

令和 4 年 5 月 8 日現在

機関番号：34428

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07131

研究課題名(和文) 認知症リスクファクターである加齢性難聴の病態解明と予防薬の創出に関する研究

研究課題名(英文) Study on development of preventive drugs for age-related hearing loss that is a risk factor of dementia

研究代表者

荻田 喜代一 (Ogita, Kiyokazu)

摂南大学・薬学部・教授

研究者番号：90169219

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、加齢性難聴モデルとして慢性騒音曝露難聴動物および自然発症加齢性難聴度動物(SAMP1マウス)を用いて、難聴予防効果を示す化合物を探索した。その結果、ポリフェノール類のクルクミン(ウコンの含有成分)、クロロゲン酸(コーヒー豆の含有成分)、レスベラトロール(ブドウの果皮の含有成分)が聴覚障害を予防することを見出した。しかしながら、カテキン類には難聴予防効果がみられなかった。これらの化合物はいずれも広く使用され、その安全性が確認されていることから、難聴の予防を介した認知症の予防に貢献することが期待されます。

研究成果の学術的意義や社会的意義

国際アルツハイマー病会議(2017年7月)において、認知症のリスク因子として、高血圧、糖尿病、肥満、うつ病などとともに、難聴が挙げられている。さらに、近年の国内外の研究では、難聴のために、本来あるべき音の刺激による脳への情報が減少し、神経細胞の活動が抑制され、脳の萎縮を引き起こすことで認知症の発症に大きく影響する可能性が推察されている。加齢性難聴に代表される慢性感音難聴は急性感音難聴研究に比較して、得られている知見数は多くなく予防薬の開発には混迷を極めている。本研究は、加齢性難聴の予防薬の開発ばかりでなく、難聴予防による認知症の予防にも貢献することから高齢化社会における社会的意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：In this study, we sought compounds to prevent hearing loss using models for acquired hearing loss such as chronic noise exposed hearing loss and SAMP1mouse. We found the preventive effect on the hearing loss in polyphenol derivatives such as that curcumin (a component of turmeric), chlorogenic acid (a component of coffee beans), and resveratrol (a component of dark-colored grape skin). However, a polyphenol, catechins have no preventive effect on the hearing loss induced by noise exposure. These compounds have been safety and widely used, so would be expected as candidates for preventing dementia through preventing hearing loss.

研究分野：薬理学

キーワード：聴覚障害 加齢性難聴 認知症 レスベラトロール クロロゲン酸 炎症性サイトカイン

1. 研究開始当初の背景

国際アルツハイマー病会議(2017年7月)において、認知症のリスク因子として、高血圧、糖尿病、肥満、うつ病などとともに、難聴が挙げられている。さらに、近年の国内外の研究では、難聴のために、本来あるべき音の刺激による脳への情報が減少し、神経細胞の活動が抑制され、脳の萎縮を引き起こすことで認知症の発症に大きく影響する可能性が推察されている。加齢性難聴に代表される慢性感音難聴は研究に要する時間・経費の観点から急性感音難聴研究に比較して、得られている知見数は多くなく予防薬の開発には混迷を極めている。『後天的な難聴の発症が認知症の最大のリスクファクターである』との知見から、加齢性難聴の予防・克服が高齢化社会にとっての大きな課題である。我々はこれまでに騒音性難聴モデル(地下鉄の走行音程度の騒音を慢性的に曝露した動物)を作成し、その動物において炎症性サイトカインの増加および内毛細胞と蝸牛神経とのシナプス数の減少が生じることを見出した。慢性感音難聴の多くでこのシナプス数の変化が生じることが示唆されていることから本モデルが慢性的騒音曝露による難聴が模倣できる可能性が示唆される。

2. 研究の目的

本研究の目的は、認知症のリスクファクターである加齢性難聴の病態解明と予防薬の創出にある。この目的達成のために、モデル動物を用いた加齢性難聴の病態形成因子の解明、反復騒音曝露による聴覚障害動物を用いた加齢性難聴予防薬のスクリーニング系の確立、加齢性難聴の予防薬・サプリメント候補物質の探索を遂行し、加齢に伴う聴覚障害の軽減と高齢者の認知症のリスク軽減に寄与する。

