

令和元年6月26日現在

機関番号：33920

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10769

研究課題名(和文)新規アディポサイトカイン「オメンチン」の加齢性難聴における役割

研究課題名(英文)Role of a new adipocytokine, omentin in age related hearing loss

研究代表者

谷川 徹 (Tanigawa, Tohru)

愛知医科大学・その他部局等・客員研究員

研究者番号：10367758

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：肥満やアディポサイトカインと加齢性難聴との関係についてはまだまだ不明な点が残されている。本研究では、新規アディポサイトカイン「オメンチン」が内耳保護作用を有するかどうかを検討した。その結果、オメンチン過剰発現マウスでは加齢に伴う聴力低下が抑制され、らせん神経節細胞も比較的保たれていた。オメンチン過剰発現マウスの血管系では4-HNEやiNOS陽性細胞の減少が見られ、血管内皮機能を反映するとされるeNOS陽性細胞は増加していた。さらに、オメンチン過剰発現マウスでは、蝸牛血流量もよく保たれていた。オメンチンは蝸牛血流保護作用と活性酸素生成の抑制により、加齢性難聴の進行を抑制する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

難聴を来した高齢者に対して、補聴器で聞こえを改善させているのが現状である。“ヒトは血管とともに老いる”はOsler博士の有名な言葉である。オメンチンは強力な血管保護作用と抗炎症作用を持つ。しかし、加齢性難聴をはじめとした内耳障害に対する作用については、全く解明されていない。肥満、動脈硬化、オメンチンと内耳障害の関連を明らかにすることにより、加齢性難聴に対する新たな予防手段を提案できる。将来的には、オメンチン受容体を活性化する治療薬を開発することで、加齢や肥満にともなう疾患を克服し、健康長寿の実現につなげることも可能である。

研究成果の概要(英文)：Development of age-related hearing impairment (ARHI) are closely linked with obesity-related complications. Omentin (OMT) exerts protective effects against obesity-related complications including endothelial dysfunction and atherosclerosis. To investigate the potential therapeutic application of OMT, we investigated the effects of OMT on ARHI.

Overexpression of OMT delayed the development of ARHI. Cochlear blood flow also increased in OMT transgenic mice, as did the expression of eNOS in the stria vascularis (SV), which protects vasculature. OMT overexpression also reduced oxidative status as assessed by 4-HNE and iNOS staining.

Our observations indicate that OMT ameliorates age-related hearing impairment by preserving cochlear blood flow and suppressing oxidative stress.

研究分野：耳鼻咽喉科学

キーワード：アディポサイトカイン オメンチン 加齢性難聴 内耳

1. 研究開始当初の背景

高齢化社会の到来とともに、2040年には国民の3人に1人が高齢者となり、この内、40% (1200万人)以上の方が、加齢性難聴(加齢性内耳障害)を発症すると予想される。難聴により外界からの情報を得ることが難しくなることで、高齢者のQOLはさらに低下してしまう。

肥満症もまた年々増加傾向にあり、大きな社会問題となっている。肥満症は高率に糖尿病、高脂血症、高血圧を合併する生活習慣病の重要な発症基盤である。これらの動脈硬化危険因子が蓄積する事により、重篤な心血管疾患(脳梗塞や心筋梗塞)を発症させる。病態の上流には、内臓脂肪の蓄積があり、内臓脂肪の過剰蓄積に基づき糖尿病、高脂血症、高血圧が集積したメタボリックシンドロームの病態は特に注目されている。脂肪組織は単にエネルギーを備蓄する臓器であると考えられてきたが、最近になり脂肪組織はアディポサイトカインと総称される生理活性物質を分泌する内分泌臓器であることが明らかとなっている。内臓脂肪蓄積状態では、生活習慣病を引き起こす様々なアディポサイトカインの産生が増加し、一方で、アディポネクチンなどの生活習慣病に防御的に作用するアディポサイトカインの産生は低下する。

近年、加齢に伴って罹患率が増加する肥満やメタボリックシンドロームが内耳にも悪影響を及ぼし、高齢者の難聴を進行させることがマウスおよびヒトでの検討で明らかになった。若者においても肥満の弊害が聴覚にまで及んでいることや、カロリー制限を行うことで加齢性難聴の進行が抑制しうる可能性などが報告されている。

