

令和 2 年 6 月 30 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11340

研究課題名(和文) 耳鳴発生時の内耳細胞内分子動態の解明と内耳を舞台とした新規治療法の開発

研究課題名(英文) Molecular mechanisms in tinnitus generation and new treatments

研究代表者

北原 糺 (Kitahara, Tadashi)

奈良県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：30343255

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：2017年度、我々はアクリル板で仕切られた入れ物の底面に微弱な電流を流す、動物行動学的逃避実験装置を用いて、ラットを用いたサリチル酸耳鳴動物モデルの作成に成功した。2018年度はこれを受けて、逃避行動実験を用いてサリチル酸耳鳴が16kHz、60dBに近似していることを証明した。2019年度はさらに、同様の実験系を用いて音響暴露下での耳鳴を検索した。蝸牛有毛細胞が50%前後壊れるカナマイシン濃度、ゲンタマイシン濃度を調整した。サリチル酸、音響外傷、アミノグリコシド内耳障害による耳鳴という、異なる3種類の耳鳴動物モデルにおける、耳鳴はいずれも16kHz、60dBに近似していることを証明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

耳鳴は目に見えない主観的な現象であり、客観的評価が難しいゆえに未だ有効な治療法が確立されていない。治療法の開発にはこの現象を可視化することが重要である。我々はラットを用いた耳鳴動物モデルを考案するとともに、耳鳴を評価する分子マーカーとして聴覚伝導路における痛み受容体TRPV1 (Transient receptor potential cation channel superfamily V-1) の発現について検討した。なお、今回の動物モデル作成にあたっては、大量投与により一過性の耳鳴を誘導すると報告されているサリチル酸を用いた。

研究成果の概要(英文)：Salicylate-induced tinnitus in rats could be visualized by behavioral and molecular experiments. Behavioral experiments were performed using an active avoidance task and molecular experiments were performed using a nociceptive receptor, transient receptor potential cation channel superfamily V (TRPV) in the rat auditory pathway. By means of these tinnitus visualization experiments, capsazepine, a specific antagonist of TRPV1, could be one of candidates to block tinnitus pathway and cure tinnitus. Further additional experiments are required.

研究分野：耳科神経耳科学、めまい平衡医学

キーワード：耳鳴 内耳 らせん神経節 侵害受容体 逃避行動実験 アミノグリコシド 音響外傷

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Eggermont-JJ によると、米国では一般人口の 10% 前後に絶え間ない耳鳴を自覚しており、高齢者になるとその比率は高くなる(TRENDS in Neurosci 27: 676-682, 2004)。日本においても神崎らの報告にあるように、耳鳴を苦痛と感じ日常生活に支障を来す、いわゆる耳鳴症患者は一般人口の 3% 前後と看過できない比率である(耳鳴の克服とその指導, 金原出版)。また耳鳴は直接生命予後には影響しないが、重篤な精神神経症状を併発するなど、社会的問題となる場合が少なくない。我々が本研究を着想するに至った経緯は、このような耳鳴症患者はストレスの多い現代社会において増加傾向にあるにもかかわらず、実際の臨床現場における耳鳴治療はおざなりな薬物治療が漫然と続けられ発展性に乏しい現状と、それに対して動物を用いた基礎研究法が未だ確立されていない現状を鑑みてのことである。

