

機関番号：17601

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20791205

研究課題名（和文） インスリンは嗅覚において神経保護因子として働くのか：嗅覚障害の病態解明に向けて

研究課題名（英文） Whether insulin can act as a neurotrophic factor in olfactory sensation

研究代表者

佐藤 伸矢（SATO SHINYA）

宮崎大学・医学部・助教

研究者番号：50468047

研究成果の概要（和文）：本研究では、免疫染色法を用いて嗅粘膜上皮にインスリン受容体が発現していることを確認した。

また、ウシ副腎髄質クロマフィン細胞にて、カルシニューリンを阻害するとインスリン受容体シグナル分子中で IRS-2 のみが特異的に減少することを明らかにした。

さらに、砒素の慢性長期暴露歴を持つ方を対象に嗅覚を検討した。嗅覚低下は 51%、脱失は 22%認め、嗅覚障害は全体の 83%と高率で認められた。

研究成果の概要（英文）： We established the expression of insulin receptor in the olfactory mucosa by immunostaining method.

The calcineurin inhibition decreased specifically IRS-2 protein level by 50% in cultured bovine adrenal chromaffin cells, without changing IRS-2 mRNA level, and insulin receptor, insulin-like growth factor-1 receptor, IRS-1, PI3K/PDK-1/Akt/GSK-3 $\beta$  and ERK1/ERK2 protein levels.

Additionally, we examined olfactory sensation of persons who had the long term exposure of arsenicum. The impaired sense of smell was 51%, and the olfactory anesthesia was 22%.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009 年度	900,000	270,000	1,170,000
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

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：嗅覚、インスリン受容体、シグナル伝達

## 1. 研究開始当初の背景

脊椎動物の鼻腔には嗅覚受容器が存在し、この嗅覚受容器内の嗅レセプターニューロンは、その軸索を脳の嗅球に投射して、匂い情報を脳へ伝達している。この嗅レセプター

ニューロンの寿命は約 30 日と短命であり、そのため嗅覚受容器では、幹細胞が常に新生ニューロンを産生し続けている。そのため、多数の嗅レセプターニューロンが障害を受け死滅した場合でも、幹細胞からの再生がな

されて嗅覚障害は改善される。このニューロンの新生や再生には、多くの神経栄養因子が関わっていると考えられているが、詳細はほとんど解明されていない。一方、脳・神経系において、(1)インスリン受容体の細胞内シグナリングが、細胞生存・細胞死のシグナル伝達系を統合しており、神経回路網の形成・維持・修復を調節し、学習・記憶を促進すること、(2)インスリン受容体とその細胞内シグナル伝達分子の発現量や機能の異常が、加齢、痴呆、神経変性疾患(アルツハイマー病など)の病態に関与していること、(3)インスリン投与により、アルツハイマー病患者の学習・記憶能力は回復し、アルツハイマー病の病因であるβ-アミロイドの産生とタウの過剰リン酸化は阻止されることなどが、明らかにされつつある。

今回、嗅レセプターニューロンの新生や再生に神経栄養因子としてインスリン受容体シグナリングが関わっていると想定し、研究を進めている。また、基礎的な研究として神経系細胞であるウシ副腎髄質クロマフィン細胞にてインスリンシグナリングの解析も行っている。さらに、臨床的な検討として、砒素の慢性長期暴露歴を持つ方の嗅覚の検討も行った。

## 2. 研究の目的

(1)嗅レセプターニューロンにおいてインスリン受容体をはじめとするインスリン受容体シグナル分子の存在を証明し(嗅球においてはインスリン受容体の存在は確認されている)、インスリンが嗅レセプターニューロンの新生や再生に関与していないか解析すること。

