

201122028B

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21-23年度 総合研究報告書

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21-23年度 総合研究報告書

平成25年1月

研究代表者 中川隆之

(京都大学)

目 次

I. 総合研究報告

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 56

III. 研究成果の刊行物 65

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））

総合研究報告書

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。第一に、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行った。急性高度難聴に対する効果については、ヒストリカルコントロール（京大耳鼻科における高気圧酸素治療成績）を用いた単群試験からなる前向き臨床試験を完了し、本治療の安全性を明らかにし、有効性が期待できることを明らかとした。この成果に基づき、有効性の検証を目的としたランダム化対照試験をデザインした。本試験では、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とした。また、IGF1 の有毛細胞に対する効果のメカニズムの詳細な解析を行った。ポリグリコール乳酸パーティクルによるリドカイン内耳投与による耳鳴り抑制治療法開発については、リドカイン内耳徐放による蝸牛感覚上皮での神経伝達物質および受容体の発現変化に関する検討を行い、遠心系神経終末での GABA 受容体発現に関する興味ある知見をえた。新規内耳治療薬のシーズ開発を目的とした研究を行い、プロスタグランジン E 受容体特異的作動薬の難聴治療薬としての可能性、新しいステロイド徐放方法の開発と音響外傷に対する効果検証、 γ セクレターゼ阻害薬徐放による蝸牛有毛細胞再生あるいは保護効果を示唆する結果がえられた。

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)

欠畑 誠治、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)

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、内耳薬物投与システムを応用した感音難聴、耳鳴りに対する新規治療法の開発を行う。

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

京都大学医学部附属病院にて施行中の第 I - II 相臨床試験 (UMIN-CTR: R000001118) を継続して行い、全症例で24週の観察期間終了後、登録データの適格性を京都大学附属病院探索医療センター検証部にて行う。適格

性解析終了後に統計学的解析を行う。この結果に基づき、京都大学を中心とし、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とした第Ⅱ相臨床試験の準備を行う。第一に、第Ⅰ－Ⅱ相臨床試験での安全性評価に立脚し、ゼラチンハイドロゲル製剤の配布、管理についての薬事法に関する解釈を明確にし、有効性検証を主な目的とした後期相臨床試験のデザインを行う。ステロイド全身投与で十分な効果が得られない急性高度難聴症例を対象とし、ランダム化を基本骨格とし、対照治療、プロトコルデザイン、統計学的解析方法を検討する。

また、京都大学を中心とし、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の準備として、生体吸収性徐放ゲルの配布に関する整備を目的とし、各参加施設の分担研究者および薬剤部担当者、京都大学医学部附属病院薬剤部、探索医療センター間での協議を行い、配布に関する手順を確定する。また、臨床試験における対照治療とする予定のステロイド鼓室内投与の効果に関する臨床研究を行う。また、ステロイド全身投与の有効割合を検証し、年間リクルート可能な症例数を予測するための臨床研究を行う。上記の臨床研究成果に立脚し、急性高度難聴に対するゼラチンハイドロゲルによる IGF1 内耳投与の有効性を検証するためのランダム化対照試験のプロトコルデザインと関連

する統計学的な解析を行い、各施設の倫理委員会の承認を得て、臨床試験を施行する。

また、IGF1 の内耳に対する作用メカニズムを明らかにする目的で、蝸牛および前庭感覚上皮の器官培養を用いた解析系を確立し、細胞内情報伝達系に関する解析を行う。生後 3 日目のマウス内耳から採取した蝸牛および卵形囊感覚上皮の器官培養を行い、アミノ配糖体耳毒性による有毛細胞傷害モデルを作製し、IGF1 添加による有毛細胞保護および再生に関する組織学的解析を行う。さらに、細胞内情報伝達系として IGF1 受容体の活性化に伴い活性化されることが知られている Akt および Erk 細胞内情報伝達系の活性化について調べ、これらの情報伝達系の阻害実験により、IGF1 の効果がこれらの情報伝達系を介するものであることを確認する。

