研究班が策定した「突発性難聴・聴力回復の判定診断基準」にて判定したところ、不変：13 例、回復：11 例、著明回復 1 例であった。すなわち、回復以上 48%であった。当該試験で

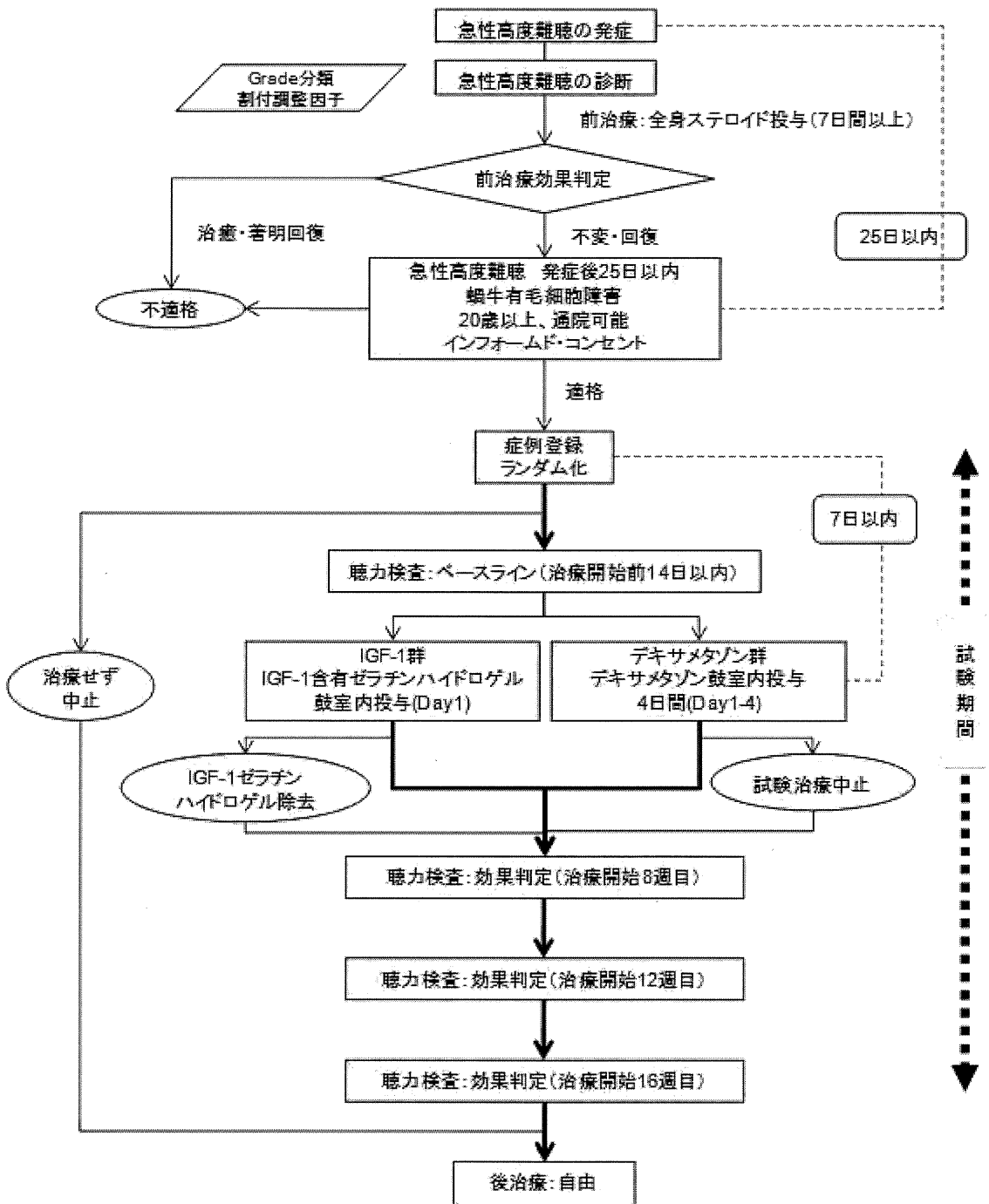
は回復症例はすべて発症 26 日以内であったことから、本試験では発症 25 日以内を適格とした。先行する第 I - II 相臨床試験で、発症後 26 日以内に試験治療を行った 19 例のうち、回復は 12 例であり、この条件を適用すると、IGF1 鼓室内投与の有効率は 63%となる。一方、ステロイド鼓室内投与に関する 2006 年以降の 10 症例以上を検討している 11 英文論文をレビューしたところ、有効割合に対する判定方法にばらつきがあるものの有効性は報告によりばらつきがあり、21.3-73.7%とされている。対象とされた症例数は、合計 302 例であり、聴力改善が報告されている症例数は、125 例となり、有効割合は 41.4%となる。以上より、本試験では回復、著明回復、治癒の 3 つを有効（聴力改善）とし、IGF-1 投与群の期待有効確率（聴力改善割合）を 65%、デキサメタゾン投与群の期待有効確率（聴力改善割合）を 40%とし、 α エラーを 0.05（片側）、 β エラーを 0.2 とすると、連続修正を行ったカイ二乗検定統計量に基づく必要適格症例数は、各群 56 例となる。また、各群 56 例と設定した場合、IGF-1 投与群の期待有効確率を変化させたときの検出力は、以下の表のように計算される。

| | IGF-1 投与群の期待有効確率 | | |
|-----|------------------|------|------|
| | 60% | 63% | 65% |
| 検出力 | 0.62 | 0.73 | 0.80 |

