

令和 2 年 5 月 18 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16905

研究課題名(和文) 糖尿病モデルマウスを用いた糖尿病性聴覚障害、前庭機能障害の横断的検討

研究課題名(英文) Examination of diabetic hearing impairment and vestibular dysfunction using diabetic model mice

研究代表者

杉本 賢文 (SUGIMOTO, SATOFUMI)

名古屋大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30759668

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：糖尿病モデルマウスには、C57BL6/J系統マウスに高脂肪食を投与した(high fat diet; HFD)マウスとob/obマウスを用い、約5ヶ月間、前庭誘発筋電位(VEMP)、聴性脳幹反応(ABR)、歪成分耳音響放射(DPOAE)を経時的に測定した。対象群と比較しHFD群のDPOAEの成績は8 kHz, 12 kHz, 16 kHzの周波数で有意に改善し、ABRの結果も同様に12 kHz, 16 kHzの周波数で有意に改善した。一方、ob/obマウスではHFDマウスが示したような傾向は認めなかった。VEMPでは、HFDマウス及びob/obマウスは対象群と比較し、有意な差を認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

HFD投与よりC57BL6/J系統の野生型マウスのABRの成績が改善したと報告されているが、DPOAEとVEMPはまだ報告例がなく、本研究により、HFDマウスのDPOAEとVEMPの基礎データが初めて得られた。HFDマウスのDPOAEの成績が有意に改善された原因としては、正常食よりもHFDに多く含まれるビタミンEなどの成分が関与している可能性が考えられた。また、本研究のVEMP測定の結果から、少なくとも今回用いたHFDマウス及びob/obマウスでは、前庭機能障害が誘発されない事が示唆された。今後は、例数を増やすと共に、他の糖尿病モデルマウスの測定も実施して、慎重に検証を重ねる予定である。

研究成果の概要(英文)：As diabetic model mice, we used HFD mice which were C57BL6 / J mice given high fat diet and ob/ob mice. We had performed vestibular evoked myogenic potential (VEMP), auditory brainstem response (ABR) and distortion component otoacoustic emission (DPOAE). Compared to the control group, DPOAE amplitudes in the HFD group were significantly improved at frequencies of 8 kHz, 12 kHz, and 16 kHz, and ABR results were also significantly improved at frequencies of 12 kHz and 16 kHz. On the other hand, ob / ob mice did not show the same tendency as HFD mice showed. In VEMP, no significant difference was observed among the HFD mouse, the ob / ob mouse and the control group.

研究分野：耳科学

キーワード：糖尿病 聴力 前庭機能 ABR VEMP

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

糖尿病の有病者数は全世界で4億人を超え、予備群を含めると国内に約2000万人存在すると推定されており、健康寿命に大きな影響を与えている。糖尿病の合併症としては、糖尿病網膜症、糖尿病腎症、糖尿病神経障害の三大合併症が有名であるが、糖尿病は合併症として難聴を来たし (Bainbridge et al. *Diabetes Care* 2011) 身体の動揺性も悪化すること (Giacomini PG, et al. *Diabetes Care* 1996) を、各国の研究者らが報告している。糖尿病の有病率を考えると、多数の患者が、糖尿病に合併する難聴、ふらつき、めまいを有していると考えられる。

糖尿病性聴覚障害に関しては、糖尿病モデル動物を用いた基礎研究が進められており、蝸牛の微小血管障害や聴神経障害などが原因として想定されているが、治療法や予防法は確立していない。糖尿病性前庭障害に関しては、生理学的にモデル動物の前庭機能を評価することが難しく、研究が進んでいなかったが、近年、マウスに対する非侵襲的な前庭誘発筋電位 (VEMP) 測定方法が考案され (Sheykholeslami et al. *Otol Neurotol* 2010) 前庭機能の経時的な生理学的評価可能となり、糖尿病性前庭機能障害解明のため評価が望まれていた。

内耳には聴覚系の重要器官である蝸牛と、平衡系の重要器官である前庭・半規管が共存し、聴神経という中枢への伝達路を共有するため、聴覚と平衡機能との関連性は深い。解剖学的観点以外にも、難聴は重心動揺性のリスク因子であるとの報告もあり (Sprince et al. *Am J Ind Med* 2003) 糖尿病性聴覚障害と糖尿病性前庭障害の間には関連性が予測され、双方を横断的に評価することは重要である。

2. 研究の目的

糖尿病モデルマウスを用いて、前庭誘発筋電位 (VEMP) 聴性脳幹反応 (ABR) および歪成分耳音響放射 (DPOAE) 測定を経時的に実施し、糖尿病に合併する聴覚障害と前庭機能障害の進行経過を横断的に明らかにすることが本研究の目的である。

3. 研究の方法

C57BL/6J 系統マウスを対象に高脂肪食 (HFD32, 日本クレア) を投与し、糖尿病を誘導した。対照群には正常食 (CE-2, 日本クレア) を与えた。本研究ではレプチンに変異をもつ肥満モデルマウスの ob/ob マウスも用いた。体重は1週間毎に、血糖値は2週間毎に測定した。聴力評価として聴性脳幹反応 (ABR) 歪成分耳音響放射 (DPOAE) 測定を実施し、平衡機能評価として前庭誘発筋電位 (VEMP) を測定した。統計的有意差は、one-way repeat measure ANOVA, Dunnett テストにより検定し、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