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、この結果に基づく治療効果メカニズム仮説を立て、基礎的な研究解析を追加する。

2) ポリグリコール乳酸 (PLGA) パーティクルによるリドカイン内耳投与による耳鳴り治療

リドカイン含有 PLGA マイクロパーティクル

による内耳性耳鳴り治療臨床試験の準備として、リドカイン含有 PLGA マイクロパーティクルの内耳徐放有効性の検証、有害事象に関する動物実験を行うと同時に、リドカインの蝸牛での効果発現機序に関する研究を神経伝達物質に着目して行う。リドカイン含有 PLGA マイクロパーティクルの効果を調べる実験系に最も適した耳鳴り行動モデルとして、ドイツ・チュービンゲン大学が開発した音響外傷によるラット耳鳴り行動モデルを用いることとした。耳鳴り行動の抑制の評価が最終的な評価項目となるが、行動モデルトレーニングには数ヶ月を要し、特別な設備が必要となる。そこで、耳鳴り行動モデルと同条件の音響外傷を与えたラットを用い、リドカイン含有 PLGA マイクロパーティクルの局所投与が聴覚系に与える影響を解析し、リドカインによる耳鳴り抑制のメカニズムを調べ、臨床応用を考えた場合の対象疾患考察や次のステップとなる行動モデル解析への応用を考えた。神経伝達物質としては、蝸牛の遠心性神経伝達物質である GABA に着目し、蝸牛での GABA_A 受容体の発現変化を中心に解析を行った。第一に正常ラットにリドカイン含有 PLGA マイクロパーティクルを局所投与し、蝸牛での GABA_A 受容体の発現変化を調べた。次に、耳鳴り行動モデルと同条件の音響外傷を与えたラットにおける蝸牛での GABA_A 受容体の発現変化を調べ、音響外傷後にリドカイン含有 PLGA マイクロパーティクルを局所投与したラットとの比較解析を行った。臨床試

験に際する他覚的検査方法開発を目的として、脳磁図の新たな解析方法であるスペクトルアナリシス/空間フィルター法の有効性を検討する臨床的研究を行う。本年度は、スペクトルアナリシス/空間フィルター法の聴覚系研究への至適化を図り、健常成人での聴性誘発磁場解析を行う。

3) プロスタグランジンE受容体特異的作動薬の内耳局所投与による急性高度難聴治療研究

プロスタグランジンE製剤は、しばしば急性高度難聴治療に用いられるが、プロスタグランジンEに対しては、4つの受容体、EP1~4が存在することが知られている。これまで、内耳におけるEP1~4の役割は、全く検討されていなかった。われわれは、本研究課題にて、EP2, 4が蝸牛で発現しており、EP4の特異的作動薬に蝸牛保護効果が認められること、その作用機序に血管上皮増殖因子を介したパラクライン効果に関与していることを報告してきた。しかし、未だEP1~4の蝸牛における役割は不明な点が多く、臨床応用するためには、さらに基礎的知見を重ねる必要がある。本年度の研究では、EP1~4の神経系に対する役割の文献検索を行い、蝸牛におけるEP1~4の役割について推察し、これらの知見に立脚し、EP4の蝸牛における役割の詳細な検討を行うこととした。

EP4 の蝸牛における役割の解析については、ノックアウトマウスに使用を考慮し、マウスを実験動物とした。音響外傷に対する EP4 作動薬および阻害薬の効果聴性脳幹反応による聴力評価および蝸牛感覚上皮の組織学的解析を行った。次に、臨床ですでに広く使用されているプロスタグランジン E1 製剤と EP4 作動薬の音響外傷に対する効果比較をモルモットにて行った。