上記の計算に基づき、5%の不適格症例を想定し、本試験の目標症例数は、IGF-1 投与群 60 例、デキサメタゾン投与群 60 例、計 120 例

とすることとした。

(図1) 急性高度難聴患者に対する生体吸収性徐放ゲルを用いた IGF1 の内耳投与による感音難聴治療のランダム化対照試験プロトコル概要



2) IGF1 による感音難聴治療効果に関する臨床的研究

今回行ったランダム化対照試験に先行して行ったステロイド全身投与無効例に対する IGF1 局所投与の聴力改善効果を調べる前向き臨床試験 (Nakagawa et al., 2010) の純音聴力検査所見の経時的変化を後ろ向き解析し、聴力改善の詳細な過程を明らかにし、聴力改善のメカニズムについて考察した。

3) IGF1 による感音難聴治療効果に関する基礎的研究

IGF1 の感音難聴治療効果メカニズムを明らかにする目的で、蝸牛器官培養を用いた実験を行った。有毛細胞に対する効果に関して、IGF1 細胞内情報伝達系の関与、その下流で働く分子の同定に関する実験を施行した。蝸牛神経、特に内有毛細胞とラセン神経節細胞との間のシナプス再生に着目した実験を行った。

動物実験は、各研究施設の定める倫理規定に準じて行い、各施設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、各施設の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) ゼラチンハイドロゲルによる IGF1 内耳

投与による急性高度難聴治療

参加施設全体で予定症例数 120 例に対して、109 例の登録を完了することができた。平成 24 年度中に予定症例数がすべて登録完了する見込みである。

参加施設別の登録状況は、

京都大学：39 例

弘前大学：8 例

筑波大学：10 例

虎の門病院：14 例

信州大学：9 例

名古屋市立大学：6 例

神戸市立医療センター：7 例

愛媛大学：10 例

九州大学：6 例

(平成 25 年 1 月 11 日現在)

となった。

試験治療、対照治療を行ったすべての症例で重篤な有害事象は生じていない。

2) IGF1 による感音難聴治療効果に関する臨床的研究

純音聴力検査における閾値を周波数別 (250、500、1000、2000、4000 Hz) およびその平均値の投与 1、2、4、12、24 週間目における経時的変化を調べた。個々の症例における平均聴力の登録時と 24 週目の聴力変化を図 2 に示す。両群の間には、統計学的な有意差が認められた。詳細に観察すると著明な改善が認められた症例 1 例と高度難聴から中等度難聴に改善したグループ、中等度から軽度難聴に改善したグループに分かれること

が示されている。難聴の程度が軽い症例では、改善の幅が小さい傾向があった。

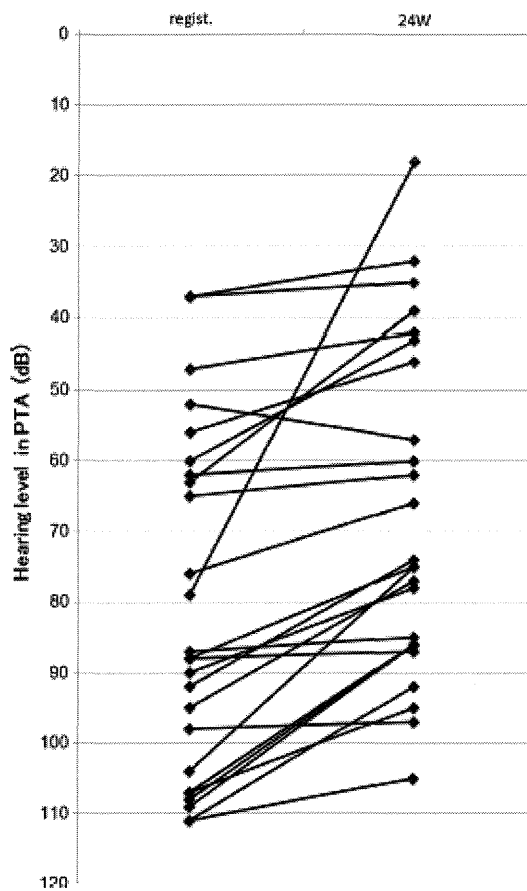


図 2：登録前、投与 24 週目の純音聴力検査聴力レベルの個々の症例における変化

各タイムポイントにおける聴力レベルの変化を調べると、結果、投与 4 週目まではほぼ直線的に聴力が改善し、以後プラトーに達することが分かった(図 3)。ただし、投与 12, 24 週目に聴力改善が向上する症例も認められた。