(2)基礎的な研究として、ウシ副腎髄質クロマフィン細胞にてインスリンシグナル分子に対する調節機構を解析すること。

(3)臨床的な研究として砒素に対する慢性長期暴露歴を持つ方を対象にして嗅覚障害の程度を明らかにすること。

## 3. 研究の方法

(1)分子生物学的手法を用いて、嗅粘膜上皮におけるインスリン受容体シグナル分子の発現分布を解析し、基礎データを集積した。

嗅粘膜上皮におけるインスリンシグナル分子(インスリン受容体)蛋白分布の変動を免疫染色法により解析した。

(2)並行して、ウシ副腎髄質クロマフィン細胞において、サイクロスポリンAおよびFK506を用いてカルシニューリンを阻害し、インスリン受容体シグナル分子の変動を検討した。インスリン受容体やIGF-1受容体の細胞膜発現量は結合実験で解析した。タンパク質量、リン酸化量やユビキチン化量はウエ

スタンプロットで解析した。mRNA量はノーザンプロットで解析した。減少した分子に関しては、メタボリックラベリングを行い、産生率と分解率を解析した。

(3)さらに、砒素の慢性長期暴露歴を持ち、前鼻鏡所見で異常の認めない男性43人、女性48人に対し、スティック型嗅覚検査(全12問)および静脈性嗅覚検査を行い、嗅覚についての検討を行った。

## 4. 研究成果

(1)嗅粘膜上皮においてインスリン受容体が発現しているかどうか免疫染色法を用いて検討した。

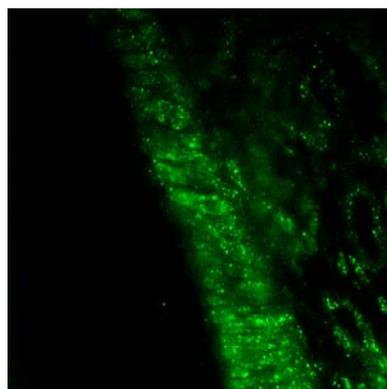


図1

嗅粘膜上皮にインスリン受容体が発現していることが明らかになった。

(2)インスリン受容体シグナリングの基礎的な研究としてウシ副腎髄質クロマフィン細胞にて、サイクロスポリンAおよびFK506でカルシニューリンを阻害するとインスリン受容体シグナル分子中でIRS-2のみが特異的に減少することを明らかにした。さらに、このIRS-2の減少はIRS-2のセリンリン酸化が増加し、プロテアソームでの分解が亢進することで生じることを明らかにした。また、IRS-2が減少している状態では、インスリンシグナリングおよびIGF-1シグナリングが減少することも明らかになった(業績論文)。(3)

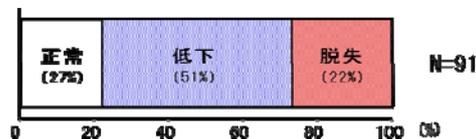


図2

砒素の慢性長期暴露歴を持つ方を対象にスティック型嗅覚検査にて嗅覚を検討した。嗅覚低下は51%、脱失は22%認め、嗅覚障害は全体の83%と高率で認められた。



図3

砒素の慢性長期暴露歴を持つ方を対象に静脈性嗅覚検査にて嗅覚を検討すると、持続時間が65%で低下し、18%で消失していた。嗅覚障害は全体で83%と高率で認められた。

以上の結果(3)は学会発表で報告した。

#### 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6件)

Nemoto T, Miyazaki S, Kanai T, Maruta T, Satoh S, Yoshikawa N, Yanagita T, Wada A: Nav1.7-Ca<sup>2+</sup> influx-induced increased phosphorylations of extracellular signal-regulated kinase (ERK) and p38 attenuate tau phosphorylation via glycogen synthase kinase-3beta: priming of Nav1.7 gating by ERK and p38. *Eur J Pharmacol*, 640:20-8, 2010

Nemoto T, Satoh S, Maruta T, Kanai T, Yoshikawa N, Miyazaki S, Yanagita T, Wada A: Homologous posttranscriptional regulation of insulin-like growth factor-I receptor level via glycogen synthase kinase-3beta and mammalian target of rapamycin in adrenal chromaffin cells: effect on tau phosphorylation. *Neuropharmacology*, 58:1097-108, 2010

