

平成21年 6月 10日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19591969
 研究課題名（和文）
 蝸牛培養による聴覚関連遺伝子発現の網羅的検討－薬物治療モデルを中心に－
 研究課題名（英文）
 Gene expression in cochlear organ culture: to find a candidate drugs for hearing loss
 研究代表者
 福島 邦博（FUKUSHIMA KUNIHIRO）
 岡山大学・医学部・歯学部附属病院・講師
 研究者番号：50284112

研究成果の概要：

感音難聴は現在までに有効な治療法が確立されていない。治療に有用な薬物を効率的に見いだすためには、内耳に作用しうる薬物をスクリーニングする手法の確立が必要である。今回我々は、内耳の器官培養を行い、難聴の治療として広く用いられているステロイドを作用させ、そこで発現する遺伝子の変化について検討した。ステロイド投与により、内耳において様々な遺伝子が発現することが示された。器官培養の系において内耳における薬理作用が検討することが可能であり、この実験系によって効果的な薬物治療戦略について検討可能であることが示された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：耳鼻咽喉科

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：耳科学 組織培養 RNA 薬物治療学 遺伝子治療学

1. 研究開始当初の背景

(1) 研究の背景

突発性難聴は、年間2万人に一人の割合で発生する比較的にまれな病態であるが、1週間以内に糖質コルチコイド等を用いて治療を開始すると、約70%で症状が改善ないしは治癒することが報告されている。

(2) 研究の動機

この突発性難聴の治療には糖質コルチコイド等の薬物治療を施行する機会が多いが、こうした薬剤の作用機序に関しては未だに不明な点が多い。内耳は、側頭骨内に存在する臓器であり、in vivoでの薬理作用についての解析が困難である。

2. 研究の目的

(1) 研究の目的

我々が行ってきた蝸牛培養の実験系を用いて、内耳に薬剤を作用させ、その遺伝子発現の変化を検討することによって、内耳での薬剤作用機序を検討した。

3. 研究の方法

(1) 蝸牛培養

①内耳組織の実験系では、既報に従い、蝸牛管の構造物のほぼ成立した、胎生15日のマウス内耳を切りだし、デキサメタゾン存在下と非存在下で48時間培養した。

(2) 内耳組織からRNAを抽出し、約32000遺伝子について、マイクロアレイを用いて発現量の違いを検討した。デキサメタゾン投与によって発現量が増加する遺伝子(同じ培養実験を二回繰り返し、共通して3倍以上ないし3分の一以下への発現変化を示す遺伝子)に関しては、さらにリアルタイムPCRによる発現量を実施した。

4. 研究成果

(1)

①Dexamethasone 投与、非投与下での遺伝子発現量を全遺伝子についてみた場合、相関係数0.9928と高い相関がみられ、実験系の確実性が確認された。

②デキサメタゾン投与によって発現量が増加した遺伝子のうち、聴覚との関連が推定できるものとしては、FKBP5, Glucocorticoid-induced leucine zipper, glutathione peroxidase 3が見られた。

③FKBP5は内耳組織においてデキサメタゾン投与により3.64倍に発現量が増加した。FKBP5はFK506と結合し、活性阻害をすることが知られており、また、FK506は近年感音難聴を引き起こすことがあると指摘されている。さらに、FKBP5はグルココルチコイド

レセプターと結合してその活性を抑制するものであり、これは Negative feedback の系でもあるといえる。

Glucocorticoid-induced leucine zipper はデキサメタゾン投与により3.64倍に発現が増加する。この遺伝子は、NF- κ Bと結合してその活性を抑制することが知られている。NF- κ Bは突発性難聴において増加しているという仮説もあり、またグルココルチコイドの薬理作用に強く関わるものであることが知られている。

Glutathione peroxidase 3は内耳組織においてデキサメタゾン投与により3.64倍に発現量が増加する。Glutathione peroxidase 3はglutathioneの抗酸化作用を触媒する酵素であり、またGlutathioneはデキサメタゾンの鼓室内投与によって発現が増加することが既に報告されている。

(2) 国内外の位置づけとインパクト

今まで、内耳における糖質コルチコイドの作用機序についてはほとんど報告が無く、どのような働きによって内耳の治療薬として作用しているのかは明らかではなかった。

糖質コルチコイドの薬理作用や、聴覚機構の薬理作用に関わる様々な遺伝子が検出されており、今後の研究の進展によって、糖質コルチコイドの詳細な分子機序や、予後判定、さらには新しい治療薬の開発などの基礎データとなりうる知見が得られている。

(3) 今後の展望

①突発性難聴治療における影響の確認

突発性難聴には、糖質コルチコイドが広く治療薬として用いられているが、それが有効なケースは全体の70%ほどであり、全く治療に反応しないケースも30%ほどは存在する。こうしたケースを治療開始前に診断することが可能であれば、より効率的な医療資源の投与を行うことができる。今回スクリーニ

ングした遺伝子を中心に、実際の患者でのSNPの有無などを検討することによって治療との関わりを考えたい。

②miRNA

蝸牛では、多くのmiRNAが発現しており、内耳におけるその働きが注目を集めている。糖質コルチコイドは、こうしたmiRNAの発現にも影響を与えることが知られており、実際に蝸牛でどのような変化が出ているかを知ることにはその薬理作用を考える上で重要な意義を持つ。今回の実験系をさらに発展させて、miRNAの発現様式とその変化についても検討したい。

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 4 件)

1. Takeuchi A, Fukushima K, et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-2/atelocollagen composite as a new material for ossicular reconstruction. J Biomed Mater Res A. 2008 10. (9人中6番目査読あり)
2. Kariya S, Fukushima K, et al. Auditory steady-state responses to multiple simultaneous stimuli in children with functional or sensorineural hearing loss. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2008 Jul;265(7):769-73. (5人中2番目査読あり)
3. Fukushima K, et al. Developmental dysgraphia with profound hearing impairment: intervention by auditory methods enabled by cochlear implant. Auris Nasus Larynx. 2008 Jun;35(2):250-4. (8人中1番目 査

読有り)

4. Fukushima K, et al. Pilot study of universal newborn hearing screening in Japan: district-based screening program in Okayama. Ann Otol Rhinol Laryngol. 2008 Mar;117(3):166-171. (4人中1番 査読有り)

[学会発表] (計 1 件)

1. 第27回 聴覚生理研究会
平成20年10月16日(木)
ミニパネル・ディスカッション
「siRNAを用いた内耳遺伝子治療モデル」
前田 幸英

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福島 邦博 (FUKUSHIMA KUNIHIRO)
岡山大学・医学部・歯学部附属病院・講師
研究者番号: 50284112

(2) 研究分担者

前田 幸英 (MAEDA YUKIHIDE)
岡山大学・医学部・歯学部附属病院・助教
研究者番号: 00423327

(3) 連携研究者

片岡 祐子 (KATAOKA YUKO)
岡山大学・医学部・歯学部附属病院・助教
研究者番号: 10362972

假谷 伸 (KARIYA SHIN)
岡山大学・医学部・歯学部附属病院・助教
研究者番号: 10274226

西崎和則 (NISHIZAKI KAZUNORI)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：90180603

(4) 研究協力者

平井 美紗都 (HIRAI MISATO)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・大学院生