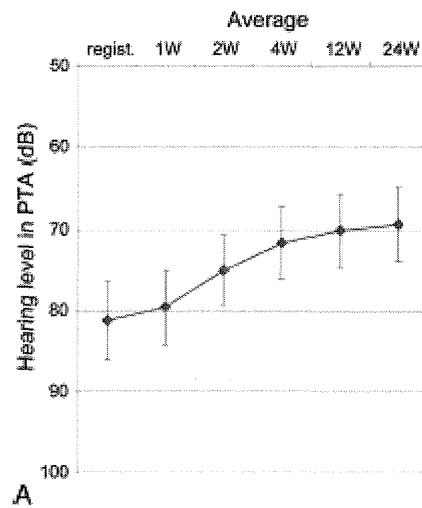


図 3：純音聴力平均レベルの経時的な変化

周波数別の解析では、低音域では回復がやや早く、高音域では回復が遅い傾向が認められた。代表例として、0.5, 4kHz を示す。

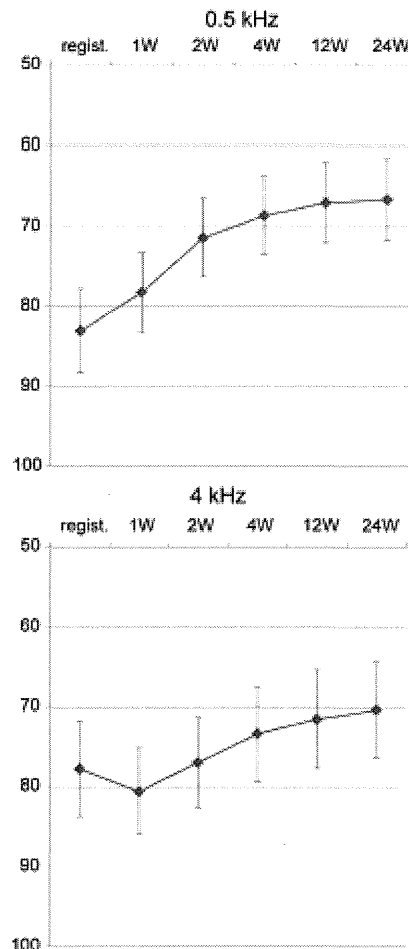


図 4：0.5, 4kHz における経時的純音聴力検査閾値の変化

次に、どのタイミングで平均聴力において 10, 20 dB の改善が認められたのかをまとめた。

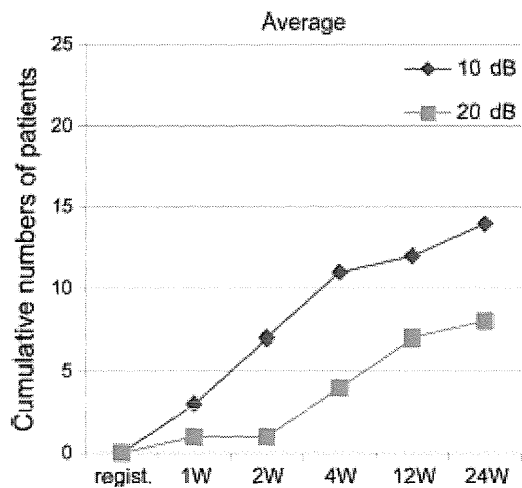


図 5 : 平均聴力において 10, 20 dB の改善が認められた累積症例数

この結果からも、一定の聴力改善が認められるのに、およそ 4 週を要し、20 dB 以上の改善には、さらに時間を要していることが分かる。

3) IGF1 による感音難聴治療効果に関する基礎的研究

1. 蝸牛有毛細胞に対する IGF1 の効果

蝸牛感覚上皮、特に有毛細胞に対する効果を検証するために、器官培養系の実験系を確立した。生後 3 日目のマウス蝸牛感覚上皮を無菌的に摘出し、器官培養を行った。有毛細胞の細胞死を誘導することが知られているアミノ配糖体であるネオマイシンを添加することにより有毛細胞喪失が安定的、かつ濃度依存性に惹起されることを確認した。次に、IGF1 添加による有毛細胞保護効果を調べたところ、容量依存性に高い保護効果が認めら

れることが判明した。IGF1 が有毛細胞の細胞死を抑制するタイミングを調べるために、経時的にネオマイシンによる有毛細胞減少を解析し、投与 6 時間後に解析するのが、IGF1 の効果発現機序を解析する目的に妥当であることが判明した。この条件を用いて、IGF1 受容体活性化により誘導されるとされている細胞内情報伝達系を定量的 PCR 法を用いて解析したところ、Akt および Erk の発現の有意の変化が確認された。