Yoshikawa N, Nemoto T, Satoh S, Maruta T, Yanagita T, Chosa E, Wada A: Distinct regulation of insulin receptor substrate-1 and -2 by 90-kDa heat-shock protein in adrenal chromaffin cells. *Neurochem Int*, 56:42-50, 2010

Yanagita T, Maruta T, Nemoto T, Uezono Y, Matsuo K, Satoh S, Yoshikawa N, Kanai T, Kobayashi H, Wada A: Chronic lithium treatment up-regulates cell surface Na(V)1.7 sodium channels via inhibition of glycogen synthase kinase-3 in adrenal chromaffin cells: enhancement of Na(+) influx, Ca(2+) influx and catecholamine secretion after lithium withdrawal. *Neuropharmacology* 57(3):311-21, 2009

Kanai T, Nemoto T, Yanagita T, Maruta T, Satoh S, Yoshikawa N, Wada A: Nav1.7 sodium channel-induced Ca<sup>2+</sup> influx decreases tau phosphorylation via

glycogen synthase kinase-3beta in adrenal chromaffin cells. *Neurochem Int* 54(8):497-505, Epub 2009

Satoh S, Yanagita T, Maruta T, Nemoto T, Yoshikawa N, Kobayashi H, Tono T, Wada A: Proteasomal degradation of IRS-2, but not IRS-1 by calcineurin inhibition: attenuation of insulin-like growth factor-I-induced GSK-3beta and ERK pathways in adrenal chromaffin cells. *Neuropharmacology*, 55(1):71-9, 2008

[学会発表](計26件)

佐藤伸矢, 平原信哉, 木原あゆみ, 東野哲也: 砒素暴露歴のある住民(土呂久地区)における嗅覚障害の検討. 第115回日耳鼻宮崎県地方部会学術講演会, 2010年12月11日

佐藤伸矢, 福留真二, 清水謙祐, 東野哲也: 上鼓室天蓋骨欠損を併した上半規管裂隙症候群例. 第69回日本めまい平衡医学会総会・学術講演会, 2010年11月18-19日

後藤隆史, 松田圭二, 佐藤伸矢, 東野哲也: 中耳真珠腫における乳突部の蜂巢発育程度と後壁保存型手術後の再含気. 第20回日本耳科学会総会・学術講演会, 2010年10月7-9日

佐藤伸矢, 河野浩万, 松田圭二, 東野哲也: 聴力改善手術による骨導閾値への影響. 第20回日本耳科学会総会・学術講演会, 2010年10月7-9日

佐藤伸矢, 外山勝浩, 土屋克之, 奥田匠, 直野秀和, 東野哲也: 慢性砒素中毒における嗅覚の検討. 第49回日本鼻科学会総会ならびに学術講演会, 2010年8月26-28日

奥田匠, 松田圭二, 佐藤伸矢, 外山勝浩, 直野秀和, 土屋克之, 東野哲也: 鼻腔内反性乳頭腫に紡錘細胞癌を併した1例. 第49回日本鼻科学会総会ならびに学術講演会, 2010年8月26-28日

佐藤伸矢, 河野浩万, 外山勝浩, 東野哲也, 楠原和朗: 放射線治療が奏効した前頭蓋底腺癌症例. 第14回宮崎県放射線治療研究会, 2010年2月27日

松田圭二, 河野浩万, 佐藤伸矢, 外山勝浩, 東野哲也: 中耳根治術後例に対する

薄切軟骨を用いた外耳道鼓室再建術．第20回日本頭頸部外科学会総会ならびに学術講演会，2010年1月28-29日

佐藤伸矢，河野浩万，外山勝浩，東野哲也：篩骨洞から前頭蓋底に進展した腺癌症例．第3回九州頭頸部癌フォーラム，2009年11月28日

佐藤伸矢，平原信哉，加藤榮司，東野哲也：慢性砒素中毒症における嗅覚障害の検討．第19回宮崎県耳鼻咽喉科懇話会，2009年7月24日

平原信哉，佐藤伸矢，東野哲也：オルファクトメーターとスティック型嗅覚検査の比較検討．第19回宮崎県耳鼻咽喉科懇話会，2009年7月24日

佐藤伸矢，外山勝浩，東野哲也：気管切開術を施行したNoonan症候群の1例．第4回日本小児耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会，2009年6月27-28日

