

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592548

研究課題名(和文) RNA干渉法による血液内耳関門の薬物透過性の調節

研究課題名(英文) Regulation of drug permeability of the blood-inner ear barrier by RNA interference method

研究代表者

谷本 均 (Tanimoto, Hitoshi)

神戸大学・医学(系)研究科(研究院)・研究員

研究者番号：50362786

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：RNA干渉法によって血液-内耳関門の構成蛋白質の転写を抑制し、マウスの血液-内耳関門バリア機構を調整する。血液-内耳関門バリア機構を調整したマウスに対し、経静脈的に薬剤を全身投与し、内耳に薬剤が到達していることを証明する。巨大音響外傷を与え音響外傷モデル作成し、血液-内耳関門の主要蛋白であるclaudin-5転写の抑制RNA干渉剤を経静脈的に投与する。その後、内耳障害細胞再生を目的に神経保護剤として脳由来神経栄養因子(BDNF)を経静脈的に投与する。そしてコントロールマウスとを形態学的、電気生理学的比較を行った。

研究成果の概要(英文)：By RNA interference method, it is possible to suppress the transcription of protein structure of the blood-inner ear barrier, and to adjust the blood-inner ear barrier barrier mechanism. For the mouse to adjust the blood-inner ear barrier barrier mechanism, intravenous drug to the systemic administration, we want to prove that the drug has reached the inner ear. It is acoustic trauma modeling gives a huge acoustic trauma, and is administered inhibit RNA interference agent through the intravenous of which is the main protein claudin-5 transcription of the blood-inner ear barrier. Then, intravenously to be administered through the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) as a neuroprotective agent for the purpose of inner ear disorder cell regeneration. And a control mouse morphological, we went electrophysiological comparison.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：内耳 血液-内耳関門 感音難聴 RNA干渉

### 1. 研究開始当初の背景

血液-脳関門は血液中の薬剤から脳、中枢神経を保護する働きをしているが、それと同様に血液-内耳関門は血液中に投与した薬剤の内耳への伝達を阻害している。内耳にとって有害な薬剤から内耳を守る働きをする一方で、内耳機能回復のための薬剤の内耳到達を阻害してしまう。

### 2. 研究の目的

RNA 干渉法によって血液-内耳関門の構成蛋白質の転写を抑制し、マウスの血液-内耳関門バリア機構を分子量選択的、一時的、可逆的に調整する。

### 3. 研究の方法

血液-内耳関門バリア機構を調整したマウスに対し、経静脈的に薬剤を全身投与し、内耳に薬剤が到達していることを証明する。C57BL/6 マウスを使用して、巨大音響外傷を与え音響外傷モデル作成する。その後、血液-内耳関門の主要蛋白である claudin-5 転写の抑制 RNA 干渉剤を経静脈的に投与する。RNA 干渉法はその 48 時間後に内耳障害細胞再生を目的に神経保護剤として脳由来神経栄養因子 Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) を経静脈的に投与する。そして claudin-5 転写抑制する干渉 RNA の代わりに生食を経静脈的投与後、BDNF を経静脈的に投与したコントロールマウスとを内耳免疫蛍光染色、聴性脳幹反応を用いて、形態学的、電気生理学的評価を行った。

さらに claudin-5 転写の抑制 RNA 干渉の効果をもより明確な形でとらえる目的で、音響外傷の治療効果ではなく、claudin-5 転写抑制する干渉 RNA と BDNF の投与を音響外傷前に先行、予防効果の検討を行っている。分子量の小さい薬剤が受動的に血液-脳関門を通過できるとされているため、分子量の違う神経保護剤を使用し検討した。

### 4. 研究成果

ストレプトゾトシン誘発 I 型糖尿病モデルマ

ウスでコントロールマウスと比較して、CD31 免疫染色を用いて加齢に伴う蝸牛軸の組織学的変性を認めた。音響負荷での難聴発生後の遷延、組織学的にラセン神経節細胞死増加を確認した。レーザードプラー計を用いて蝸牛血流低下を認めた。糖尿病マウスでの内耳易障害性を明らかにした。