我々は「内臓肥満に伴うアディポサイトカインの産生異常が、血管障害を引き押し、その結果、難聴を引き起こす」との仮説の元、世界に先駆けて、アディポネクチン(APN)と加齢性難聴との関連を報告した(Cell Death Dis. 2014)。具体的には、(1)難聴群では聴力正常群と比べAPN濃度が有意に低下していた(2)APN遺伝子欠損マウスでは、野生型マウスと比べて、聴力低下を認めた(3)APN遺伝子欠損マウスは、蝸牛血流や血管条の血管密度の低下を認め、血流不全により有毛細胞がアポトーシスをきたしていた。また、6か月齢になると有毛細胞の脱落やラセン神経節細胞の細胞密度低下も認められた。(4)さらに、APNの補充は、内耳の血流低下に伴う聴力低下をマウスレベルで改善し得た。このことは肥満に伴うアディポサイトカインの産生異常が加齢性難聴の病態解明と予防や治療法の開発に非常に重要であることを示唆している。

我々は、数年前より機能未知であるアディポサイトカインの同定と機能解析に関わる研究プログラムを開始し、ヒト内臓脂肪に高発現しているクローンを見だし解析を行った。このクローンは分泌蛋白をコードするレクチンの一種であるオメンチンと同一であった。オメンチンは内臓脂肪に高発現しており、肥満者や糖尿病患者において、その血中濃度が低値を示すことが報告されている。申請者らは、メタボリックシンドロームの構成因子の数が多いほどオメンチン血中濃度が減少していること、オメンチンの血中濃度が、動脈硬化のサロゲートマーカーである頸動脈内中膜複合体厚度(IMT)と逆相関関係を示し、冠動脈疾患患者で有意に低下している事を見いだした(Diabetol Metab Syndr 2012, Hypertens Res 2011, Atherosclerosis 2011)。血管内皮細胞では、オメンチンタンパクの添加が管腔形成能促進やAkt/eNOSの活性化を引き起こす事、オメンチン過剰発現が、マウス下肢虚血モデル作成後の血管新生増強作用を示すことを明らかとした(J Biol Chem. 2012)。このことは、低オメンチン血症が、動脈硬化をはじめとした血管障害を促進する可能性を示唆している。

2. 研究の目的

本研究では、新規アディポサイトカイン「オメンチン」が内耳保護作用を有するかどうかを検討することを目的とした。そのためには、オメンチン過剰発現トランスジェニックマウス(OMT-TGマウス)と対象動物の聴覚閾値と組織学的な解析を行う。さらに蝸牛の血流量の違いについても検証する。

3. 研究の方法

1) 実験動物

C57BL/6Jマウス(WTマウス)とオメンチン過剰発現トランスジェニックマウス(OMT-TGマウス)を用いた。

2) 聴力測定

聴覚閾値変化の測定にはABR(Auditory Brainstem Response)を用いた。刺激音には8, 16, 32kHzのトーンバースト音を用い、刺激音を5dBステップとし、512回加算した。

3) 蝸牛血流の測定

レーザードップラー流量計には、OMEGA FLOW(Neuroscience, Tokyo, Japan)を用いた。蝸牛骨胞を露出後、粘膜および骨膜を除去し、プローブ(GJタイプ)を蝸牛の基底回転上に当て、蝸牛血流量を60秒間、測定した。

4) 蝸牛形態の観察

4% PFAで還流固定後に側頭骨を摘出。脱灰後に凍結し、クライオスタットで、厚さ7μmの切片を作成した。その後、H-E染色に加えて下記の組織学的検討を行い、光学顕微鏡で観察した。使用抗体は以下の通りである。

一次抗体：抗 4-Hydroxy-2-nonenal (4-HNE) ウサギポリクローナル抗体 (ALPHA DIAGNOSTIC 社)、抗 iNOS ウサギポリクローナル抗体 (メーカー名: abcam)、抗 eNOS ウサギポリクローナル抗体 (メーカー名: Thermo scientific 社)。