4) ステルス型ナノパーティクルを用いたステロイド内耳徐放に関する研究

ステロイド全身投与は、急性高度難聴に対する治療法の第一選択とされている。ステロイド全身投与の急性高度難聴に対する効果については、多くの臨床的な報告がなされているが、有効性に関する明確なエビデンスは乏しい。一方、その背景となる基礎的研究は、十分になされているとはいえない。近年、ステロイド受容体の蝸牛での分布やステロイド作用機序に関する報告が散見される。しかし、全身投与されたステロイドの蝸牛における薬物動態に関する研究は、ほとんどなされていない。蝸牛に到達する血流がきわめて限られていること、血液-内耳関門の存在などを考慮すると、全身投与されたステロイドがどの程度蝸牛まで到達しているのかを知ることが、重要な課題であり、薬物徐放システムを応用することが、どのような意義をもつのかについても、ほとんど検討されていない。われわれは、過去に、薬物全身投与において、

薬物をナノパーティクル化することにより、蝸牛への徐放効果があるかを検討した。しかしながら、ほとんどのナノパーティクルは肝臓など細網系で捕らえられ、徐放効果が得られず、蝸牛への標的効果も認められないことを確認している。そこで、本研究では、ナノパーティクルの肝臓など網内系での捕捉を防止するために、ナノパーティクルを PEG にてコーティングしたステルス型ナノパーティクルのステロイド全身投与における効果を調べた。マウス音響外傷モデルを用い、ベタメサゾン全身投与とステルスナノパーティクル化したベタメサゾン全身投与の難聴治療効果の比較検討を行い、機能評価後に残存蝸牛外有毛細胞数に関する定量的評価を行った。また、蝸牛におけるベタメサゾン含有量、ベタメサゾンの代わりに蛍光色素であるローダミンを用いて、蝸牛でのローダミン色素の局在の変化を用いて、ステルス型ナノパーティクル化による蝸牛における薬物動態の変化を評価した。

5) γ セクレターゼ阻害薬内耳徐放による内耳有毛細胞再生誘導研究

慢性期の感音難聴に対する治療を考えた場合、細胞死の抑制や傷害細胞の自己修復誘導のみでは、聴力を回復させることは困難と考えられる。喪失した細胞を再生するストラテジーを用いることが求められる。本研究では、蝸牛有毛細胞の再生を目的とするが、有毛細胞再生には、3つのストラテジーが考え

られる。ひとつは、傷害後に残存している細胞、この場合は支持細胞が相当するが、をソースとして、有毛細胞への分化転換を誘導し、支持細胞から有毛細胞を新生させるという戦略である。第2の戦略は、残存する支持細胞の増殖を誘導し、増殖した細胞の有毛細胞への分化を促すという方法である。これら2つの戦略は、鳥類の有毛細胞再生のメカニズムとして働いているシステムである。最後の戦略は、鳥類とは異なり、哺乳類では再生能力が乏しいとの考えに基づき、高い再生能力をもつ幹細胞を移植するという戦略である。これらの戦略の中で、最も臨床応用に近いと考えられる戦略は、第1の戦略である支持細胞から有毛細胞への分化転換である。これまで、遺伝子導入という手法を用いて、成熟した蝸牛でも支持細胞から有毛細胞様の細胞への分化転換が報告されている。内耳への遺伝子導入の臨床応用には、解決しなければならない問題が多く残されている。一方、低分子を用いて、遺伝子導入と同じ効果を得る手法が近年注目されているが、蝸牛での支持細胞から有毛細胞への分化転換誘導については、ノッチ情報伝達系を阻害する γ セクレターゼ阻害薬投与により、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報告されている。しかし、*in vivo*での有効性については不明であった。われわれは、過去にアミノ配糖体耳毒性により広範な有毛細胞喪失を誘導したモルモット成獣蝸牛に γ セ

