

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 4月30日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22591882

研究課題名（和文）加齢内耳における老化遺伝子の変化と熱ショック応答について

研究課題名（英文）The Change of Heat Shock Response in the Aging Inner Ear

研究代表者

菅原 一真 (SUGAHARA KAZUMA)

山口大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：20346555

研究成果の概要（和文）：高齢化社会において、老人性難聴は高齢者の QOL を低下させる要因のひとつである。本研究では老人性難聴の発症に老化関連遺伝子が関与している可能性を考え、老人性難聴モデルマウスの内耳における遺伝子発現を検討した。老人性難聴に似た症状を示すマウス（HSF1 欠損マウス、TSOD マウス）を用いた検討ではいわゆる老化遺伝子の変化は認めなかった。ただし TSOD マウスでは老化に関係するとされる IGF-1 遺伝子の発現低下を認めた。発現の変化した遺伝子は膨大な数に及ぶため、その意義について検討中である。結果が評価でき次第、論文発表する予定である。

研究成果の概要（英文）：In an aging society, age-related hearing loss is one of the factors to reduce the QOL of the elderly. In the study, we examined gene expression in inner ear of age-related deafness mouse model, as the senescence-associated genes are involved in the development of presbycusis. I was no change in the gene associated with aging in the study using (HSF1-deficient mice, TSOD mouse) mice exhibit symptoms similar to presbycusis. However, the expression of IGF-1 gene decreased in aging TSOD mouse. The expression of the other kinds of gene was changed. We are analyzing the reason for the change of the gene expression after aging.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
2012 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	2,800,000	840,000	3,640,000

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：内耳，老化，熱ショック応答

1. 研究開始当初の背景

高齢化社会において、老人性難聴は高齢者

の QOL を低下させる要因のひとつである。哺乳動物の感覚細胞はひとたび障害されると再生されることはなく、細胞保護が重要と

なる。申請者は、これまで老人性難聴モデルマウスを用いた研究を行い、加齢によって内耳の熱ショック応答が減弱し、結果として内耳感覚細胞が障害を受けやすくなること、薬剤で熱ショック応答を維持すると老人性難聴が抑制されることを報告した(Mikuriya, Sugahara et al, Brain Res 2008)。しかしながら、加齢した内耳において熱ショック応答が減弱する原因は不明であった。最近、長寿遺伝子 Sirt1 が熱ショック応答を調節していることが明らかになった(Westerheide SD, et al, Science 2009)。しかし、内耳における長寿遺伝子の研究はほとんど報告されていない。そこで、申請者は加齢による内耳熱ショック応答の減弱の原因を長寿遺伝子の発現に関係していると考え、本研究を着想した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、加齢内耳における熱ショック応答減弱の原因を明らかにし、将来的に老人性難聴の予防法の開発につながる研究を行うことである。そのため老人性難聴を示すモデル動物(HSF1欠損マウス、糖尿病モデルマウス)の内耳における遺伝子発現についてDNAマイクロアレイ解析を用いて検討した。また、長寿遺伝子 Sirt1 を活性化することで知られるポリフェノールであるレスベラトロールを卵形嚢器官培養に曝露し、有毛細胞に対する保護効果について検討した。

3. 研究の方法

(1)内耳における熱ショック応答と長寿遺伝子の関係

老人性難聴を示すことを明らかにした2種類の動物(HSF1欠損マウス、糖尿病モデルマウス)を用いた。ABR 閾値を測定することで、聴覚について評価した。HSF1欠損マウスは、5か月齢までは聴覚の変化を認めなかったが、それ以降は難聴が出現した。糖尿病モデルマウスでは7か月頃より難聴が出現し、徐々に進行することが明らかになった。そこで、これらの全蝸牛を摘出し、mRNAを採取、DNAマイクロアレイ解析を行った。

(2)Resveratrolによる治療モデルの作成

前半の研究結果により、長寿遺伝子のひとつである Sirt1 が我々の用いたモデル動物では変化していないことが明らかになったので、in vivoではなく、卵形嚢培養を用いた in vitro の実験で内耳有毛細胞に対する効果を検討した。CBA/マウスより深麻酔下に清潔操作で卵形嚢を採取した。組織は培養液

(BME/EBSS 2:1 %v)に浮遊させ培養した。2 mMのネオマイシンを培地に加え、有毛細胞死

を誘導した。ネオマイシン(2 mM)に曝露させる1時間前に Resveratrol を1-100 μMの濃度で培地に少量のDMSOとともに溶解させ、24時間の培養終了後、固定した。有毛細胞は抗カルモデュリン抗体、抗カルビンディン抗体を用いた2重免疫組織化学染色を行い、単位面積あたりの有毛細胞数を評価した。