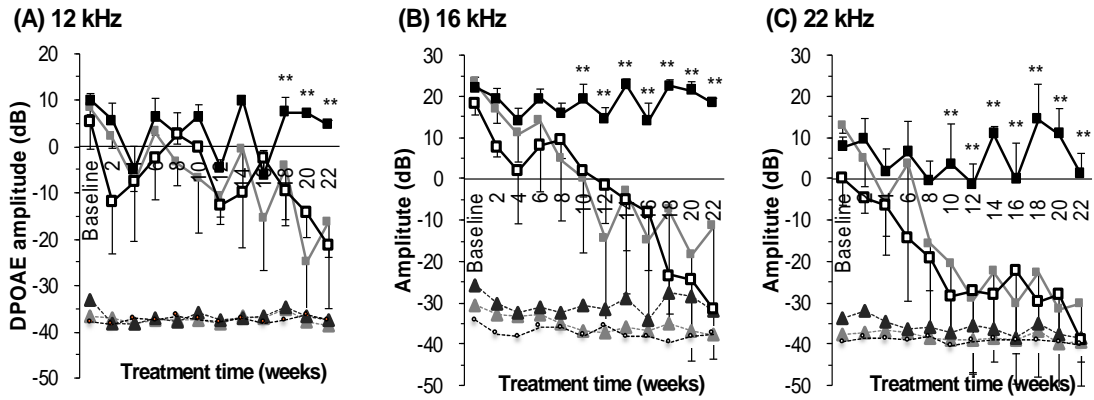
4. 研究成果

2型糖尿病モデルマウスとして、C57BL6/J 系統の野生型マウスに高脂肪食を投与した (high fat diet; HFD) マウスを用いた。約5ヶ月間、体重と血糖値を経時的に測定した所、対象群と比較し HFD 群では、体重、血糖値双方が共に有意に増加した。また、レプチンに変異をもつ肥満モデルマウスで糖尿病を誘発する ob/ob マウスも用いた。ob/ob マウスは既に報告されているように4-6週齢で高血糖状態を呈した。

約5ヶ月間、DPOAE と ABR を経時的に測定した所、対象群と比較して、HFD 群の DPOAE の成績は 8 kHz, 12 kHz, 16 kHz の周波数で有意に改善した (図1)。ABR の結果も同様に、12 kHz と 16 kHz の周波数で有意に改善した。一方、ob/ob マウスでは、HFD マウスが示したような傾向は認められなかった。VEMP については、HFD マウス及び ob/ob マウスは、対象群と比較して、有意な差は認めなかった (図2)。

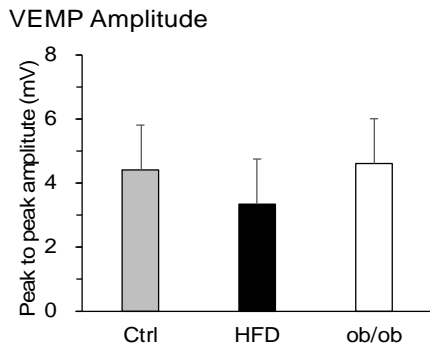
HFD 投与より C57BL6/J 系統の野生型マウスの ABR の成績が改善したと報告されているが (Fujita et al., *PLoS ONE* 2015) DPOAE と VEMP はまだ報告例がなく、本研究により、HFD マウスの DPOAE と VEMP の基礎データが初めて得られた。上記の論文によると、正常餌と比較して、HFD にはビタミン E が多く含まれている事が示されている。コルチ器の器官培養実験を実施した過去の論文では、シスプラチンで耳毒性を誘導した実験系でビタミン E の添加により外有毛細胞がレスキューされている (Kalkanis et al., *Laryngoscope* 2004)。DPOAE は外有毛細胞の活性を反映するので、HFD マウスの DPOAE の成績が有意に改善されたのは、正常食よりも HFD に多く含まれるビタミン E などの成分が関与している可能性がある。本研究では、糖尿病を誘発するマウスとして ob/ob マウスも用いたが、対照群と比較して、ABR、DPOAE あるいは VEMP の有意な成績低下は観られなかった。また、本研究の VEMP 測定の結果から、少なくとも今回用いた二つの糖尿病モデルマウスでは、前庭機能障害を誘発しない事が示唆された。今後は、例数を増やすと共に、他の糖尿病モデルマウスの測定も実施して、慎重に検証を重ねる予定である。

図1 糖尿病モデルマウスの DPOAE の推移



HFD マウス (黒四角)、ob/ob マウス (白四角) と対象群 (灰四角) の (A) 12 kHz、(B) 16 kHz と (C) 22 kHz の DPOAE (実線、means \pm SD) の推移。各群 4 匹のマウスを用いた。点線は各群のバックグラウンドレベルを示す。各群の統計的有意差 (**p < 0.01) は one-way repeat measure ANOVA、Dunnett テストにより解析した。

図2 糖尿病モデルマウスの VEMP 測定



HFD マウス (黒)、ob/ob マウス (白) と対象群 (灰) の VEMP (means \pm SD) を示す。各群 4 匹のマウスを用いた。One-way repeat measure ANOVA、Dunnett 検定により解析した所、有意な差は認めなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 前庭刺激装置、めまい治療装置、健康促進装置	発明者 加藤昌志、大神信 孝、首根三千彦、杉 本賢文	権利者 名古屋大学
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2019/021688	出願年 2019年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----