

令和 3 年 4 月 7 日現在

機関番号：14301  
研究種目：基盤研究(C)（一般）  
研究期間：2017～2020  
課題番号：17K11325  
研究課題名（和文）蝸牛におけるIGF1-Netrin axisの役割解明と応用創薬研究

研究課題名（英文）Roles of IGF-1-Netrin axis in the cochlea

研究代表者

中川 隆之（Nakagawa, Takayuki）

京都大学・医学研究科・研究員

研究者番号：50335270

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、インスリン様細胞増殖因子1（IGF1）による急性感音難聴治療研究を進展させ、より幅広い感音難聴に対する創薬研究の基盤形成を目的とし、IGF1情報伝達系の蝸牛における役割に注目した研究を行った。進行性難聴モデルマウスにおいて、IGF1情報伝達系の遺伝子発現変化が認められ、IGF1投与による進行性難聴抑制効果が認められた。マウス蝸牛器官培養系では、IGF1が求心性シナプス保持に必要な因子であり、再生誘導効果を有することが示された。これらの結果は、蝸牛における聴覚機能維持にIGF1情報伝達系が関与することを示し、IGF1および関連分子が進行性難聴治療法開発の標的となりうることを示唆する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究結果により、IGF1情報伝達系が有毛細胞保護効果だけでなく、求心性シナプス維持および再生に係わることが明らかにされた。蝸牛求心性シナプスは、感音難聴治療の標的として注目されており、本研究結果は新たな感音難聴治療戦略の構築に貢献するものといえる。感音難聴は最も頻度の高い身体障害の要因であり、認知症の加速因子としても知られており、感音難聴進行防止につながる本研究結果は社会的意義があるものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Based on our previous findings on IGF1 effects for the treatment of acute sensorineural hearing loss, we examined roles of IGF1 signaling in progressive hearing loss. In a mouse model for progressive hearing loss, alterations in expression of IGF1 signaling-associated genes were found in the initiation of hearing loss, and local application of IGF1 showed protective effects against progressive hearing loss. Experiments using explant cultures of mouse cochlea demonstrated that inhibition of IGF1 signaling resulted in loss of ribbon synapses and that IGF1 enhanced regenerative activity of ribbon synapses after injury. These findings indicate the importance of IGF1 signaling in the maintenance of hearing and suggest that IGF1 and associated molecules can be targets for the treatment of progressive hearing loss.

研究分野：耳鼻咽喉科学

キーワード：インスリン様細胞増殖因子1 蝸牛 有毛細胞 シナプス 再生 保護

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

インスリン様細胞増殖因子 1 (IGF1) は、内耳蝸牛の発生に係わる重要な細胞増殖因子であり、過去の研究成果から急性感音難聴モデルにて蝸牛有毛細胞保護効果を有することが示されており、臨床研究でもステロイド全身投与で聴力改善が認められない突発性難聴症例において、局所投与により聴力改善が期待できることが示されていた。また、有毛細胞保護において、IGF1 の下流で netrin1 が関与していることが示されており、IGF1 情報伝達系関連分子の感音難聴治療薬としての可能性が注目されていた。

### 2. 研究の目的

本研究では、IGF1 情報伝達系関連分子の加齢性難聴に代表される進行性難聴における役割、蝸牛求心性シナプスの維持、再生における役割、蝸牛感覚上皮細胞間結合維持に係わる役割を検討することにより、IGF1 情報伝達系関連分子の感音難聴治療薬としての可能性を検証することを目的とした。

### 3. 研究の方法

進行性難聴モデルとして、感音難聴を早期に発症することが知られているマウス・ストレインである C57BL/6J および DAB/2J マウスを用い、感音難聴発症のタイミングを調べ、その前後での IGF1 情報伝達系関連分子の発現変化を定量的 PCR にて検討した。さらに、感音難聴発症直前のタイミングで IGF1 局所投与を行い、聴覚機能変化を評価した。

