

令和 6 年 5 月 25 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K18309

研究課題名（和文）Streptozotocinが有する聴覚障害・前庭障害の横断的な検討

研究課題名（英文）Examination of hearing impairment and vestibular dysfunction associated with streptozotocin

研究代表者

杉本 賢文（Sugimoto, Satofumi）

名古屋大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30759668

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：C57BL/6Jマウスの鼓室内へStreptozotocin（STZ）、Gentamicin（GM）、生理食塩水を投与し、4週間後に聴性脳幹反応（ABR）、歪成分耳音響放射（DPOAE）、平衡機能評価を行った。ABRでは生理食塩水投与群と比較し、STZ投与群、GM投与群共に4kHzから32kHzのすべての周波数にて有意な閾値上昇を認めた。DPOAEでは生理食塩水投与群と比較し、STZ投与群では5.6kHzから22kHz、GM投与群では5.6kHzから16kHzの周波数にて有意な反応悪化を認めた。平衡機能評価ではGM投与群のみで異常を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

STZ鼓室内投与により聴力障害が誘発されることは報告例がなく、本研究により初めて基礎データが得られた。聴力障害所見の中でも、主に蝸牛の外有毛細胞活性を反映するDPOAEの悪化を認めるため、STZ鼓室内投与により蝸牛障害が生じることが示唆された。また、STZ鼓室内投与により前庭機能障害は誘発されないことも示唆された。今後は、例数を増やすと共に、他の系統のマウスでの測定も実施して、慎重に検証を重ねる予定である。

研究成果の概要（英文）：We used C57BL6 / J mice. We had performed auditory brainstem response (ABR), distortion component otoacoustic emission (DPOAE) and balance test 4 weeks after intratympanic injection of streptozotocin (STZ), gentamicin (GM) and saline. Compared to the saline group, ABR results were significantly deteriorated at frequencies of 4 kHz to 32 kHz in the STZ and GM groups. DPOAE amplitudes were also significantly deteriorated at frequencies of 5.6 kHz to 22 kHz in the STZ group and 5.6 kHz to 16 kHz in the GM group. Balance disorder was observed only in the GM group.

研究分野：耳鼻咽喉科学

キーワード：Streptozotocin 聴力 前庭機能 ABR DPOAE 糖尿病 マウス

1. 研究開始当初の背景

糖尿病の有病者数は全世界で4億人を超え、健康寿命に大きな影響を与えている。糖尿病の合併症としては、糖尿病網膜症、糖尿病腎症、糖尿病神経障害の三大合併症が有名であるが、糖尿病は合併症として難聴を来し(Bainbridge et al. Diabetes Care 2011)、身体の動揺性も悪化する(Giacomini et al. Diabetes Care 1996)ことを、各国の研究者らに報告されている。糖尿病性聴覚障害に関しては糖尿病モデル動物を用いた基礎研究が進められており、蝸牛の微小血管障害や聴神経障害などが原因として想定されているが、治療法や予防法は確立していない。内耳には聴覚系の重要器官である蝸牛と、平衡系の重要器官である前庭・半規管が共存し、聴神経という中枢への伝達路を共有するため、聴覚と平衡機能との関連性は深い。解剖学的観点以外にも、難聴は重心動揺のリスク因子であるとの報告もあり(Springer et al. Am J Ind Med 2003)、糖尿病性聴覚障害と糖尿病性前庭障害の間には関連性が予測され、双方を横断的に評価することは重要である。

糖尿病モデル動物を作製する方法として、哺乳類の膵臓細胞への毒性を有するStreptozotocin (STZ)を投与する方法や、高脂質食負荷を行う方法が確立されており、糖尿病や糖尿病関連疾患に対する基礎研究のために世界的に広く用いられている(Gheibi et al. Biomedicine & Pharmacotherapy 2017)。しかしながら、糖尿病性内耳障害を研究する上では双方共に問題点を認める。C57BL/6Jマウスに高脂質食負荷を行うと、加齢性難聴進行を「抑制する」効果を認める(Fujita et al. PLOS ONE 2015)と報告されており、高脂質食負荷法は糖尿病性内耳障害研究のためには不向きと言える。一方、STZは耳毒性があるGentamicin (GM)を含むアミノグリコシド系抗生物質と類似した化学構造を有しており、STZ自体が内耳毒性を有している可能性が高い。STZで誘導した糖尿病モデルマウス/ラットを用いた糖尿病性聴覚障害、糖尿病性前庭障害に関する基礎研究は一定数存在しているが、論文内にLimitationとして、STZによる内耳毒性の可能性に言及した形で報告されるケースが散見される(Wu et al. Laryngoscope 2009、Hong et al. Neuroscience Letters 2008)。つまり、STZの内耳毒性を評価することは、糖尿病性内耳障害に対する基礎研究を推進するために重要である。

2. 研究の目的

C57BL/6Jマウスの鼓室内へSTZ、GM、生理食塩水を投与し、聴性脳幹反応(ABR)、歪成分耳音響放射(DPOAE)、平衡機能評価を実施することにより、STZの耳毒性を定性的に評価することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