この実験系を用い、これらの情報伝達系の下流にある遺伝子を網羅的に解析し、有意の変化を示す遺伝子が 7 つ確認され、定量的 PCR 法での解析にて、これらの内 2 つの遺伝子で有意の変化が確認できた。検討した。結果、IGF1 投与により、双方の情報伝達系が活性化されていることが示唆された。

2. 蝸牛神経に対する効果

臨床的な IGF1 による感音難聴治療効果に関する解析結果から、IGF1 による聴力改善には時間を要し、有毛細胞の細胞死の保護効果だけでは説明できない部分がある。このゆっくりとした聴力回復のメカニズムとして、内有毛細胞とラセン神経節細胞間の神経連絡特にシナプスの再生が関与しているのではないかと推察した。そこで、ラセン神経節を含むマウス蝸牛のスライスカルチャーモデルを作製し、IGF1 の内有毛細胞ーラセン神経節細胞間のシナプス再生についての解析を行った。

興奮性アミノ酸を培養液中に投与するこ

とにより、内有毛細胞とラセン神経節細胞を温存し、ラセン神経節細胞と内有毛細胞間の神経線維を選択的に傷害することができた。また、シナプスの高度な傷害が誘導されていることを免疫染色により確認した。一旦、傷害を作製した後に、IGF1を投与し、内有毛細胞に接する神経線維の数、シナプスのマーカー発現を調べた。結果、IGF1は濃度依存性にこれらの再生を誘導することが明らかになった。また、この効果は、IGF1細胞内情報伝達系の阻害薬の投与により、有意に減弱することが明らかとなった。これらの結果は、IGF1がラセン神経節細胞に作用し、内有毛細胞との間のシナプス結合の再生を誘導する効果を持つことを示すものといえる。

D. 考察

1) ゼラチンハイドロゲルによる IGF1 内耳投与による急性高度難聴治療

平成 23 年度においては、分担施設での倫理委員会承認に時間を要し、症例登録が予定通りに進捗しなかった。平成 24 年 2 月時点では、47 例の登録にとどまった。このため、繰越申請を行い、平成 24 年 10 月に登録完了、12 月に解析完了を目標とした。結果、平成 25 年 1 月時点で 109 例の登録完了を行うことができた。1 年間で 62 例の登録は、ほぼ順調な経過といえる。参加 9 施設中 6 施設では、予定通りに完了することができたが、3 施設での進捗が遅れたため、予定通りに登録完了

することができなかった。これらの進捗が遅れがあった施設でも、平成 24 年 9 月以降に順調に登録が進行しており、月間 6-9 症例の登録が行えており、本年度中には登録が完了できる見込みである。

これまでの 109 例の登録症例における試験治療および対照治療の経過において、重篤な有害事象の報告はなく、安全性の面では順調に臨床試験を施行することができた。京都大学で施行した前向き臨床試験での経験を今回の臨床試験プロトコルに十分反映することができたため、多施設でも大きな問題なく臨床試験が施行できているものと推察される。また、IGF1 局所投与に関する手術手技や手順、ゼラチンハイドロゲルの取り扱いについても、登録開始前に行った会議などでの周知徹底により、京都大学以外の 8 施設でも問題なく、試験治療を行うことができた。今回の臨床試験に参加する施設は、それぞれ中耳手術の経験が豊富な施設であり、この点も円滑な試験治療進行に寄与していると考えられるが、多施設において複数の医師が問題なく投与を行えたことから、今後の展開を考えた場合、一定レベルの中耳手術解剖に関する知識があり、手術用顕微鏡、内視鏡を有する施設であれば、広く行い得る治療法であると考えられる。

一方、症例登録に関しては、各施設の診療圏における患者数の差違、関連病院などからの紹介体制、地域の耳鼻咽喉科医における臨床試験の認知の差が登録進捗に大きく影響したと考えられる。特に、関連病院、地域の

耳鼻咽喉科医の協力体制の構築が重要であると感じられた。また、多くの症例においてインターネットが臨床試験の存在を知るきっかけであったことから、地域におけるインターネットを介した情報収集の浸透度の違いも関係していると考えられた。直接、京都大学への問い合わせを行ってくる症例は圧倒的に首都圏に多く、京都大学以外では首都圏に近い施設での症例登録が順調であったことから、単純な人口の違いだけではなく、インターネット環境の違いが症例登録進捗に関連したのではないかと考えられた。