2. 研究の目的

本研究の期間内目標として、サリチル酸耳鳴動物モデルを用いて、TRPV 遺伝子ファミリーを中心とした、らせん神経節細胞内の情報伝達機構を解明する。具体的には、細胞障害受傷機構としてのアラキドン酸経路、細胞生命維持機構としての脳由来神経栄養因子 BDNF 自己調節経路を検索する。この研究により、BDNF に影響を与えない安全な経路で TRPV1 をブロックする方法を、サリチル酸耳鳴の治療として考えたい。ノックアウト・マウス利用への発展を考慮し、現在のラット用動物行動学的逃避実験装置をマウス用に改良し、条件付け設定を確立する。サリチル酸耳鳴以外の臨床に直結する耳鳴動物モデル、具体的には、アミノグリコシド内耳障害モデルや音響障害モデルの耳鳴を、動物行動学的逃避実験装置を用いて評価する。その際にもサリチル酸耳鳴動物モデルと同様、TRPV1 が耳鳴分子マーカーとして利用可能かという普遍性の検討を含め、耳鳴のらせん神経節細胞内の分子機構を検索する。ちなみに我々の最近の研究では、カナマイシン内耳障害マウスのらせん神経節で TRPV1 分子が発現上昇することが証明されている(Kitahara-T: Hear Res 201: 132-144, 2005)。サリチル酸耳鳴動物モデルを用いて、耳鳴の末梢から中枢へ移行するメカニズムを解明する。具体的には、らせん神経節以降の聴覚伝導路における TRPV1 分子の詳細な経時的発現動態を検索する。

3. 研究の方法

サリチル酸耳鳴動物モデルを用い、TRPV1 分子を介するらせん神経節細胞内情報伝達機構を解明する。

ノックアウト・マウス利用への発展を考慮し、現在のラット用の動物行動学的逃避実験装置をマウス用に改良し、条件付け設定を確立する。

サリチル酸耳鳴以外の臨床に直結する耳鳴動物モデル、具体的にはアミノグリコシド内耳障害モデルや音響障害モデルの耳鳴を、分子生物学的、動物行動学的に評価する。

サリチル酸耳鳴動物モデルを用い、耳鳴の末梢から中枢へ移行するメカニズムを解明する。

4. 研究成果

サリチル酸の大量投与によりヒトおよび小動物に耳鳴を引き起こすことが、以前より電気生理学的に報告されていた。2017 年度、我々はアクリル板で仕切られた入れ物の底面に微弱な電流を流す、動物行動学的逃避実験装置を用いて、ラットを用いたサリチル酸耳鳴動物モデルの作成に成功した。

2018 年度はこれを受けて、逃避行動実験(図 1)を用いてサリチル酸耳鳴が 16kHz(図 2)、60dB(図 3)に近似していることを証明した。

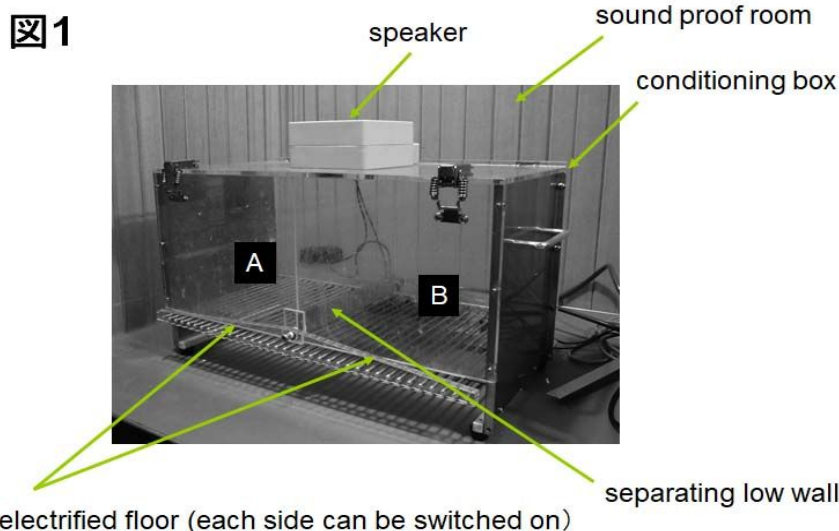


図2

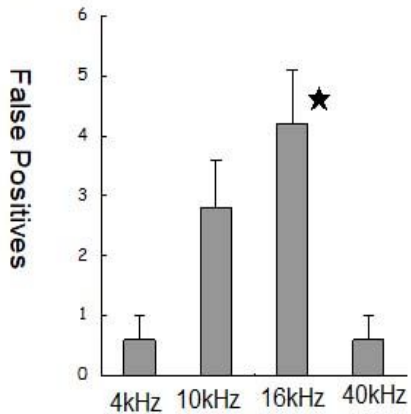
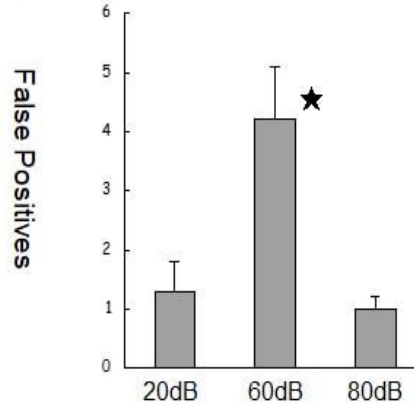