3. 研究の方法

騒音曝露は、防音室内でマウスに1時間8kHzオクターブバンド、90dB Sound Pressure Level (SPL)のホワイトノイズを曝露した。試験化合物の投与は、経口投与法を用いた。加齢性難聴に対する実験では、試験化合物の投与は、マウスの1日の摂取水分量から目的の投与量を摂取するように濃度設計をした上でMediGelに懸濁しゲルを作成して、自由摂取させた。聴力測定は、4kHz、12kHz、20kHzにおける聴覚閾値を測定した。音圧を100dB SPLから5dB SPLずつ段階的に減弱させ、脳波が出現する最小の音圧を聴覚閾値とした。結果は平均値±標準誤差で示した。遺伝子量の変動は、Trizolを用いて摘出内耳からtotal RNAを抽出し、逆転写後のcDNAを用いて、定量的RT-PCR法を用いてCt法にて解析した。免疫染色は、4% paraformaldehyde (PFA)で摘出内耳を固定し、10% EDTA-4%スクロースで4°Cにて脱灰した内耳をmouse anti-C-terminal binding protein-2 monoclonal antibody (1:200)、mouse anti-Glutamate receptor 2 monoclonal antibody (1:200)、rabbit anti-Myosin-a polyclonal antibody (1:100)で反応し、共焦点レーザー顕微鏡(FV1000, OLYMPUS社製)を用いて撮影し、プレシナプスとポストシナプスが隣接して染色されたものをシナプスとして計数した。統計解析は、JMPソフトウェアを用いて実施し2群間の比較は、Welch's t-testにより評価した。多群間の統計学的有意性は、Dunnnett法あるいは1元配置分散分析後にSteel-Dwass法により評価した。

4. 研究成果

(1) 反復騒音曝露による聴力低下に対する試験化合物投与の効果

騒音曝露は、曝露回数依存的に聴力低下を引き起こし、5回の騒音曝露(反復騒音曝露)後には12kHzで約20dB SPL、20kHzで約35dB SPLの聴覚閾値変動が生じた。これに対して、反復騒音曝露前及び曝露期間中のポリフェノール類のクルクミン(ウコンの含有成分、100mg/kg)及びそのナノ粒子製剤(10mg/kg)、クロロゲン酸(コーヒー豆の含有成分、10mg/kg)、レスベラトロール(ブドウの果皮の含有成分、50mg/kg)投与は騒音5回曝露後の聴力低下を有意に抑制した。しかしながら、上記3種と同様に抗酸化作用を有するカテキン(茶の含有成分、200mg/kg)投与は反復騒音曝露による聴力低下に影響を及ぼさなかった。

(2) 反復騒音曝露による炎症性サイトカインの増加に対する試験化合物投与の効果

反復騒音曝露は、炎症性サイトカインであるインターロイキン(IL)-1をコードする遺伝子である*Il1b*の有意に増加した。これに対して、反復騒音曝露前及び曝露期間中のクルクミンナノ粒子製剤、クロロゲン酸、レスベラトロール投与は反復騒音曝露による*Il1b*の増加を有意に低下させた。しかしながら、カテキン投与は反復騒音曝露による*Il1b*の増加に影響を及ぼさなかった。

(3) 反復騒音曝露によるシナプス数の減少に対する試験化合物投与の効果

騒音曝露は、聴力低下の認められた12-20kHzの音を受容する領域の内毛細胞に存在する蝸牛神経間とのシナプス数を曝露回数依存的に減少させ、反復騒音曝露後にはシナプス数が約

30%減少した。これに対して、反復騒音曝露前及び曝露期間中のクロロゲン酸、レスベラトロール投与は反復騒音曝露によるシナプス数の減少を有意に抑制した。しかしながら、カテキン投与は反復騒音曝露によるシナプス数の減少に影響を及ぼさなかった。

(4) SAMP1 マウスにおける加齢に伴う聴力低下に対する試験化合物投与の効果

SAMP1 マウスは 8 週齢より少なくとも 24 週齢にかけて徐々に聴力低下が生じ、24 週齢時において 4 kHz で約 15 dB、12 kHz で約 30dB、20 kHz で約 40 dB 低下した。これに対して、飼育期間中のクロロゲン酸、レスベラトロール摂取は加齢に伴う聴力低下を有意に抑制した。しかしながら、カテキン摂取は加齢に伴う聴力低下に影響を及ぼさなかった。

(5) SAMP1 マウスにおける加齢に伴う炎症性サイトカインの増加に対する試験化合物投与の効果

SAMP1 マウスは 4 週齢時と比較して 24 週齢時で *Il1b* の有意な増加が認められた。これに対して、レスベラトロール摂取はこの加齢に伴う *Il1b* の増加を有意に抑制した。