2) IGF1 による感音難聴治療効果に関する臨床的研究

ステロイド全身投与無効例に対する IGF1 局所投与の聴力改善効果を調べる前向き臨床試験 (Nakagawa et al., 2010) の純音聴力検査所見の経時的変化を後ろ向き解析することにより、IGF1 の治療効果のメカニズムに関していくつかの興味深い知見が得られた。第一に、聴力改善は投与 4 週目までにゆっくりと出現することが分かった。この臨床試験では、発症から平均して 3 週目に登録、試験治療が行われていることから、発症 7 週目という時期に聴力改善が認められていることを意味する。ヒトを含めた霊長類での有毛細胞障害過程、特に細胞死に至る時間経過は不明であり、齧歯類との違いは分からない。齧歯類では、音響外傷や耳毒性薬物投与から 2 週で障害レベルは固定し、4 週目には不可逆的な組織学的な変性が生じている。この時

間経過を当てはめれば、IGF1 はなんらかの再生的な治療効果を持つのではないかと推察することができる。ヒトとマウスなど齧歯類では、障害過程に要する時間経過が異なることも十分に考えられる。ヒト内耳を用いた実験は不可能であるが、ヒト iPS 細胞由来の内耳有毛細胞を用いた解析を行うことは可能であり、今後ヒト iPS 細胞由来有毛細胞とマウス iPS 細胞由来有毛細胞の比較検討を行うことにより、内耳障害過程のヒトとマウスの違いに関する知見が得られることが望まれる。

突発性難聴におけるヒト内耳における有毛細胞障害過程がマウスなどに比較してゆっくりと進行するものとすれば、IGF1 による有毛細胞保護が中心的なメカニズムと考えられる。また、再生プロセスが関与するとすれば、内有毛細胞とラセン神経節細胞の間のシナプス結合の再生、感覚上皮以外の蝸牛コンパートメントの機能再生が関与している可能性が考えられる。

3) IGF1 による感音難聴治療効果に関する基礎的研究

IGF1 の有毛細胞を含めた蝸牛感覚上皮に対する保護効果メカニズムの解析から、複数の IGF1 細胞内情報伝達系が関与していることが示され、IGF1 が有毛細胞保護効果を持つことが確認された。さらに、これらの情報伝達系の下流にある遺伝子解析から候補遺伝子が同定された。これら一連の結果は、臨床的研究で認められる IGF1 の聴力改善効果の

科学的根拠となるものであり、臨床研究としてのエビデンス構築に加え、生物学的な作用機序が確認されたという点で意義は大きい。

さらに、内有毛細胞とラセン神経節細胞間のシナプス結合再生誘導効果が示された。この結果は、IGF1による聴力改善が長い時間経過で起こることの説明になりうるものであり、IGF1による聴力改善に再生医学的な側面があることを示唆する点で興味深い。また、この結果は、IGF1がラセン神経節細胞に対して強い効果を持つことを示すものであり、ラセン神経節の状態が臨床的な有効性に関与する人工内耳医療においても、IGF1局所投与が応用できることを示唆するものといえる。

E. 結論

ゼラチンハイドロゲルによる IGF1 内耳投与による急性高度難聴治療効果を検証する目的で、ステロイド鼓室内投与を対照治療としたランダム化臨床試験を京都大学を中心とした弘前大学、筑波大学、虎の門病院、信州大学、名古屋市立大学、神戸市立医療センター中央市民病院、愛媛大学、九州大学を参加施設とする多施設共同研究を行い、目標症例数 120 例に対して、平成 25 年 1 月現在で 109 例の登録を行うことができ、平成 24 年度中の登録を完了できる見込みとなった。本臨床試験の経過中、問題となる有害事象の発生はなく、円滑に試験治療を行うことができた。また、今回行ったランダム化対照試験に先行して行ったステロイド全身投与無効例に対する IGF1 局所投与の聴力改善効果を調べる

前向き臨床試験 (Nakagawa et al., 2010) の純音聴力検査所見の経時的変化を後ろ向き解析により、IGF1 の治療効果が投与 4 週目、発症 7 週目という遅い時期に現れることが判明した。このような臨床的研究結果の科学的な裏付けを行う目的で行ったマウス蝸牛器官培養を用いた基礎的研究により、IGF1 による有毛細胞保護効果のメカニズムが示され、内有毛細胞とラセン神経節細胞間のシナプス結合再生効果が聴覚再生に関与している可能性が呈示された。

これら一連の結果は、現在進行しているランダム化対照試験の先に、高度先進医療としてゼラチンハイドロゲルを用いた IGF1 内耳投与による感音難聴治療の臨床研究を進める妥当性を示すものといえる。広く臨床に使用することができる医療へと発展させ、感音難聴治療に貢献することが望まれる。