図3



2019年度はさらに、同様の実験系を用いて音響暴露下での耳鳴を検索した。同様の実験系を用いるためには、条件付けの外部音を感知可能出なければならないため、蝸牛有毛細胞が50%前後壊れる音響レベルを調整した。それに並行して、同様の実験系を用いてアミノグリコシド系抗菌薬による内耳障害下での耳鳴を検索した。蝸牛有毛細胞が50%前後壊れるカナマイシン濃度、ゲンタマイシン濃度を調整した。サリチル酸耳鳴、音響外傷による耳鳴、アミノグリコシド内耳障害による耳鳴という、異なる3種類の耳鳴動物モデルにおける、耳鳴はいずれも16kHz、60dBに近似していることを証明した。

耳鳴は幻肢痛と類似した現象であり、内耳の感じる痛みであると考え、痛み受容体TRPV1の耳鳴への関与は非常に興味深い所見である。ラットおよびマウスのらせん神経節における神経細胞生命維持機構に、BDNFなどの神経栄養因子等々の関与が考えられている。サリチル酸投与ラットのらせん神経節において、BDNF分子動態を確認しつつ、TRPV1およびその周辺分子との相互関与を検索する。耳鳴治療薬としてTRPV1拮抗薬等々の利用の可能性が考えられるが、そのことでBDNFを介する神経細胞生命維持機構に悪影響を及ぼさないかを確認していく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Noda Kazuhiro, Kitahara Tadashi, Doi Katsumi	4. 巻 12
2. 論文標題 Sound Change Integration Error: An Explanatory Model of Tinnitus	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroscience	6. 最初と最後の頁 831
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnins.2018.00831	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 Okayasu Tadao, Nishimura Tadashi, Uratani Yuka, Yamashita Akinori, Nakagawa Seiji, Yamanaka Toshiaki, Hosoi Hiroshi, Kitahara Tadashi	4. 巻 696
2. 論文標題 Temporal window of integration estimated by omission in bone-conducted ultrasound	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 1~6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neulet.2018.11.035	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 Nishimura Tadashi, Hosoi Hiroshi, Saito Osamu, Shimokura Ryota, Yamanaka Toshiaki, Kitahara Tadashi	4. 巻 39
2. 論文標題 Cartilage Conduction Hearing Aids for Severe Conduction Hearing Loss	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Otology & Neurotology	6. 最初と最後の頁 65~72
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MAO.0000000000001644	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 Kitahara Tadashi	4. 巻 45
2. 論文標題 Evidence of surgical treatments for intractable Meniere's disease	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx	6. 最初と最後の頁 393~398
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.anl.2017.07.016	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 Nevoux J., Barbara M., Dornhoffer J., Gibson W., Kitahara T., Darrouzet V.	4. 巻 135
2. 論文標題 International consensus (ICON) on treatment of M?ni?re's disease	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 European Annals of Otorhinolaryngology, Head and Neck Diseases	6. 最初と最後の頁 S29 ~ S32
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.anorl.2017.12.006	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 伊藤妙子、北原 紘、辰巳晃子、和中明生、山中敏彰	4. 巻 31
2. 論文標題 アルサニル酸を用いたマウス内耳破壊	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 耳鼻咽喉科ニューロサイエンス	6. 最初と最後の頁 25-26
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 Kitahara-T	4. 巻 45
2. 論文標題 Evidence of surgical treatments for intractable Meniere's disease - review -	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx	6. 最初と最後の頁 393-398
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.anl.2017.07.016	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 該当する