(6) SAMP1 マウスにおける加齢に伴うシナプス数に対する試験化合物投与の効果

SAMP1 マウスは 4 週齢時と比較して 24 週齢時で 12-20 kHz の音を受容する領域の内毛細胞に存在する蝸牛神経間とのシナプス数が約 25%減少した。これに対して、レスベラトロール摂取は加齢に伴うシナプス数の減少を有意に抑制した。しかしながら、カテキン摂取は加齢に伴うシナプス数の減少に影響を及ぼさなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 1. Pham HTN, Tran HN, Nguyen PT, Le XT, Nguyen KM, Phan SV, Yoneyama M, Ogita K, Yamaguchi T, Folk WR, Yamaguchi M, Matsumoto K.	4. 巻 21
2. 論文標題 Bacopa monnieri (L.) Wettst. Extract Improves Memory Performance via Promotion of Neurogenesis in the Hippocampal Dentate Gyrus of Adolescent Mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3365
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21093365	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 Hang Thi Nguyet Pham, Sinh Viet Phan, Hong Nguyen Tran, Xuyen Thi Phi, Xoan Thi Le, Khoi Minh Nguyen, Hironori Fujiwara, Masanori Yoneyama, Kiyokazu Ogita, Taro Yamaguchi, Kinzo Matsumoto	4. 巻 42
2. 論文標題 Bacopa monnieri (L.) Ameliorates Cognitive Deficits Caused in a Trimethyltin-Induced Neurotoxicity Model Mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 1384-1393
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/bpb.b19-00288.	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 該当する

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山口太郎、米山雅紀、尾中勇祐、荻田喜代一
2. 発表標題 蝸牛内マクロファージの活性化は内有毛細胞 蝸牛神経間シナプスを減少させる
3. 学会等名 第135回日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 尾中勇祐、新谷紀人、吾郷由希夫、中澤敬信、米山雅紀、山口太郎、橋本均、荻田喜代一
2. 発表標題 腫瘍切除後に認められるうつ様行動におけるプロスタノイドシグナルの関与
3. 学会等名 第136回日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口太郎、米山雅紀、尾中勇祐、荻田喜代一
2. 発表標題 蝸牛マクロファージの活性化は内有毛細胞 - 蝸牛神経間のシナプス数を減少させる
3. 学会等名 第136回日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口太郎、谷千咲、米山雅紀、尾中勇祐、荻田喜代一
2. 発表標題 反復騒音曝露後の内有毛細胞 蝸牛神経間のシナプス数減少における蝸牛内マクロファージの関与
3. 学会等名 次世代を担う創薬医療薬理シンポジウム2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 池田美海、米山雅紀、山口太郎、尾中勇祐、荻田喜代一
2. 発表標題 成体脳海馬歯状回ニューロン変性後のニューロン新生活活性化におけるperoxynitriteの関与
3. 学会等名 次世代を担う創薬医療薬理シンポジウム2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中野美穂、米山雅紀、佐藤麻由香、山口太郎、尾中勇祐、荻田喜代一
2. 発表標題 騒音誘発性聴覚障害における蝸牛内オートファジーによる防御機構の関与
3. 学会等名 次世代を担う創薬医療薬理シンポジウム2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中優衣、尾中勇祐、新谷紀人、吾郷由希夫、中澤敬信、米山雅紀、山口太郎、橋本均、荻田喜代一
2. 発表標題 腫瘍切除マウスの海馬におけるミクログリアの形態学的変化
3. 学会等名 次世代を担う創薬医療薬理シンポジウム2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 米山雅紀、山口太郎、尾中勇祐、荻田喜代一
2. 発表標題 成体脳海馬歯状回ニューロン変性後のニューロン新生におけるRho kinaseの関与
3. 学会等名 次世代を担う創薬医療薬理シンポジウム2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口太郎、昌原杏子、米山雅紀、尾中勇祐、荻田喜代一
2. 発表標題 レスベラトロール投与は反復騒音曝露による聴覚障害を軽減する
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西垣友紀子、山口太郎、米山雅紀、尾中勇祐、荻田喜代一
2. 発表標題 強大音響曝露による蝸牛構成細胞死および聴覚障害におけるp38 MAPKの関与
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 祝洗太郎、尾中勇祐、樋口美紀、山口太郎、米山雅紀、荻田喜代一
2. 発表標題 幼若期のシクロホスファミド急性投与による成熟期の脳機能変化
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020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	米山 雅紀 (Yoneyama Masanori) (00411710)	摂南大学・薬学部・准教授 (34428)	
研究分担者	山口 太郎 (Yamaguchi Taro) (30710701)	摂南大学・薬学部・講師 (34428)	

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
---------	---------