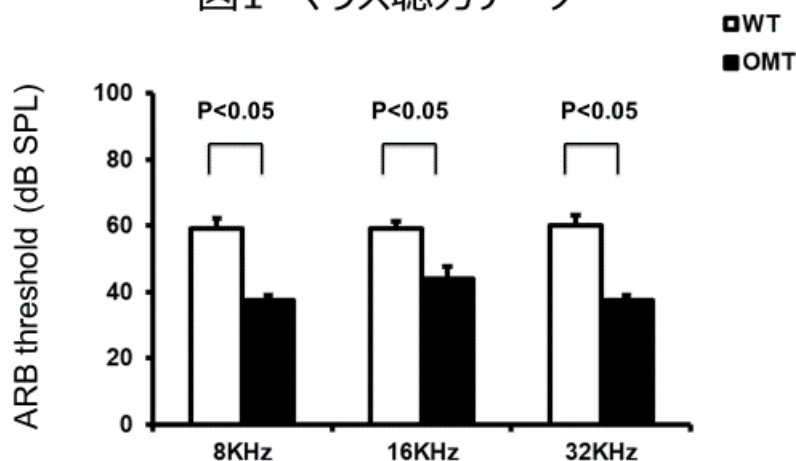
二次抗体：ニチレイバイオサイエンス、ヒストステイナー用、シンプルステインマウス MAX-P0 (R) (414341)

4. 研究成果

1) OMT-TG マウスの聴覚閾値

18ヶ月齢における聴覚閾値を WT マウスと ABR で比較した。OMT-TG マウスでは、8, 16, 32kHz すべての周波数において加齢に伴う聴力低下に対して抑制効果 ($p < 0.05$) が見られた (図 1)。

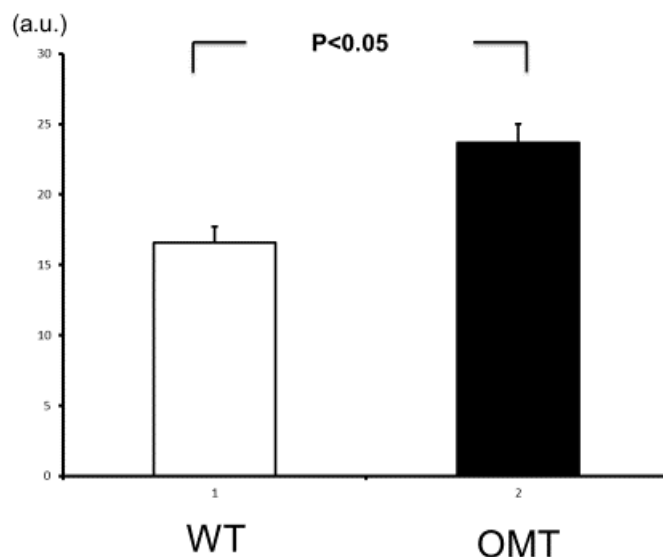
図1 マウス聴力データ



2) OMT-TG マウスの蝸牛血流測定

18ヶ月齢における蝸牛血流を WT マウスと比較した。OMT-TG マウスでは、WT マウスに比べて蝸牛血流量が保たれていた ($p < 0.05$) (図 2)。