聴神経腫瘍の術後合併症中で、平衡機能障害は術前の平衡障害、その代償と術後の機能回復、代償が加わり評価が難しいが、聴神経腫瘍術前後の平衡機能について前向き研究を行った。一側聴神経腫瘍を後頭蓋窩法で手術を行った患者で、術前の温度刺激検査で反応の保たれている患者では術前に比べて術後 1 週で有意に機能低下し、術後 3 カ月で回復した。また年代別に検討すると 50、60 歳代では術後 6、9 カ月まで機能低下が続いた。高齢であるほど、術後平衡機能障害が強いことを明らかにした。

川崎病の治療ではアスピリンが使用されるが、日米ではアスピリン使用量が異なる。アスピリンの副作用で起こる感音難聴発生頻度がアスピリン使用量の少ない日本ではアメリカに比べて低いことを示唆した。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

1. T Fujita, D Yamashita, S Katsunuma, S Hasegawa, H Tanimoto, K Nibu, Increased Inner Ear Susceptibility to Noise Injury in Mice With Streptozotocin-Induced Diabetes, *Diabetes*, 2012, 61, 2980-2986

2. H Tanimoto, H Shinomiya, R Yasui, H Sakamoto, Sensorineural Hearing Loss Associated with Kawasaki Disease, *Otolaryngology online Journal*,

2014, 4, 119-125

3. 高橋 美貴, 竹本 菜保子, 佐野 彩香,  
木内 亮平, 松澤 洋子, 佐竹 久美子, 濱田  
康弘, 谷本 均, 齋藤 幹, 大月 直樹, 丹生  
健一, 宇佐美 眞

中咽頭癌に対する同時併用化学放射線療法  
における経皮内視鏡的胃瘻造設術の有用性  
についての検討

頭頸部癌, 2012, 38, 336-342

4. 岩田 健太郎, 谷本 均

エイズ症例に観察された外耳道炎の1例

日本エイズ学会誌, 2013, 15, 16-17

5. 米澤 宏一郎, 森本 浩一, 山下 大介,  
谷本 均, 齋藤 幹, 大月 直樹, 清田 尚臣,  
佐々木 良平, 丹生 健一

頸部リンパ節転移を認めた原発不明悪性黒  
色腫の2例

頭頸部癌, 2013, 39, 72-76

[学会発表](計 5 件)

1. 山下大介, 藤田 岳, 土井清司, 長谷川  
信吾, 谷本 均, 大月直樹, 丹生健一

色素性乾皮症における聴覚障害の検討

第 113 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演  
会、2012.5.11、新潟市

2. 上原奈津美、谷本 均、西川 匡、土井清  
司、勝沼紗矢香、丹生健一、聴神経腫瘍術前  
後の平衡機能障害と代償、第 114 回日本耳鼻  
咽喉科学会総会・学術講演会、2013.5.16、  
札幌市

3. 藤尾久美、橋本有里子、黒木俊介、土井  
清司、長谷川信吾、谷本 均、大月直樹、寺  
本保二、丹生健一、嗅覚障害を初発症状とし  
たパーキンソン病の一例、第 114 回日本耳鼻

咽喉科学会総会・学術講演会、2013.5.16、  
札幌市

4. 高橋 美貴, 竹本 菜保子, 佐野 彩香,  
木内 亮平, 松澤 洋子, 脇田 久美子, 濱田  
康弘, 谷本 均, 齋藤 幹, 大月 直樹, 丹生  
健一, 宇佐美 眞

中咽頭癌に対する同時併用化学放射線療法  
における経皮内視鏡的胃瘻造設術の有用性  
についての検討

第 28 回日本静脈経腸栄養学会学術集会、  
2013.2.21、金沢市

5. 堅田敬太、谷本均、明松智俊、周産期に  
増悪した鼻副鼻腔異所性骨形成症例、第 1 7  
9 日本耳鼻咽喉科学会兵庫県地方部会学術  
講演会、2015.3.29、姫路市

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

谷本 均 (Hitoshi Tanimoto)

神戸大学・医学(系)研究科(研究院)・  
研究員

研究者番号：50362786

### (2) 研究分担者

大月 直樹 (Naoki Otsuki)

神戸大学・医学(系)研究科(研究院)・  
准教授

研究者番号：40343264

山下 大介 (Daisuke Yamashita)

神戸大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：60306785

勝沼 紗矢香 (Sayaka Katsunuma)

神戸大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80457043

藤田 岳 (Takeshi Fujita)

神戸大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90533711

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：