また、生後 2 あるいは 4 日後のマウス蝸牛感覚上皮の器官培養を用いた実験系で内毛細胞とラセン神経節細胞間の求心性シナプスに対する再生誘導効果および維持効果に関する組織学的解析を行った。再生誘導効果実験では、興奮性アミノ酸投与により求心性シナプス傷害を誘導した後に IGF1 の添加による再生誘導効果および IGF1 受容体阻害薬による再生誘導打ち消し効果を検討した。維持効果の検証では、IGF1 受容体阻害薬添加による求心性シナプス数の変化を解析し、自発的な再生および IGF1 添加による再生促進効果について検討した。

### 4. 研究成果

進行性難聴モデルマウスの解析では、DBA/2J マウスにおいて難聴発症前後で有意の IGF1 情報伝達系関連遺伝子の発現変化が認められた。難聴発症直前のタイミングでの IGF1 局所投与により、DBA/2J マウスでは、有毛細胞喪失、求心性シナプス減少の抑制効果が認められ、聴性脳幹反応検査による機能解析で進行性難聴を遅延する効果があることが示唆された。

生後 2 日目マウス蝸牛器官培養では、興奮性アミノ酸の培地への添加により、85%の求心性シナプス減少が観察された(図 1)。一方、有毛細胞およびラセン神経節細胞の減少は認められず、

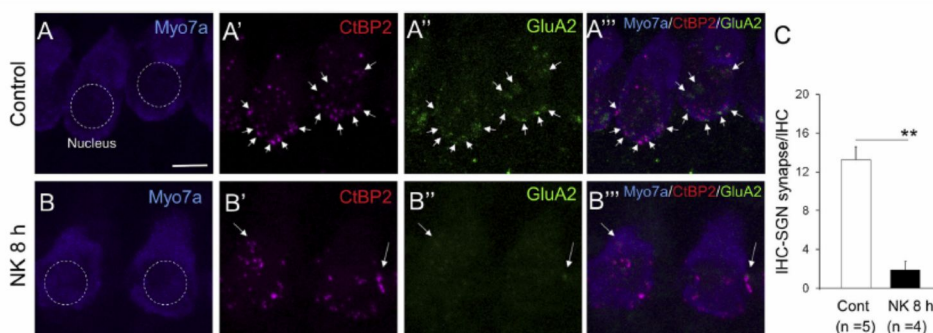
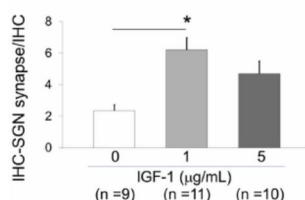


図 1 (Yahara et al., 2019)

用いた傷害条件では、求心性シナプスが選択的に傷害されることが示された。次に、興奮性アミノ酸による傷害後に IGF1 を添加したところ、48 時間後には求心性シナプス数が有意に増加していることが示された(図 2)。



この再生誘導効果が IGF1 受容体を介する効果であることを確かめるために、2 種類の IGF1 受容体阻害剤による打ち消し効果を検証した。2 種類の阻害薬双方で有意の抑制効果が認められたことから、求心性シナプス再生誘導効果は、IGF1 受容体を介する効果であることが確認された。

より成熟過程の進んだ状態での解析を考慮し、生後 4 日目のマウ

図 2 (Yahara et al., 2019)

ス蝸牛器官培養を用いて、IGF1 による求心性シナプス維持効果の検討を行った。IGF1 受容体阻害薬の 24 時間曝露により、有意に求心性シナプス数が減少することから、少なくとも培養系では IGF1 が求心性シナプス維持に必要な因子であることが示唆された(図 3)。