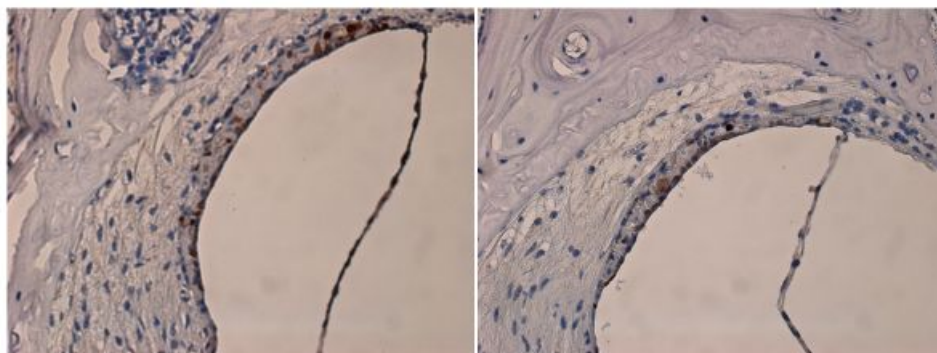
図2 蝸牛血流量の比較



3) 組織学的検討

OMT-TG マウスでは、WT マウスに比べ、4-HNE (図3) や iNOS 陽性細胞数の減少 (図4) が見られ、血管内皮機能を反映するとされる eNOS 陽性細胞が、増加していた (図5)。オメンチン過剰発現マウス (加齢) のラセン神経節はWT マウスに比較して比較的よく保たれており (図6 矢印)、この結果はA B Rでの結果と一致していた。

