

令和 2 年 4 月 9 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K20257

研究課題名（和文）MNAMを介するSirt1安定化メカニズムによる加齢性難聴発症予防

研究課題名（英文）Prevention of age-related hearing loss through Sirt1 stabilization via MNAM

研究代表者

草場 雄基 (Kusaba, Yuki)

熊本大学・病院・非常勤診療医師

研究者番号：70648592

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：Sirt1を安定化すると報告されているMNAM投与実験を行う前に、至適濃度決定実験を行った。

その後、コントロール群、MNAMを混合した食餌を与えたMNAM投与群において、聴性脳幹反応測定を行った。MNAM投与群で、難聴進行を予防する効果を認めた。

各群において、加齢による蝸牛におけるSirt1発現を確認し、コントロール群でSirt1発現が低下する所見を認め、MNAM投与群においてはSirt1の発現が保たれており、これが難聴発症抑制に効果を及ぼしていると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新しいSirt1安定化メカニズムを惹起する薬剤を用いて加齢性難聴を予防することを可能とした。今後、ヒトに応用されれば加齢性難聴発症を予防できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Age-related hearing loss was prevented in the MNAM group compared to control group.

Sirt1 expression was reduced in the control group compared to MNAM group. Sirt1 expression was prevented from the decrease in MNAM group.

研究分野：加齢性難聴

キーワード：加齢性難聴 Sirt1 MNAM

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

脱アセチル化酵素である Sirt1 は細胞の老化において極めて重要な役割を担っている。従来、NAD を介する Sirt1 の活性化が Sirt1 の持つ様々な生理機能の発現に重要であると考えられていたが、最近、MNAM (N1-methylnicotinamide) を介する Sirt1 タンパクの安定化が、Sirt1 の機能発現に重要であることが報告された (Hong S, et al. Nature medicine 2015)。そこで、本研究では、この MNAM を介する Sirt1 安定化メカニズムに着目し、MNAM 投与による Sirt1 タンパクの安定化メカニズムによる加齢性難聴発症の抑制の可能性について検討を行う。加齢に伴う難聴は、認知機能低下、うつ病発症のリスクなどを増加させることが明らかとなっており、高齢化が急速に進行する我が国において、加齢性難聴の発症防止、治療法の開発は、国民の QOL、医療費の削減の面からも喫緊の課題である。本研究により、現在補聴器装用以外に有効な治療法がない加齢性難聴に対する新たな予防法の確立、ひいては治療法の確立にも大きく貢献できると考えている。

### 2. 研究の目的

ごく最近新たに明らかとなった MNAM を介する Sirt1 タンパクの安定化に着目し、このメカニズムを介する加齢性難聴の治療法開発の可能性を探る。

### 3. 研究の方法

加齢性難聴モデルとして実験に頻用される C57BL/6 マウスを用い、加齢性難聴発症前マウスに対して、MNAM 含有飼料を 6 か月間投与し、これにより加齢性難聴の発症が防止されるかどうかを検討した。

1. 至適 MNAM 含有飼料の決定: 1 ヶ月齢の加齢性難聴モデルマウス (C57BL/6 マウス) に対して、様々な濃度で MNAM 含有する飼料を 1 か月投与する。その後、蝸牛における Sirt1 の mRNA とタンパクの発現量を ELISA 法、Real timePCR 法にて測定した。

\*コントロールとして、MNAM を含有しない飼料を投与する群を作成した。飼料摂取量の影響を除くために、各個体毎の飼料摂取量と体重を記録した。

2. 聴力評価: 投与前、投与終了後 (経時的) に評価を行った。聴覚については聴性脳幹反応検査 (ABR) を用いて評価した。

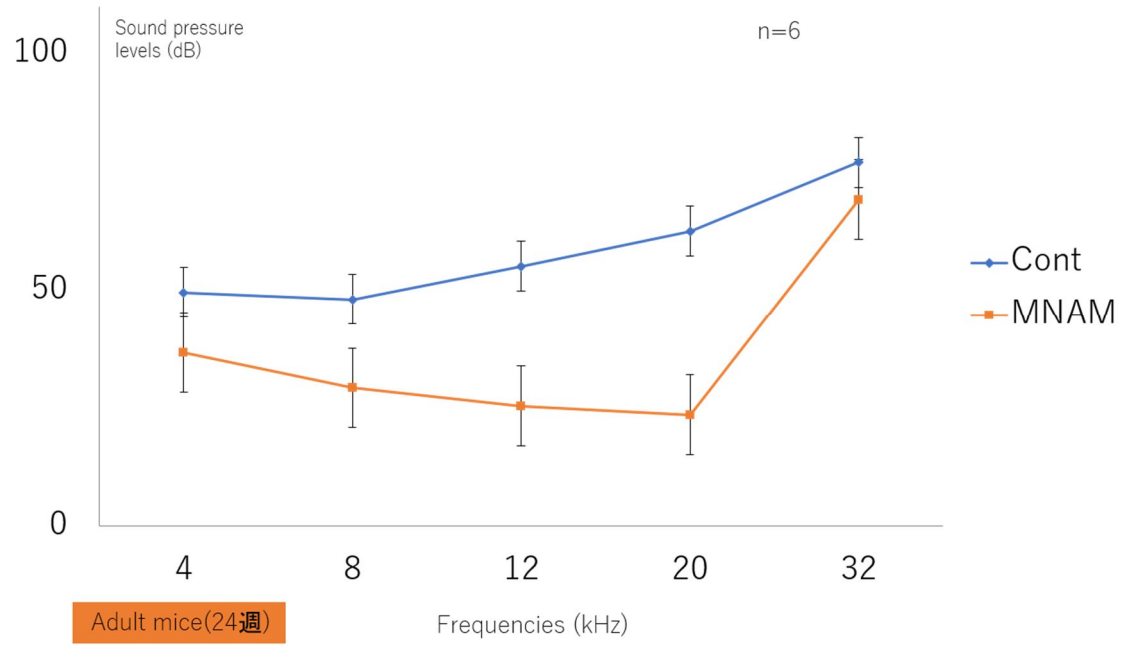
形態学的評価: 最終機能評価後にマウスを安楽死させ、蝸牛を摘出、脱灰、凍結切片を作成後、ラセン神経節細胞のマーカーである抗 TUJ1 抗体を用いて免疫染色を行い、ラセン神経節細胞数のカウントを回転別に行う。また、有毛細胞についても、実体顕微鏡下にコルチ器を採取、ローダミン・ファロイジン染色を行ったあと、回転別に内・外有毛細胞数についてカウントを行った。

### 4. 研究成果

蝸牛組織を処理し、Sirt1 発現を蛋白質レベル、mRNA レベルで確認することで至適 MNAM 含有飼料を決定した。その後、経口的に加齢性難聴モデルマウス (C57BL/6 マウス) に対して、試料に混合した MNAM を 6 か月間投与し、加齢性難聴発症に対する防止効果について聴性脳幹反応 (ABR) を用いて検討を行ったところ、MNAM を投与した群では投与していない群と比較して、有意に難聴発症が抑制されていることが明らかとなった (図)。MNAM を投与していない群では Sirt1 発現が蛋白質レベルで低下していたのに対し、MNAM を投与した群では Sirt1 発現が低下しないことがわかった。

図 (次頁): MNAM 投与群とコントロール群での 6 か月時点での聴力比較

MNAM 投与群では聴力閾値の上昇が認められておらず、難聴発症が抑制されていることを示す。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 三輪 徹
2. 発表標題 MNAMを介するSirt1安定化メカニズムによる加齢性難聴発症予防
3. 学会等名 第15回内耳研究会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----