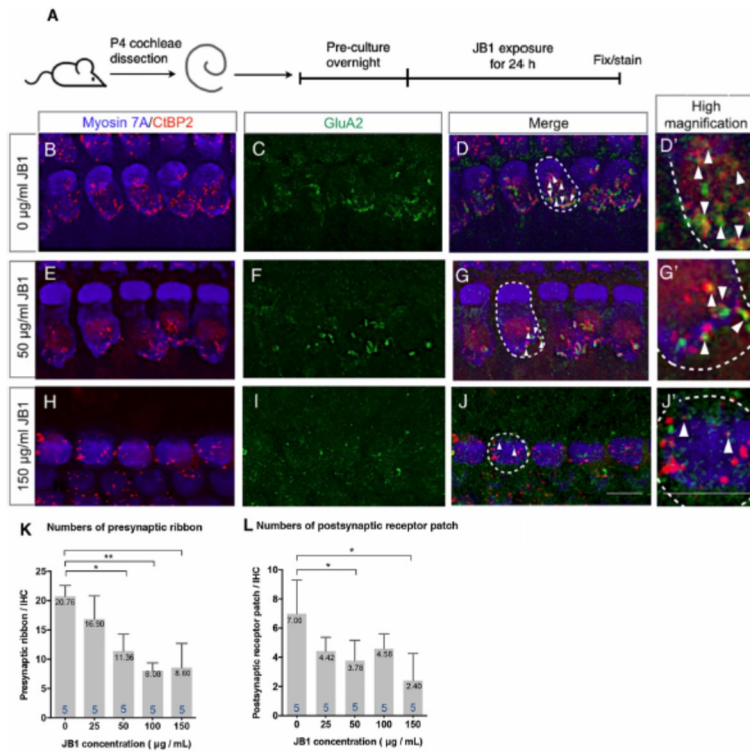


図 3 (Gao et al., 2020)

内因性 IGF1 の再生誘導に対する効果を調べるために、IGF1 受容体阻害薬 24 時間曝露後、阻害薬を除去し、24 時間培養を追加したところ、求心性シナプス数が回復したことから、内因性 IGF1 の効果により再生が誘導されることが判明した(図 4)。

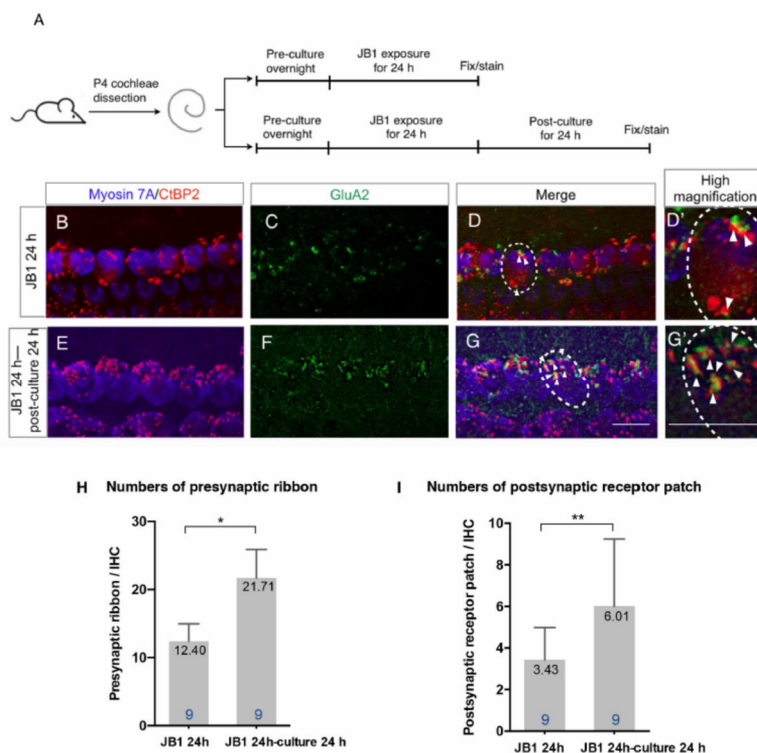


図 4 (Gao et al., 2020)