1. 著者名 Ouji-Y, Sakagami-M, Omori-H, Higashiyama-S, Kawai-N, Kitahara-T, Wanaka-A, Yoshikawa-M	4. 巻 23
2. 論文標題 Efficient induction of inner ear hair cell-like cells from mouse ES cells using combination of Math1 transfection and conditioned medium from ST2 stromal cells	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Stem Cell Res	6. 最初と最後の頁 50-56
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.scr.2017.06.013	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 該当する

1. 著者名 Kitahara-T, Yamanaka-T	4. 巻 44
2. 論文標題 Identification of operculum and surgical results in endolymphatic sac surgery	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx	6. 最初と最後の頁 116-118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.anl.2016.02.017	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 該当する

1. 著者名 Morimoto-C, Nario-K, Nishimura-T, Shimokura-R, Hosoi-H, Kitahara-T	4. 巻 43
2. 論文標題 Effects of noise exposure to pregnant guinea pigs at gestational periods on neonatal auditory brainstem response thresholds	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Obstet. Gynaecol. Res	6. 最初と最後の頁 78-86
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jog.13194	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 該当する

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Nakahara-K, Ito-T, Kitahara-T, Tatsumi-K, Wanaka-A
2. 発表標題 A new procedure of chemical labyrinthectomy in mice by means of transtympanic injection of p-arsanilic acid
3. 学会等名 30th Barany Society Meeting in Uppsala (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ito-T, Inui-H, Inoue-T, Katsube-Y, Sakamoto-T, Yamanaka-T, Kasahara-M, Kitahara-T
2. 発表標題 New strategy for diagnosis of Meniere's disease -volumetric measurement of endolymphatic space using three dimensional MRI-
3. 学会等名 30th Barany Society Meeting in Uppsala (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Inui-H, Ito-T, Sakamoto-T, Kitahara-T
2. 発表標題 MR volumetric measurement of endolymphatic space in patients without vertigo or hearing loss
3. 学会等名 30th Barany Society Meeting in Uppsala (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kitahara-T, Yamanaka-T
2. 発表標題 Effects of the intra-endolymphatic sac application of steroids for intractable Meniere ' s disease
3. 学会等名 Annual Meeting of Collegium ORLAS in Beijing (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kitahara-T
2. 発表標題 A six-month randomized trial of interventions of head-up sleep for intractable BPPV
3. 学会等名 Eaton Peabody Labs SAP Seminars in Harvard University Eye & Ear (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北原 紘、伊藤妙子、乾 洋史、山中敏彰
2. 発表標題 内耳造影MRIの2D評価法による内リンパ水腫解析
3. 学会等名 第118回日本耳鼻咽喉科学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 伊藤妙子、乾 洋史、山中敏彰、北原 糺
2. 発表標題 内耳造影MRIの3D評価法による内リンパ水腫解析
3. 学会等名 第118回日本耳鼻咽喉科学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 野田和裕、山下哲範、北原 糺、土井勝美
2. 発表標題 耳鳴統合的音響療法のための携帯型シンセサイザーの開発
3. 学会等名 第3回耳鳴・難聴研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 北原 糺
2. 発表標題 心身症としてのめまい：前庭系と精神疾患の相互関連とめまい治療への応用
3. 学会等名 第118回日本耳鼻咽喉科学会総会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kitahara-T
2. 発表標題 Stress, stress hormone and Meniere's disease
3. 学会等名 IFOS in Paris (招待講演)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 北原 紘	4. 発行年 2017年
2. 出版社 金芳堂	5. 総ページ数 136
3. 書名 めまいを診る	

〔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	岡安 唯 (OKAYASU TADAO) (10596810)	奈良県立医科大学・医学部・助教 (24601)	
研究分担者	山下 哲範 (YAMASHITA AKINORI) (50588522)	奈良県立医科大学・医学部・学内講師 (24601)	
研究分担者	阪上 雅治 (SAKAGAMI MASAHARU) (50745437)	奈良県立医科大学・医学部附属病院・研究員 (24601)	
研究分担者	伊藤 妙子 (ITO TAEKO) (60623486)	奈良県立医科大学・医学部附属病院・研究員 (24601)	