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

なし

論文

1. Nakagawa T, Ogino-Nishimura E, Hiraumi H, Sakamoto T, Yamamoto N, Ito J.

- Audiometric outcomes of topical igfl treatment for sudden deafness refractory to systemic steroids. *Otol Neurotol* 33(6):941-6, 2012.
2. Sekiya T, Viberg A, Kojima K, Sakamoto T, Nakagawa T, Ito J, Canlon B. Trauma specific insults to the cochlear nucleus in the rat. *J Neurosci Res* 90(10):1924-31, 2012.
 3. Hamaguchi K, Yamamoto N, Nakagawa T, Furuyashiki T, Narumiya S, Ito J. Role of PGE-type receptor 4 in auditory function and noise-induced hearing loss in mice. *Neuropharmacology* 62:1841-1847, 2012.
 4. 中川隆之 急性感音難聴における新規治療の可能性 ナノ DDS *JOHNS* 28;799-802, 2012.
 5. 中川隆之 内耳 DDS を用いた IGF1 投与による突発性難聴治療 *Otol Jpn* 21: 172-178, 2011.
 6. 浜口清海, 堀 龍介, 中川隆之, 山本典生, 伊藤壽一. マウスにおけるプロスタグランディン E 受容体の蝸牛内での発現とその選択的作動薬を用いた血管内皮増殖因子の誘導. *頭頸部自律神経*. 2011; 25: 58-61.
 7. Okada M, Kawaguchi AT, Hakuba N, Takeda S, Hyodo J, Imai K, Hato N, Gyo K. Liposome-encapsulated hemoglobin alleviates hearing loss after transient cochlear ischemia and reperfusion in the gerbil. *Artif Organs* 36: 178-84, 2012.
 8. Omotehara Y, Hakuba N, Hato N, Okada M, Gyo K. Protection against ischemic cochlear damage by intratympanic administration of AM-111. *Otol Neurotol* 32: 1422-7, 2011.
 9. 蒲谷嘉代子, 渡邊暢浩, 高橋真理子, 荒木幸絵, 村上信五 「急性低音障害型感音難聴の予後因子の検討—重症度と長期予後—」 *Audiology Japan* 54(6): 665-670, 2011.
 10. Hoshino T, Tabuchi K, Nishimura B, Tanaka S, Nakayama M, Ishii T, Warabi E, Yanagawa T, Shimizu R, Yamamoto M, Hara A. Protective role of Nrf2 in age-related hearing loss and gentamicin ototoxicity. *BBRC* 415, 94-98, 2011.
 11. Tabuchi K, Nishimura B, Nakamagoe M, Hayashi K, Nakayama M, Hara A. Ototoxicity: mechanisms of cochlear impairment and its prevention. *Curr Med Chem* 18, 4866-71, 2011.
 12. Nakamagoe M, Tabuchi K, Nishimura B, Hara A. Effects of neuroactive steroids on cochlear hair cell death induced by gentamicin. *Steroids* 76, 1443-1450, 2011.
 13. Tabuchi K, Hoshino T, Hirose Y, Nishimura B, Nakayama M, Hara A. Age-related hearing loss and

- expression of antioxidant enzymes in BDF1 mice. *Acta Otolaryngol* 131, 1020-1024, 2011.
14. Tabuchi K, Nakamagoe M, Nishimura B, Hayashi K, Nakayama M, Hara A. Protective effects of corticosteroids and neurosteroids on cochlear injury. *Med Chem*. 7, 140144, 2011.
 15. Ida-Eto M, Ohgami N, Iida M, Yajima I, Kumasaka MY, Takaiwa K, Kimitsuki T, Sone M, Nakashima T, Tsuzuki T, Komune S, Yanagisawa M, Kato M: "Partial requirement of endothelin receptor b in spiral ganglion neurons for postnatal development of hearing." *J Biol Chem*; 286:29621-29626, 2011.
 16. Kimitsuki T, Ohashi M, Umeno Y, Yoshida T, Komune N, Noda T, Komune S: "Effect of salicylate on potassium currents in inner hair cells isolated from guinea-pig cochlea." *Neurosci Lett* 504: 28-31, 2011.
 17. Kakehata S, Sasaki A, Futai K, Kitani R, Shinkawa H. Daily short-term intratympanic dexamethasone treatment alone as an initial or salvage treatment for idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Audiol Neurootol* 16(3): 191-7, 2011.
 1. Nakagawa T. Intracochlear drug delivery systems and new therapeutic concepts. 49th Workshop on Inner Ear Biology Sep. 29, 2012 Tubingen, Germany
 2. Nakagawa T. Development of novel therapeutic strategies for inner ear diseases. 85th Annual Meeting of The Japanese Pharmacological Society. May 16, 2012. Kyoto, Japan
 3. AKIKO TAURA, NAKARIN ANGUNSRI, TAKAYUKI NAKAGAWA, YUSHI HAYASHI, SHIN-ICHIRO KITAJIRI, EIGO OMI, KAZUO ISHIKAWA, JUICHI ITO: Insulin-like growth factor 1 protects vestibular hair cells from aminoglycosides The 14th Japan-Korean Joint meeting of otorhinolaryngology HNS, April 13, 2012, Kyoto, Japan
 4. Yamamoto N, Hayashi Y, Nakagawa T, Ito J. Mechanisms of mammalian cochlear hair cell protection by IGF-1. 12th International Conference on Cochlear Implants and Other Implantable Auditory Technologies. Baltimore, MD USA, May 3-5, 2012
 5. Yushi Hayashi, Norio Yamamoto, Takayuki Nakagawa, Juichi Ito. Identification of novel downstream effectors of IGF-1 signal pathways using a comprehensive gene expression analysis. 49th Workshop on Inner Ear