佐藤伸矢：免疫抑制薬によるインスリン受容体シグナルの減弱．第110回日耳鼻宮崎県地方部会，2009年5月23日

藤井将人，佐藤伸矢，長井慎成，河野浩万：当科における過去5年間の顔面神経麻痺の検討．第110回日耳鼻宮崎県地方部会，2009年5月23日

松田圭二，中西悠，福留真二，佐藤伸矢，平原信哉，河野浩万，東野哲也：中耳根治術後例に対する薄切耳介軟骨を用いた外耳道・鼓室再建術．第19回日本頭頸部外科学会総会ならびに学術講演会，2009年1月29-30日

中島崇博，佐藤伸矢，南愼一：PET-CTの頸部リンパ節転移擬陽性例．第109回日耳鼻宮崎県地方部会学術講演会，2008年12月13日

佐藤伸矢，河野浩万，外山勝浩，植木義裕，東野哲也，南愼一，矢野博美：前頭蓋底に進展した篩骨洞軟骨肉腫症例．第109回日耳鼻宮崎県地方部会学術講演会，2008年12月13日

南愼一，中島崇博，佐藤伸矢：県立延岡病院 平成20年入院・手術統計．第109回日耳鼻宮崎県地方部会学術講演会，2008年12月13日

佐藤伸矢，河野浩万，南愼一，外山勝浩，

植木義裕，東野哲也：術前に診断できなかった前頭蓋底軟骨肉腫症例．第2回九州頭頸部癌フォーラム，2008年11月29日

後藤隆史，佐藤伸矢，外山勝浩，河野浩万，東野哲也：前庭障害による入院加療中に深部静脈血栓症から肺血栓症を生じた1例．第18回日本耳科学会総会・学術講演会，2008年10月16-18日

21 土屋克之，佐藤伸矢，外山勝浩，河野浩万，東野哲也：当科で手術を施行した幼少児中耳真珠腫症例の検討．第18回日本耳科学会総会・学術講演会，2008年10月16-18日

22 後藤隆史，中西悠，川畑隆之，佐藤伸矢，鳥原康治，外山勝浩，河野浩万，東野哲也：平成19年に宮崎県下4施設で入院加療を行った急性喉頭蓋炎33症例の臨床的検討．第21回日本口腔・咽頭科学会，2008年9月11-12日

23 佐藤伸矢，中島崇博：喉頭癌頸部転移と鑑別を要した悪性リンパ症例．第9回宮崎県北耳鼻咽喉科臨床会，2008年7月4日

24 清水謙祐，吉田建世，佐藤伸矢，中島崇博：精神症状を認めた遅発性内リンパ水腫2症例．第9回宮崎県北耳鼻咽喉科臨床会，2008年7月4日

25 佐藤伸矢，土屋克之，中島崇博，東野哲也：急速に進行した両側小児真珠腫症例．第3回日本小児耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会，2008年6月21-22日

26 土屋克之，佐藤伸矢，河野浩万，外山勝浩，福留真二，東野哲也：当科で手術を施行した乳幼児中耳真珠腫症例の検討．第109回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会，2008年5月15-17日

〔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〕

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

佐藤 伸矢 (SATO SHINYA)  
宮崎大学・医学部・助教  
研究者番号：50468047

### (2) 研究分担者

研究者番号：

### (3) 連携研究者

研究者番号：