

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 5 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26861414

研究課題名(和文) マウスを用いた加齢性耳鳴の検討

研究課題名(英文) tinnitus in aging model mice

研究代表者

大石 直樹(Oishi, Naoki)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師

研究者番号：10348740

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：CBA/Jマウスにおける加齢性難聴に付随する耳鳴をGap Detection Test(以下GDT)によって評価した。同一検体を用いて緩徐な加齢性難聴に伴う耳鳴の評価を経時的に行った。CBA/Jマウスを生後9ヶ月から20ヶ月まで経過観察し、聴力低下は認められた上で24kHzにgapによる予告刺激の抑制度合いに有意差が生じた。つまり、24kHzの耳鳴が検出された。今後はより大規模で均一な実験系で耳鳴の一定な評価を得ることで、急性難聴モデルと慢性難聴モデルでの耳鳴発生の差異を明らかにし、耳鳴の治療などにつながっていくことが期待される。

研究成果の概要(英文)：Tinnitus in aging model mice was evaluated by gap detection test (GDT). Tinnitus accompanied by presbycusis was accessed prospectively and individually in CBA/J mice. The hearing level and GDT were measured periodically from the age of 9 months to 20 months. The hearing level deteriorated according to their age and tinnitus at 24 kHz was detected by GDT at the age of 20 months. These results are expected to lead to the finding of therapy on tinnitus followed by chronic hearing loss such as aging.

研究分野：耳科学

キーワード：耳鳴 加齢

1. 研究開始当初の背景

日本国内には推定500万人以上の耳鳴患者がいると推測されており、根治的治療法のない現在、多くの患者が治療法を求めてドクターショッピングを繰り返している。

ヒトは高齢になると生理的に難聴になり、それに付随して耳鳴も生じる。本邦では45~79歳において11.9%が耳鳴を訴えており、0.4%が耳鳴により日常生活に支障をきたしているといわれている。また、性差関係なく高齢になるほどその有病率も上昇し、慢性耳鳴では特に60-69歳の層が14.3%を占めておりピークになっているという報告もある。

現在、世界中で耳鳴研究競争が激化しつつあるが、もっとも臨床でみられる加齢性耳鳴（加齢性難聴に伴う耳鳴）に関する動物実験モデルの報告は数少ない。いくつか見られるすべての報告は、加齢性難聴が早期に出現するAHL遺伝子を持つマウスを用いている。AHL遺伝子による加齢性難聴は生理的な加齢性難聴とは異なるため、いままでの報告は生理的な加齢性耳鳴の病態生理に残念ながら迫ることができていない。そのため、多くの患者が苦しむ加齢性耳鳴に対する根治的治療の開発に迫る研究はいままで存在しなかった。

一方で、生理的な加齢性難聴を来すモデルマウスは、難聴を来すまでに1年以上の時間がかかり、多大な労力、時間が必要となる。加齢性耳鳴の出現も、早期難聴モデルマウスに比べてより時間がかかることが予想される。しかしながら、実地臨床における加齢性耳鳴の頻度の多さを考えれば、より自然な加齢性耳鳴動物モデルの作成は、病態生理の解明および治療法の開発に必須であるといえる。

2. 研究の目的

加齢性難聴に伴う耳鳴（加齢性耳鳴）はもっとも多くみられる耳鳴症であるが、その病態生理は未だ明らかでなく適切な動物モデルも存在しないため、根治的治療法が存在しない。今回われわれは、加齢性耳鳴の病態生理を明らかにすることを目的に、生理的な加齢性難聴を来すCBA/Jマウスを用いて耳鳴を評価する実験を計画した。

3. 研究の方法

(1) gap detection test (GDT)を用いた耳鳴評価

GDTとは、startle stimulus（驚愕刺激）に対する驚愕反射を用いた動物モデルの耳鳴評価法である。background noise下においてstartle stimulus（驚愕刺激）前にbackground noiseを一時的に消すgapを予告刺激として加えると驚愕反応は抑制される。このとき、耳鳴があればそのgapを認知しづらくなるので驚愕反応は抑制されにくくなる（図1）。

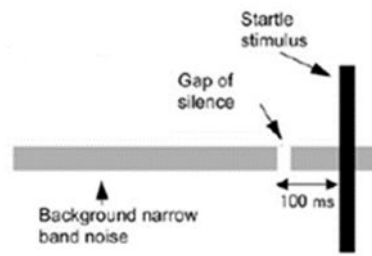


図1 GDTの原理

GDTを用いた耳鳴評価を行うためには、適切な条件設定とマウスに対する条件付けが必要であり、条件設定と条件付けの確立を目指した。

用いた機器としては、Kinder Scientificのstartle reflex hardwareとsoftwareを用いてGDT測定を行った（図2）。



図2 GDTの音響暴露装置

(2) 加齢性難聴を来したCBA/Jマウスに対する耳鳴の評価（異なる2群マウスを使用）

8ヶ月齢マウス、18ヶ月齢マウスそれぞれに対してABRによる聴力測定と、1ヶ月の条件付けを終えた状態でのGDTによる耳鳴判定を行った。

(3) 加齢性難聴を前向きに観察した同一個体マウスに対する経時的な耳鳴評価

9ヶ月目から1ヶ月条件付けをし、10,12,14,17,20ヶ月目にABRを、10ヶ月目より20ヶ月目まで毎月GDTによる測定を行い、同一個体における加齢性難聴に伴って出現する加齢性耳鳴の評価をprospectiveに行った。