クレターゼ阻害薬を持続的に局所投与することにより、きわめて限られた数であるが、新生有毛細胞が出現することを明らかとした。このモデルでは、薬物による蝸牛感覚上皮の傷害が強く、支持細胞も傷害されており、有毛細胞再生への環境が厳しいものであった。そこで、より限定的な蝸牛感覚上皮が誘導され、より有毛細胞再生にとって良好な条件のモデルでの解析を行い、機能的な再生の可能性を調べた。モルモット音響外傷モデルを用い、音響外傷を与えた後に、蝸牛基底回転に埋め込み型浸透圧ポンプの先端を留置し、 γ セクレターゼ阻害薬であるMDL28170を14日間持続投与した。経時的に聴性脳幹反応閾値を計測し、投与14日後に蝸牛を採取し、組織学的解析を行った。

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

急性高度難聴に対するIGF1を浸漬したゼ

ラチンハイドロゲルを中耳正円窓窩に留置する治療法の安全性、少数例での有効性検証を目的とした第Ⅰ－Ⅱ相臨床試験を施行した。7日以上ステロイド全身投与を受けたが厚生労働省判定基準で不変であった25症例がプロトコル治療を受け、24週の経過観察が可能であった。内訳は男性12例、女性13例であり、平均年齢は49(23-72)歳であった。プロトコル治療は、急性高度難聴発症後平均23(15-32)日後行われた。治療前の5周波数の平均聴力は、81.2 dB (95% confidence interval, 71.2-91.1)であった。

平均聴覚閾値の症例登録前から投与後12あるいは24週目までの変化が、回復以上であった被験者数、割合とその95%信頼区間、P値を表1に示す。投与12週間後の厚労省基準で回復以上の有効割合は、48%(95% confidence interval, 28-69%)であり、著明回復1例、回復11例であった。平均聴力レベルは、70.0 dB (95% confidence interval, 60.7-79.3)であった。投与24週間後の有効割合56%(95% confidence interval, 35-76%)、著明回復1例、回復13例であった。平均聴力レベルは、69.3 dB (95% confidence interval, 59.8-78.7)であった。本研究では、京都大学耳鼻咽喉科頭頸部外科における高気圧酸素療法ステロイド全身投与無効急性高度難聴症例に対する有効割合(33%)をコントロールとした。12週におけるP値は、二項分布に基づく検定の結果0.0086であり、ゼラチンハイドロゲルによるIGF1内耳投与の有効割合は33%以上であるという仮説は棄却された。一方、24週においては、P値は0.0015となり、統計学的に有意にゼラチンハイドロゲルによる

IGF1内耳投与は、高気圧酸素療法よりも優れた治療効果をステロイド全身投与無効急性高度難聴症例に対して有すると考えられた。

症例登録前、投与後12週目または投与後24週目の平均聴覚閾値の平均の推移の解析では、登録前とのt検定による比較で、0.5 kHzで12、24週ともに有意の改善が認められた(P=0.03, 12, 24週共)。

安全性の評価に関しては、試験薬を投与された25例すべてが24週の観察を行われており、すべてが安全解析対象となった。安全解析対象25例のうち全員になんらかの有害事象が認められた(88件)。そのうち21例(84%)に因果関係が否定できない有害事象が認められた。いずれの事象も、重症度は軽度もしくは中等度であった。重篤な有害事象として鼻茸が1例認められたが、試験薬との因果関係はなかった。その他に重篤な有害事象はなかった。めまい、浮動感は、12例(48%)の症例に認められたが、平均6.2日で消失した。中耳炎は、7例(28%)で認められ、平均9.4日で治癒した。鼓膜穿孔の残存は認められなかった。

詳細な統計学的解析結果を以下に示す。

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」(UMIN-CTR000000936)の統計学的解析

1. 試験対象集団

1.1 被験者の内訳

被験者の構成を図1に示す。臨床効果および安全性の主たる解析対象集団は、試験薬の少なくとも一部が実施された登録被験者の集

団とした。図 1 に示すように、総登録患者 26 例のうち、不適格被験者 1 例を除外した 25 例全員に、試験薬が投与された。従って、本解析の解析対象となった被験者数は 25 例であった。