- Biology Oct. 2, 2012 Tübingen, Germany
6. 林裕史、山本典生、中川隆之、伊藤壽一
網羅的遺伝子発現解析による IGF-1 新規
下流遺伝子の同定 第 22 回日本耳科学会
名古屋 平成 24 年 10 月 4-6 日
 7. 林裕史、山本典生、中川隆之、伊藤壽一
急性感音難聴治療における IGF-1 の作用
メカニズム 聴覚医学会 京都 平成
24 年 10 月 11-12 日
 8. 坂本達則、中川隆之、伊藤壽一. 内耳治
療への DDS の応用 - 現状と展望 -. 第 2
回 DDS 徐放化再生医療研究会.
2012/12/22, 京都
 - 9.
 10. Ito J. Regeneration Ear Medicine for
Inner Ear Disease. 12th Asia-Oceania
ORL-HNS Congress. Mar 4, 2011;
Auckland, New Zealand.
 11. Ito J. Drug delivery system to the
cochlea. The Ear Foundation, Tissue
engineering in the auditory system:
Paving the way from basic science to
clinical practice. Jun 2, 2011; London,
United Kingdom.
 12. Ito J. Novel Local Drug Delivery
System for Treatment of Sensorineural
Hearing Loss. CORLAS Collegium
Oto-Rhino-Laryngologicum Amicitiae
Sacrum 2011. Sep 7, 2011; Bruges,
Belgium.
 13. Ito J. Regeneration medicine for the
inner ear diseases. 2nd National
Otology and Neurootology Congress,
Belek-Antalya, Turkey, Cornelia
Diamond Hotel. May 10-13 2012.
 14. Ito J. Regeneration medicine for the
inner ear diseases. 8th International
Academic Conference / Workshop in
Otology Rhinology and Laryngology,
Malaga, Spain, The University of
Malaga. August 22-24 2012.
 15. Ito J. Regeneration medicine for the
inner ear diseases. AAO-HNSF Annual
Meeting & OTO EXPO2012, Orlando,
U.S.A., Walter E. Washington
Convention Center. September 10-14
2012.
 16. Ito J. New local drug delivery system
for treatment of inner ear disorders.
Collegium Oto-Rhinolaryngologicum
Amicitiae Sacrum 2012, Rome, Italy,
Parco dei Principi Grand Hotel & Spa.
August 26-29 2012.
 17. Ito J. Regeneration medicine for the
inner ear disorders. 9th Catholic
International Stem Cell Symposium
(CISCS), Seoul, Korea, St. Mary's
Hospital. September 15 2012.
 18. Ito J. Regeneration medicine for inner
ear diseases. The 28th International
Kumamoto Medical Bioscience Symposium,
Kumamoto, Japan, Kumamoto-shi Ishikai
Kaikan. November 15-16 2012.
 19. Ito J. Regeneration of Inner Ear. The

- hearFUTURE Workshop, Innsbruck, Austria, Grand Hotel Europa. December 3-6 2012.
20. Ito J. Evening Plenary Session: Application of tissue engineering system in the treatment of hearing loss. The 11th US-Japan Symposium on Drug Delivery Systems. Dec 15-19, 2011; Maui, Hawaii, USA.
 21. Nakagawa T. Defining clinical needs for regenerative medicine in hearing. Leopoldina Symposium 'Regenerative Medicine'. Jul 24-26, 2011; Tübingen, Germany.
 22. Nakagawa T, Sakamoto T, Hiraumi H, Yamamoto N, Tabata Y, Ito J. Hearing recovery by local IGF1 therapy in sudden deafness. AAO-HNSF 2011 Annual Meeting & OTO EXPO. Sep. 10-14, 2011; San Francisco, CA, USA.
 23. Nakagawa T. Topical IGF1 therapy for sudden deafness; From the bench to the clinic. 11th Japan-Taiwan Conference on Otolaryngology-Head and Neck Surgery. Dec. 9, 2011; Kobe, Japan
 24. 中川隆之, 坂本達則, 平海晴一, 山本典生, 吉川弥生, 伊藤壽一. 生体吸収性徐放ゲルを用いた IGF1 局所投与による突発性難聴治療. 第 112 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会. 平成 23 年 5 月 19 日~21 日. 京都.
 25. 中川隆之, 坂本達則, 平海晴一, 山本典生, 伊藤壽一. 生体吸収性徐放ゲルを用いた IGF1 局所投与による突発性難聴臨床試験. 第 73 回耳鼻咽喉科臨床学会総会・学術講演会. 平成 23 年 6 月 23 日~24 日. 松本.
 26. 中川隆之, 坂本達則, 平海晴一, 山本典生, 荻野枝里子, 堀江理恵, 伊藤壽一. ゼラチンハイドロゲルを用いた IGF1 投与による突発性難聴治療 ランダム化対照試験プロトコルデザイン. 第 21 回日本耳科学会総会・学術講演会. 平成 23 年 11 月 24 日~26 日. 宜野湾.
 27. 中川隆之. 内耳再生医療開発の現況と課題. 第 62 回東北臨床超微形態懇話会. 平成 23 年 12 月 8 日. 仙台.
 28. 中川隆之. 突発性難聴 update: 薬物局所投与治療. 第 12 回長崎 ENT. 平成 23 年 12 月 10 日. 長崎.
 29. 坂本達則, 堀江理恵, 田畑泰彦, 中川隆之, 伊藤壽一. 微小粒子を用いて実現する内耳ターゲティング療法. 第 41 回日本耳鼻咽喉科感染症研究会・第 35 回日本医用エアロゾル研究会. 平成 23 年 9 月 2 日~3 日. 東京.
 30. Yamamoto N, Hayashi Y, Takayuki N, Ito J. Mechanisms of mammalian cochlear hair cell protection by IGF-1. The 8th Asia Pacific Symposium on Cochlear Implant and Related Sciences. Oct 25-28, 2011; Daegu, Korea.
 31. 山本典生, 伊藤壽一. Notch シグナルは内耳感覚上皮前駆細胞を維持する. 第