4. 研究成果

(1) 条件付けには、ホワイトノイズである75dBのbackground noise中にgap30msとその70ms後の115dBのstartle stimulusという構成とした。装置に60秒マウスを放置して環境に慣れさせた後、このトライアル間隔を不規則にして60回繰り返すセッションを施すことで、マウスに「gap後にstartle

stimulus に来る」ということを条件付けに成功した。

(2) 使用した 18 ヶ月齢マウスの聴力を同検体の 3 ヶ月時聴力と比較したところ有意に低下していたため、加齢性難聴を来している検体として扱った。耳鳴評価では各周波数 (10, 12, 16, 20, 24kHz) における、各検体の gap+startle trial と startle only trial の比 ($(G+S)/S$ 比 = Gap+Startle/Startle Only) (図 3) が得られた。20kHz 以外は 18 ヶ月齢マウスの方が $(G+S)/S$ 比が 1 に近づいているが、10、24kHz は 8 ヶ月齢マウスとほとんど差がなかった。各周波数において 8 ヶ月と 18 ヶ月齢マウス間において t 検定を行うと、全ての周波数において有意差なしとなった。

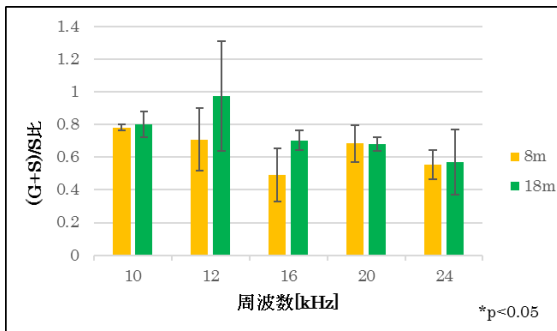


図 3 8 か月及び 18 か月マウスにおける GDT の比較

(3) 生後 9 か月齢となったマウス群 (N=7) を対象に、GDT の結果において経時的な変化がみられるかどうかを、生後 20 か月まで測定を続けた。

まず継続的に ABR により聴力を検討した。いずれの周波数においても、20 か月の時点で加齢性難聴を来していることが確認できた (図 4)。

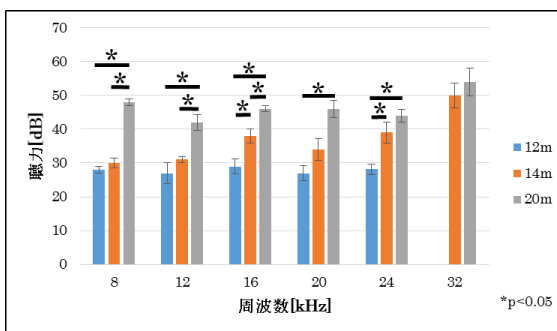


図 4 生後 20 か月までの ABR 結果

そのうえで GDT を測定したところ、生後 20 か月の時点で、24 kHz の周波数において、統計学的に有意に若年期に比べて耳鳴が検出された (図 5)。すなわち、GDT は加齢性難聴の検出にも有用な検査法であることが示唆され、また加齢に伴いマウスにも耳鳴が比較的高音域に生じている可能性が示唆された。

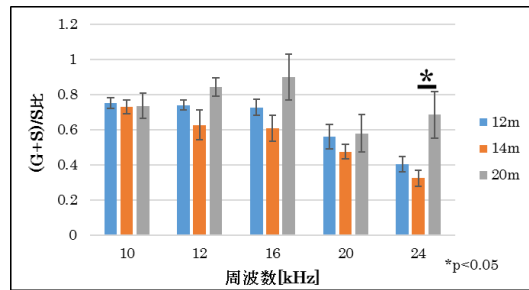


図 5 同一マウスにおける継続的な GDT の変化

今回の一連の実験では母数が少数であるためより大規模で均一な実験系で実験する必要もあるが、慢性経過をたどる難聴において経過中に出現した耳鳴を評価することができた。

今回の研究を拡大し、より詳細な耳鳴の出現時期や周波数をさらに評価していけば新しいモデルマウスや GDT のプロトコルを確立することができる。また、急性難聴と慢性難聴における難聴と耳鳴発生の差異を明らかにしていくことで難聴、耳鳴の治療につながっていくことが期待される。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔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：
 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

大石 直樹 (Oishi Naoki)

慶應義塾大学・医学部・専任講師

研究者番号：10348740

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()