2. 臨床効果の評価

2.1 被験者特性の分布

被験者特性の分布および要約統計量を表 1 と表 2 に示す。

2.2 臨床効果に関する成績

2.2.1 主要エンドポイント

平均聴覚閾値の症例登録前から手術後 12 週目までの変化が、回復以上であった被験者数、割合とその 95%信頼区間を表 3 に示す。二項分布に基づく正確な検定の結果、P 値は 0.086 であり、回復以上の閾値割合 33%以上という仮説は有意水準 0.05 で棄却されなかった。

2.2.2 副次エンドポイント

平均聴覚閾値の症例登録前から手術後 24 週目までの変化が、回復以上であった被験者数、割合とその 95%信頼区間、P 値を表 3 に示す。二項分布に基づく正確な検定の結果、P 値は 0.015 であり、統計学的に有意であった。平均聴覚閾値の変化が、治癒、著明回復、回復、不変である被験者数と割合を表 4 に示す。12 週、24 週いずれにおいても治癒は観察されなかったが（表 5）、12 週以降に著明回復が 1 例見られた（表 6）。症例登録前、手術後 12 週目または手術後 24 週目の平均聴覚閾値の平均と 95%信頼区間を表 7 に示す。

2.2.3 部分集団の検討

表 8 および表 9 に、経過日数・重症度に基づく部分集団における、平均聴覚閾値の症例登録前から手術後 12 週目または手術後 24 週目までの変化が、治癒、著明回復、回復、不変である被験者数と割合を示す。

3. 安全性の評価

3.1 試験薬が投与された被験者数

図 1 に示したように、不適格被験者 1 例を除外した 25 例全員に、試験薬が投与されており、安全性解析対象となった被験者数は 25 例であった。

3.2 有害事象

安全性解析対象集団 25 例のうち全員に何らかの有害事象が見られた（88 件）。そのうち 21 例（84%）に因果関係が否定できない有害事象（副作用）が見られた。いずれの事象も、重症度は軽度もしくは中等度であった。重篤な有害事象として鼻茸が 1 例（4%）に認められたが、試験薬との因果関係はなかった。その他の重篤な有害事象は生じなかった。

発生割合 20% 以上の有害事象は、めまい（11 例、44%）、嘔吐・嘔気（6 例、24%）、炎症（非感染性）外耳（6 例、24%）、炎症（感染性）中耳（5 例、20%）、感冒（5 例、20%）であった。いずれの事象も、試験薬との因果関係が否定できないものであったが、試験期間中に消失または軽快した。

割合 20% 以上の臨床検査値異常は、好中球数減少（5 例、20%）、リンパ球数増加（9 例、36%）、単球数増加（8 例、32%）、好酸球数増

加 (9 例、36%)、CRP 増加 (5 例、20%)、空腹時血糖増加 (7 例、28%)、空腹時血糖減少 (6 例、24%) であった。

表1. 被験者特性の分布および要約統計量

項目	平均	標準偏差	中央値	最小値	最大値
同意取得時年齢	47.2	12.7	49	23	72
発症から手術までの経過日数	23.1	4.6	23	15	32