- 112 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会. 平成 23 年 5 月 19 日～21 日. 京都.
32. 山本典生, 林 裕史, 中川隆之, 伊藤壽一. IGF-1 による蝸牛保護メカニズムの解明. 第 21 回日本耳科学会総会・学術講演会. 平成 23 年 11 月 24 日～26 日. 宜野湾.
33. 荻野枝里子, 中川隆之, 坂本達則, 平海晴一, 山本典生, 堀江理恵, 伊藤壽一. ゼラチンハイドロゲルを用いた IGF1 内耳局所投与による突発性難聴例での聴力像の経時的変化. 第 21 回日本耳科学会総会・学術講演会. 平成 23 年 11 月 24 日～26 日. 宜野湾.
34. 林 裕史, ナカリン・アングースィ, 田浦晶子, 中川隆之, 北尻真一郎, 近江永豪, 石川和夫, 伊藤壽一. インスリン様細胞成長因子 1 (IGF-1) による前庭有毛細胞の保護効果. 第 112 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会. 平成 23 年 5 月 19 日～21 日. 京都.
35. 林 裕史, ナカリン・アングースィ, 田浦晶子, 中川隆之, 北尻真一郎, 近江永豪, 石川和夫, 伊藤壽一. インスリン様細胞成長因子 1 の前庭有毛細胞に対する保護効果の検討. 頭頸部自律神経研究会. 平成 23 年 8 月 27 日. 大阪.
36. 浜口清海, 中川隆之, 山本典生, 伊藤壽一. プロスタグランディン E 受容体 EP4 と聴覚の関連. 第 112 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会. 平成 23 年 5 月 19 日～21 日. 京都.
37. 欠畑誠治、佐々木亮、武田育子、新川秀一. 真珠腫後鼓室病変に対する内視鏡下アプローチ. 第 112 回 日本耳鼻咽喉科学会総会. 平成 23 年 5 月 19～21 日. 京都市.
38. 佐々木亮、欠畑誠治、南場淳司、新川秀一. 難聴と認知機能低下の関連性 岩木健康増進プロジェクトにおける一般地域住民での検討. 第 56 回 日本聴覚医学会. 平成 23 年 10 月 27～28 日. 福岡市.
39. 南場淳司、佐々木亮、新川秀一. 一般住民における GJB2 遺伝子変異の検討. 第 21 回 日本耳科学会総会. 平成 23 年 11 月 24～26 日. 那覇市.
40. 野田哲平、小宗静男 “全胚培養を用いたマウス内耳発生における Wnt の機能解析” 第 21 回 日本耳科学会 (2011 年 11 月 24-26 日 沖縄)
41. 高橋真理子、蒲谷嘉代子、関谷芳正、吉岡正展、加藤有加、牧野多恵子、大脇真奈、渡邊啓介、松田太志、荒木幸絵、村上信五 : Music&Sound Generator 機能付き補聴器を用いた耳鳴治療 その 1. 第 56 回日本聴覚医学会. 平成 23 年 10 月 27-28 日. 福岡.
42. 吉岡正展、蒲谷嘉代子、関谷芳正、高橋真理子、牧野多恵子、大脇真奈、渡邊啓介、松田太志、荒木幸絵、村上信五 : Music&Sound Generator 機能付き補聴器を用いた耳鳴治療 その 2. 第 56 回日本聴覚医学会. 平成 23 年 10 月 27-28 日. 福岡.