5週齢のC57BL/6J系統のマウスを対象に右耳へ3日連続で鼓室内投与を実施した。STZとGMは5mgを生理食塩水25μLに溶解し作成した溶液を投与し、対照群には生理食塩水25μLを投与した。STZ投与マウスは5匹、GMと生理食塩水投与マウスは4匹ずつを用意した。鼓室内投与前と投与4週後に体重測定、聴力評価として聴性脳幹反応(ABR)、歪成分耳音響放射(DPOAE)、平衡機能評価を実施した。血糖値は鼓室内投与5週後に実施した。統計的有意差は、one-way repeat measure ANOVA、Dunnettテストにより検定し、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

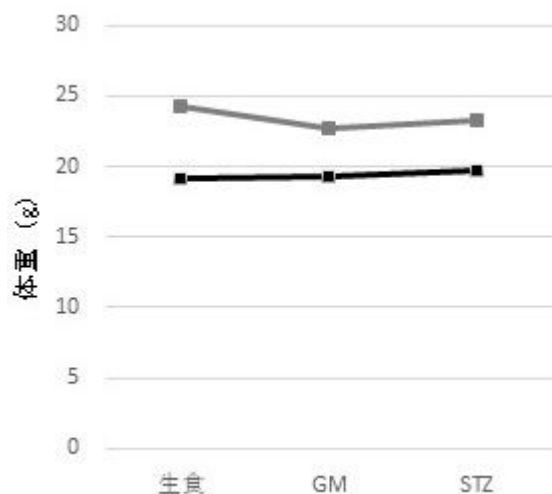
4. 研究成果

鼓室内投与4週間後に鼓膜を観察したところ、鼓膜穿孔が残存していたマウスは存在しなかった。また、体重、血糖値共に各群間の有意差は認めなかった(図1、図2)。ABRでは生食投与群と比較し、STZ投与群、GM投与群共に4kHzから32kHzのすべての周波数にて有意な閾値上昇を認めた(図3)。DPOAEでは生食投与群と比較し、STZ投与群では5.6kHzから22kHz、GM投与群では5.6kHzから16kHzの周波数にて有意な反応悪化を認めた(図4)。鼓室内投与4週間後の平衡機能評価ではGM投与群にて平衡障害所見(右側への傾き歩行、尻尾から逆さに吊るす際や水泳時の異常回転運動)を認めたが、STZ群や生理食塩水群では平衡障害を示唆する所見は認めなかった。

GM鼓室内投与マウスでは既報の通り、聴力障害所見と平衡機能障害所見を認めた。一方、STZ鼓室内投与マウスでは聴力障害所見を認めたが、平衡障害所見は認めなかった。STZ鼓室内投与では主に聴力障害が誘発されることが示唆された。また、聴力障害所見の中でも、主に蝸牛の外有毛細胞活性を反映するDPOAEの悪化を認めるため、STZ鼓室内投与により蝸牛障害が生じることが示唆された。

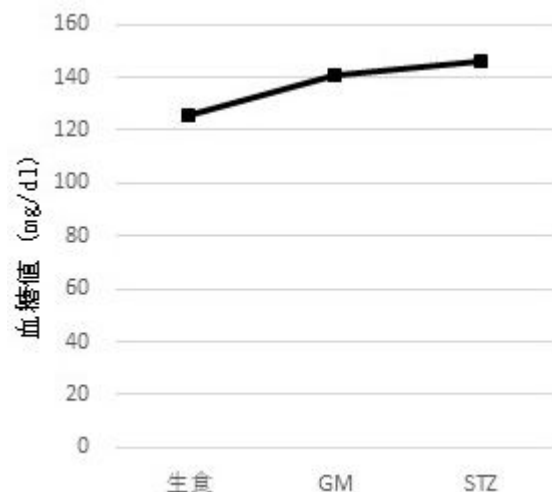
STZ鼓室内投与により聴力障害が誘発されたとの報告例は無く、本研究により初めて基礎データが得られた。今後は、例数を増やすと共に、他の系統のマウスでの測定も実施して、慎重に検証を重ねる予定である。