表2. 被験者特性の分布および要約統計量

項目	分類	人数	割合	
性別	男	12	48%	
	女	13	52%	
合併症歴	無	3	12%	
	有	22	88%	
		<内訳>		
		耳鼻咽喉科的疾患	16	64%
		脳/神経疾患	0	0%
		呼吸器疾患	3	12%
		心疾患	0	0%
		循環器疾患	8	32%
		肝疾患	3	12%
		腎疾患	0	0%
		内分泌・代謝疾患	6	24%
		自己免疫性疾患	0	0%
	骨代謝疾患	0	0%	
	その他	7	28%	
既往歴	無	7	28%	
	有	18	72%	
		<内訳>		
		耳鼻咽喉科的疾患	12	48%
		脳/神経疾患	1	4%
		呼吸器疾患	1	4%
		心疾患	0	0%
		循環器疾患	1	4%
		肝疾患	0	0%
		腎疾患	0	0%
		内分泌・代謝疾患	1	4%
		自己免疫性疾患	0	0%
	骨代謝疾患	0	0%	
	その他	9	36%	
家族歴	無	19	76%	
	有	6	24%	
薬物アレルギー	無	22	88%	
	有	3	12%	
随伴症状	無	0	0%	
	有	25	100%	
	<内訳>			
	耳鳴り	22	88%	
	耳閉感	19	76%	
	めまい	14	56%	
	その他	3	12%	
発症後の治療内容	<内訳>			
	プロスタグランジンE1製剤	5	20%	
	ステロイド	25	100%	
	ビタミン製剤	25	100%	
	循環改善剤	14	56%	
	ATP製剤	21	84%	
その他	3	12%		

表 2 続き

感音難聴の重症度	Grade 1: 40 dB 未満	2	8%
	Grade 2: 40 dB以上60 dB未満	3	12%
	Grade 3: 60 dB以上90 dB未満	8	32%
	Grade 4: 90 dB以上	12	48%
鼓膜所見	異常なし	23	92%
	異常あり	2	8%
外耳／中耳所見	<内訳>		
	発赤	0	0%
	滲出液貯留	0	0%
	穿孔	0	0%
	耳漏	0	0%
	癬痕	1	4%
	陥凹	1	4%
	石灰化	0	0%
	異常なし	24	96%
	異常あり	1	4%
その他鼻咽喉頭所見	<内訳>		
	中耳炎	0	0%
	外耳炎	0	0%
	その他	1	4%
	異常なし	14	56%
その他の耳鼻咽喉科的自覚症状	異常あり	11	44%
	<内訳>		
	発赤	7	28%
	腫脹	5	20%
	分泌物	3	12%
耳閉感	18	72%	
耳鳴り	22	88%	
めまい	10	40%	
その他	3	12%	

表3 主要エンドポイントによる臨床効果の評価

時期	人数	回復以上の人数	割合	95%信頼区間		P値 ¹⁾
				下限	上限	
手術後12週	25	12	48%	28%	69%	0.086
手術後24週	25	14	56%	35%	76%	0.015

1)二項分布に基づく正確な検定, 帰無仮説: 回復以上の割合33%

表4. 平均聴覚閾値の分類

時期	治癒	著明回復	回復	不変	合計
手術後12週	0	1	11	13	25
	(0%)	(4%)	(44%)	(52%)	
手術後24週	0	1	13	11	25
	(0%)	(4%)	(52%)	(44%)	

表5. 治癒の割合

時期	人数	治癒の人数	割合	95%信頼区間	
				下限	上限
手術後12週	25	0	0%	0%	11%
手術後24週	25	0	0%	0%	11%

表6. 著明回復以上の割合

時期	人数	著明回復 以上の人数	割合	95%信頼区間	
				下限	上限
手術後12週	25	1	4%	0%	20%
手術後24週	25	1	4%	0%	20%

表7. 平均聴覚閾値の平均の推移

測定時点	人数		平均	95%信頼区間	
				下限	上限
症例登録前	25	周波数間平均	81.2	71.2	91.1
		0.25 kHz	74.8	65.7	83.9
		0.5 kHz	83.2	72.3	94.1
		1 kHz	85.4	74.7	96.1
		2 kHz	83.8	73.6	94.0
		4 kHz	78.6	66.6	90.6
手術後 12週目	25	周波数間平均	70.0	60.7	79.3
		0.25 kHz	62.6	53.0	72.2
		0.5 kHz	67.0	56.6	77.4
		1 kHz	73.0	62.5	83.5
		2 kHz	75.8	66.6	85.0
		4 kHz	71.6	59.0	84.2
手術後 24週目	25	周波数間平均	69.3	59.8	78.7
		0.25 kHz	62.6	52.8	72.4
		0.5 kHz	66.6	56.0	77.2
		1 kHz	70.8	60.4	81.2
		2 kHz	76.0	66.3	85.7
		4 kHz	70.4	58.0	82.8