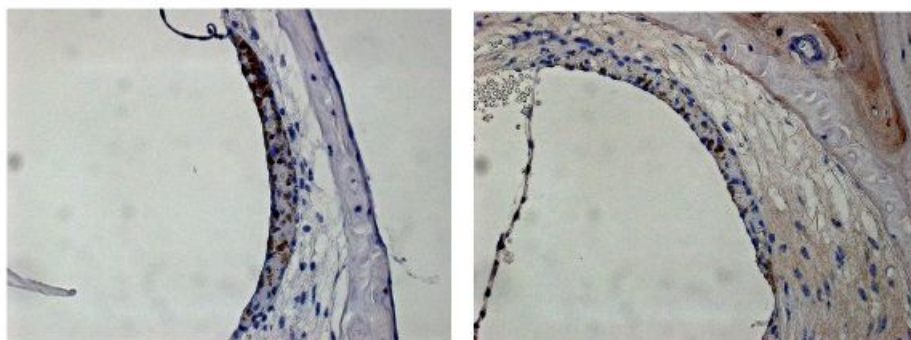
図3 4-HNE 染色



WTマウス

OMT-TGマウス

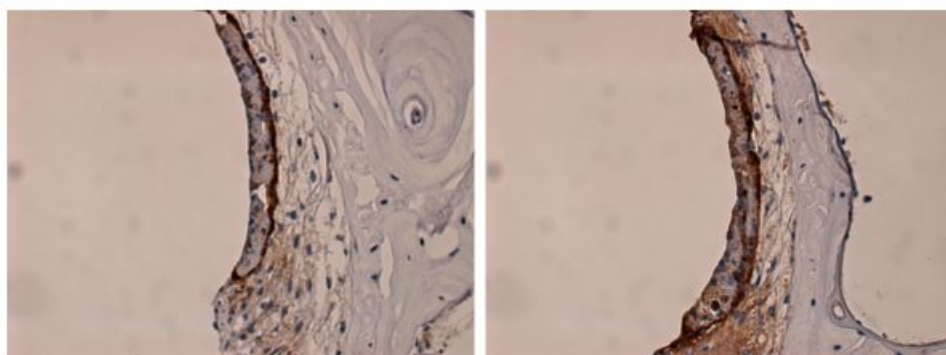
図4 iNOS 染色



WTマウス

OMT-TGマウス

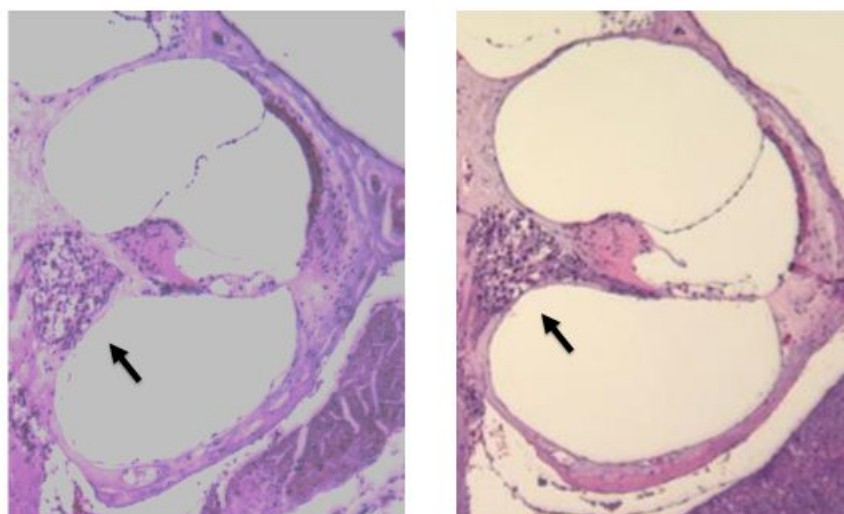
図5 eNOS 染色



WTマウス

OMT-TGマウス

図6 組織学的検討



WTマウス

OMT-TGマウス

以上より、オメンチン内耳保護のメカニズムとして、加齢性動脈硬化に伴う内耳の血流低下を予防する可能性が考えられた。血流低下の予防は、酸化ストレス反応を抑制し、最終的にラセン神経節細胞を保護し、聴力低下を予防する。オメンチンは加齢性内耳障害の進行予防に対する新たな標的分子となる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計8件)

1. [Tanigawa T](#), [Shibata R](#), Kondo K, Katahira N, Kambara T, Inoue Y, Nonoyama H, Horibe Y, Ueda H, Murohara T. Soybean β -Conglycinin prevents age-related hearing impairment. PLoS One. 2015;10:e0137493. (査読有)

2. [Tanigawa T](#), [Shibata R](#), Tanaka H, Goshō M, Katahira N, Horibe Y, Nakao Y, Ueda H. Usefulness of three-dimensional fluid-attenuated inversion recovery magnetic resonance imaging to detect inner-ear abnormalities in patients with sudden sensorineural hearing loss. J Laryngol Otol. 2015;129:11-5. (査読有)

3. Nonoyama H, Tanigawa T, Shibata R, Nakao Y, Horibe Y, Katahira N, Nishimura K, Murotani K, Murohara T, Ueda H. Red blood cell distribution width predicts prognosis in idiopathic sudden sensorineural hearing loss. Acta Otolaryngol 2016;136:1137-1140. DOI: 10.1080/00016489.2016.1195919. (査読有)
4. Nonoyama H, Tanigawa T, Shibata R, Tanaka H, Katahira N, Horibe Y, Takemura K, Murotani K, Ozeki N, Ueda H. Investigation of the ototoxicity of gadoteridol (ProHance) and gadodiamide (Omniscan) in mice. Acta Otolaryngol 2016;136:1091-1096. DOI: 10.1080/00016489.2016.1193892. (査読有)
5. 谷川 徹【研修医のための当直マニュアル】症状からみた救急疾患の診断と治療の手順 めまい . JOHNS 33, 287-290, 2017. (査読無)
6. Nakao Y, Tanigawa T, Murotani K, Yamashita JI. Foreign bodies in the external auditory canal: Influence of age on incidence and outcomes in a Japanese population. Geriatr Gerontol Int, 17: 2131-2135, 2017. (査読有)
7. Nakao Y, Tanigawa T, Shibata R. Human otoacariasis caused by Amblyommastudinarium: Diagnosis and management: Case report. Medicine (Baltimore), 96: e7394, 2017. (査読有)
8. Kuruma T, Tanigawa T, Uchida Y, Ogawa T, and Ueda H. Large Cholesterol Granuloma of the Middle Ear Eroding into the Middle Cranial Fossa. Case Rep Otolaryngol, 2017: 4793786, 2017. (査読有)

[学会発表](計2件)

1. 谷川 徹:耳鼻咽喉科におけるアンチエイジング 第168回 日本耳鼻咽喉科学会東海地方部会連合会(領域講習) 愛知 2017.3.5
2. 谷川 徹:耳鼻咽喉科におけるアンチエイジング 広島大学耳鼻咽喉科 大学院特別演習 広島 2018.11.29

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名:大内 乗有
ローマ字氏名:OUCHI, noriyuki
所属研究機関名:名古屋大学
部局名:医学(系)研究科(研究院)
職名:教授
研究者番号(8桁):00595514

研究分担者氏名:柴田 玲
ローマ字氏名:SHIBATA, rei
所属研究機関名:名古屋大学
部局名:医学(系)研究科(研究院)
職名:教授
研究者番号(8桁):70343689

(2)研究協力者 なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。