さらに、IGF1 を添加したところ、低濃度の添加では再生促進効果が求められたが、高濃度の添加では再生促進効果が抑制された。この現象は、内分泌系でしばしば認められ、一種のネガティブフィードバックが働いていることが想定される。一連の研究結果から、IGF1 情報伝達系が蝸牛における適正な求心性シナプス数の維持に関与していることが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kada Shinpei, Hamaguchi Kiyomi, Ito Juichi, Omori Koichi, Nakagawa Takayuki	4. 巻 303
2. 論文標題 Bone Marrow Stromal Cells Accelerate Hearing Recovery via Regeneration or Maintenance of Cochlear Fibrocytes in Mouse Spiral Ligaments	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Anatomical Record	6. 最初と最後の頁 478 ~ 486
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ar.24063	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yamahara K, Asaka N, Kita T, Kishimoto I, Matsunaga M, Yamamoto N, Omori K, Nakagawa T.	4. 巻 374
2. 論文標題 Insulin-like growth factor 1 promotes cochlear synapse regeneration after excitotoxic trauma in vitro.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Hear Res	6. 最初と最後の頁 5-1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.heares.2019.01.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Gao Li, Kita Tomoko, Katsuno Tatsuya, Yamamoto Norio, Omori Koichi, Nakagawa Takayuki	4. 巻 14
2. 論文標題 Insulin-Like Growth Factor 1 on the Maintenance of Ribbon Synapses in Mouse Cochlear Explant Cultures	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 571155
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fncel.2020.571155	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Gao Li, Nakagawa Takayuki	4. 巻 28
2. 論文標題 Insulin-like growth factor 1: role in the auditory system and therapeutic potential in otology	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Current Opinion in Otolaryngology & Head & Neck Surgery	6. 最初と最後の頁 286 ~ 290
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/M00.0000000000000652	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 Li Gao, Tomoko Kita, Tatsuya Katsuno, Koichi Omori, Takayuki Nakagawa
2. 発表標題 Effect of IGF1 receptor antagonist on presynaptic ribbons in inner hair cells in mouse cochlear explants
3. 学会等名 43rd Annual Meeting of Association for Research in Otolaryngology Mid-winter Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中川隆之、喜多知子、山本典生、大森孝一
2. 発表標題 加齢性難聴に対するIGF-1の聴力保護効果：早期発症加齢性難聴モデルマウスを用いた検討
3. 学会等名 第28回日本耳科学会総会・学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中川隆之
2. 発表標題 加齢性難聴への新規医薬品・医療機器の提供と課題
3. 学会等名 第60回日本老年医学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Skerleva D, Iguchi F, Katsuno T, Ohnishi H, Yamamoto N, Ito J, Omori K, Nakagawa T
2. 発表標題 IGF-1 delayed age-related hearing loss in DBA/2J mice
3. 学会等名 42nd Annual Meeting of Association for Research in Otolaryngology Mid-winter Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nakagawa T
2. 発表標題 Topical IGF-1 therapy for sensorineural hearing loss
3. 学会等名 9th European Academy of Otology and Neurotology Instructional Workshop & Concensus on Auditory Implants (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takayuki Nakagawa, Norio Yamamoto, Koji Nishimura, Kohei Yamahara, Hideaki Ogita, Juichi Ito, Koichi Omori.
2. 発表標題 Preservation of residual hearing after electrode insertion by topical application of IGF-1
3. 学会等名 2017 Conference on Implantable Auditory Prosthesis (国際学会)
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 Takayuki Nakagawa, Norio Yamamoto, Kohei Yamahara, Tomoko Kita, Juichi Ito, Koichi Omori
2. 発表標題 Topical IGF-1 therapy for treatment of sensorineural hearing loss: Mechanisms and clinical applications
3. 学会等名 1st International Symposium on Inner Ear Therapies (国際学会)
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 Skerleeva D, Ohnishi H, Kita T, Katsuno T, Stoyanov St, Yamamoto N, Ito J, Omori K, Nakagawa T
2. 発表標題 The role of IGF1-related pathways in the aging of the ear
3. 学会等名 54th Workshop on Inner Ear Biology and Symposium (国際学会)
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 中川隆之
2. 発表標題 IGF-1および関連分子の感音難聴治療への応用
3. 学会等名 第19 回応用薬理シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2017年~2018年

1. 発表者名 中川隆之、喜多知子、山本典生、大森孝一
2. 発表標題 マウス蝸牛の加齢性変化におけるIGF-1関連分子の発現変化
3. 学会等名 第27回日本耳科学会
4. 発表年 2017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
研究分担者	喜多 知子(嶋知子)  (Kita Tomoko)  (20362519)	京都大学・医学研究科・研究員   (14301)	
研究分担者	大西 弘恵  (Ohnishi Hiroe)  (50397634)	京都大学・医学研究科・研究員   (14301)	
研究分担者	山本 典生  (Yamamoto Norio)  (70378644)	京都大学・医学研究科・准教授   (14301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------