図1 鼓室内投与マウスの体重の推移



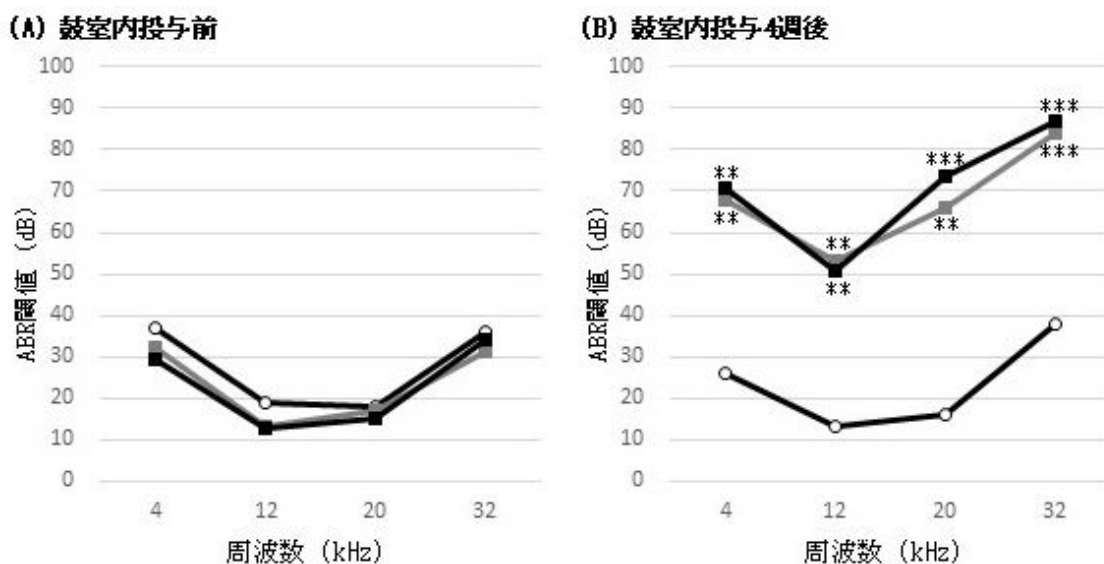
STZ 投与マウス、GM 投与マウス、対象群である生理食塩水投与マウスの鼓室内投与前（黒四角）と鼓室内投与4週間後（灰四角）の体重の推移。各群の統計的有意差は one-way repeat measure ANOVA、Dunnett テストにより解析した所、有意な差は認めなかった。

図2 鼓室内投与マウスの血糖値（鼓室内投与5週間後）



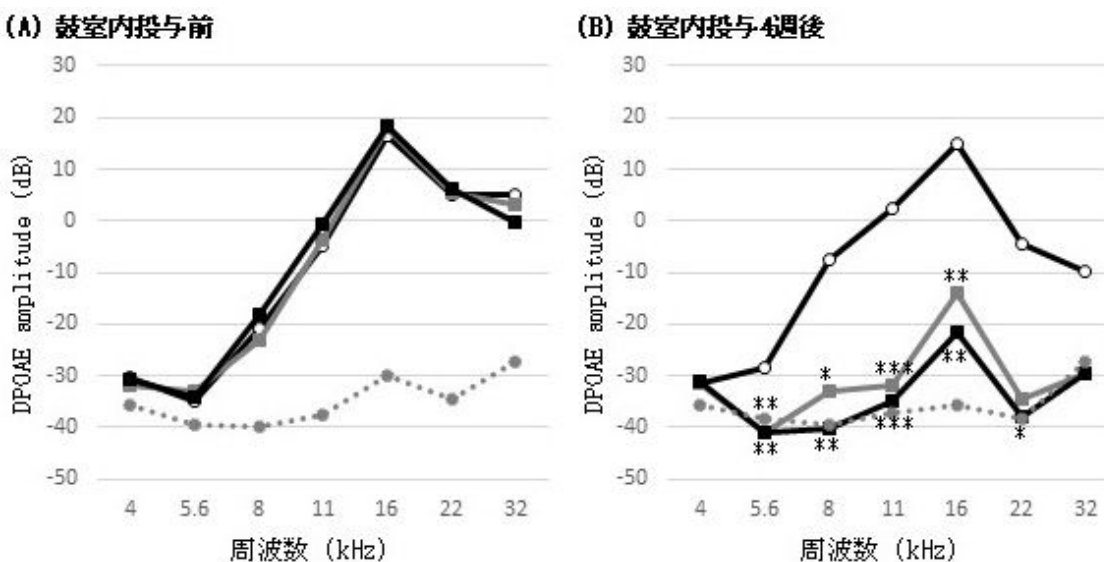
STZ 投与マウス、GM 投与マウス、対象群である生理食塩水投与マウスの鼓室内投与5週間後の血糖値。各群の統計的有意差は one-way repeat measure ANOVA、Dunnett テストにより解析した所、有意な差は認めなかった。

図3 鼓室内投与マウスの ABR の推移



STZ 投与マウス(黒四角)、GM 投与マウス(灰四角)、対象群である生理食塩水投与マウス(白丸)の ABR 閾値の推移。各群の統計的有意差 (** $p < 0.01$ 、*** $p < 0.001$) は one-way repeat measure ANOVA、Dunnett テストにより解析した。

図4 鼓室内投与マウスの DPOAE の推移



STZ 投与マウス(黒四角)、GM 投与マウス(灰四角)、対象群である生理食塩水投与マウス(白丸)の DPOAE の推移。点線は各群のバックグラウンドレベルを示す。各群の統計的有意差 (* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$ 、*** $p < 0.001$) は one-way repeat measure ANOVA、Dunnett テストにより解析した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 杉本賢文
2. 発表標題 次世代セッション 糖尿病性聴覚障害・前庭障害に対する基礎と臨床の横断的検討
3. 学会等名 第84回 耳鼻咽喉科臨床学会（招待講演）
4. 発表年 2022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
---------------------------	-----------------------	----

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