(単位: dB)

表8. 経過日数に基づく部分集団の検討

	治癒	著明回復	回復	不変	合計
経過日数21日以内					
手術後12週	0 (0%)	1 (8%)	5 (42%)	6 (50%)	12
手術後24週	0 (0%)	1 (8%)	7 (58%)	4 (33%)	12
経過日数22日以降					
手術後12週	0 (0%)	0 (0%)	6 (46%)	7 (54%)	13
手術後24週	0 (0%)	0 (0%)	6 (46%)	7 (54%)	13

表9. 感音難聴の重症度に基づく部分集団の検討

	治癒	著明回復	回復	不変	合計
Grade 1-3: 90 dB未満					
手術後12週	0 (0%)	1 (8%)	1 (8%)	11 (85%)	13
手術後24週	0 (0%)	1 (8%)	3 (23%)	9 (69%)	13
Grade 4: 90 dB以上					
手術後12週	0 (0%)	0 (0%)	10 (83%)	2 (17%)	12
手術後24週	0 (0%)	0 (0%)	10 (83%)	2 (17%)	12

以上の結果に立脚し、ゼラチンハイドロゲルによる IGF1 内耳投与の急性高度難聴の有効性を検証することを目的とした第Ⅱ相臨床試験の準備を開始した。試験治療、ゼラチンハイドロゲルによる IGF1 内耳投与の対照治療として、最近内外でコンセンサスが得られつつあるステロイド鼓室内投与を用い、ランダム化は行うが、盲見化は手術治療である点を考慮し、行わないことを基本とした。第一に京都大学附属病院の院内製剤であるゼラチンハイドロゲルの他施設への配布が薬事法違反にあたらないかを第Ⅰ－Ⅱ相臨床試験の結果をもとに、厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課に臨床研究を目的とする未承認医薬品・医療機器の提供に係る特別個別相談を行い、薬事法に抵触しないことを確認した。平成21年1月9日に第Ⅱ相臨床試験参加施設の耳鼻咽喉科、薬剤部担当者、京都大学のゼラチンハイドロゲル提供者である京都大学附属病院薬剤部を交えた start-up ミーティングを行い、ゼラチンハイドロゲルの配布、管理方法についての説明、取り決めを行った。平成21年2月18日、3月24日に京都大学附属病院探索医療センターと耳鼻咽喉科頭頸部外科の間でプロトコルに関する委員会を開催し、参加施設耳鼻咽喉科間では、web 上で、プロトコルデザイン、薬物投与方法に関する討論を行った。結果、登録対象症例は、急性高度難聴症例でステロイドの全身投与を受け、厚労省判定基準で不変もしくは初回検査時 Grade 3 以上で

回復にとどまった症例とした。症例登録、割付は、web 上で行い、ランダム化することとした。対照治療は、デキサメサゾン鼓室内投与連続4日間とすることとした。治療効果判定は、投与8週間後とし、12週間の観察期間とすることとした。

以下に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を示す。

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」(UMIN00000936) 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(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、厚生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」(UMIN00000936) 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る、

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%の不適合症例を想定し、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。

以上を骨子とするプロトコルを作成、京都大学大学院医学研究科医の倫理委員会に 2011 年 1 月 26 日承認された。本試験を分担して行う弘前大学、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、九州大学でも、京都大学での倫理委員会承認を受け、申請が行われた。臨床試験における症例登録は、京都大学平成 23 年 3 月 30 日から開始され、平成 23 年 6 月虎の門病院、7 月信州大学、愛媛大学、8 月筑波大学、名古屋市立大学、10 月神戸市立医療センター、12 月九州大学、弘前大学で登録が開始された。

平成 25 年 1 月の段階で、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

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。