4. 研究成果

(1)この実験では、HSF1欠損マウスでは熱ショック蛋白質群の発現が減弱しており、加齢と共に感覚細胞が障害される原因のひとつであると考えられたが、長寿関連遺伝子には有意な変化は認めなかった。糖尿病モデルマウスでは、寿命を制御しているとされる IGF-1 の発現低下が認められ、老人性難聴に関係している可能性が示唆された。

(2)ネオマイシンに曝露された卵形嚢では24時間で約50%の有毛細胞が消失していた。しかしながら、Resveratrolを加えた群では有毛細胞の消失が有意に抑制されていた。このことから、Sirt1の関与は不明であるが、Resveratrolは有毛細胞を保護する働きを持つことが示された。

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14件)

- ① 菅原一真, 山下裕司. 特集 耳鼻咽喉科領域のアンチエイジング. 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 84:541-544, 2012. 査読無
- ② 菅原一真, 山下裕司. 急性感音難聴における新規治療の可能性 抗酸化薬. JOHNS 28:803-805, 2012. 査読無
- ③ 菅原一真, 山下裕司. インフルエンザ桿菌. 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 84:103-105, 2012. 査読無
- ④ Tetsuya Nakamoto, Takefumi Mikuriya, Kazuma Sugahara, Yoshinobu Hirose, Tomoko Hashimoto, Hiroaki Shimogori, Ryosuke Takii, Akira Nakai, Hiroshi Yamashita. Geranylgeranylacetone suppresses noise-induced expression of proinflammatory cytokines in the cochlea. Auris Nasus Larynx 39:270-274, 2012. 査読有
- ⑤ Hideki Toyota, Hiroaki Shimogori, Kazuma Sugahara, Hiroshi Yamashita. A novel treatment for vestibular disorder with FGLM-NH2 plus SSSR. Neuroscience Letters 526:128-132, 2012. 査読有
- ⑥ 菅原一真, 山下裕司. 点耳薬の副作用.

- ENTONI : 61-63, 2011. 査読無
- ⑦ 菅原一真, 御厨剛史, 橋本 誠, 原 浩貴, 山下裕司. 初期療法におけるブランルカスト, モメタゾンフランカルボン酸点鼻薬の併用効果. 耳鼻免疫アレルギー 29 : 130-131, 2011. 査読無
- ⑧ 菅原一真, 山下裕司. II. 病原体をマスタする 1. 細菌・原虫感染症 4) インフルエンザ桿菌. 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 83 : 88-90, 2011. 査読無
- ⑨ 菅原一真, 橋本 誠, 下郡博明, 山下裕司. 小児急性中耳炎診療ガイドラインに基づいた治療と検出菌の変化. 日本耳鼻咽喉科感染症研究会会誌 29 : 15-18, 2011. 査読無
- ⑩ Hideki Toyota, Hiroaki Shimogori, Kazuma Sugahara, Hiroshi Yamashita. Topical Application of Substance P Facilitates Vestibular Functional Recovery Induced by AMPA in the Guinea Pig. Bull Yamaguchi Med Sch 58(3-4):31-36, 2011. 査読有
- ⑪ 菅原一真, 原 浩貴, 御厨剛史, 橋本 誠, 大久保公裕, 山下裕司. スギ花粉症における睡眠障害に対するベジル酸ベポタスチンの効果. 免疫アレルギー 28 : 193-194, 2010. 査読無
- ⑫ 菅原一真. 老人性難聴における熱ショック応答の役割. Otolology Japan 20 : 208-212, 2010. 査読無
- ⑬ 菅原一真, 橋本 誠, 御厨剛史, 下郡博明, 山下裕司. 小児急性中耳炎診療ガイドライン(2009年版)に基づいた診療の有効性について. 日本耳鼻咽喉科感染症研究会会誌 28 : 31-34, 2010. 査読無
- ⑭ 菅原一真, 原 浩貴, 御厨剛史, 橋本 誠, 大久保公裕, 山下裕司. ベポタスチンベシル酸塩のスギ花粉症に対する臨床効果～睡眠に関する検討～. アレルギー・免疫 17 : 136-142, 2010. 査読無

[学会発表] (計 28 件)

- ① 菅原一真 : 老化と聞こえ 耳の日市民公開講座 2013. 3. 2 ニューメディアプラザ山口 (山口) (講演)
- ② Kazuma Sugahara, Junko Tsuda, Eiju Kanagawa, Yoshinobu Hirose, Takefumi Mikuriya, Makoto Hashimoto, Hiroaki Shimogori, Hiroshi Yamashita : Age Related Changes in the Inner Ear of the Mouse Model of Metabolic Syndrome. 36th Annual MidWinter Research Meeting of the Association for Research in Otolaryngology Baltimore 2013. 2. 16 San Diego (USA) (ポスター)
- ③ 菅原一真 : メタボリックシンドロームと聴覚障害 第 8 回 山口県めまい・難聴治療研究会 2012. 10. 25 ホテルニュータナカ (山口) (教育講演)
- ④ 菅原一真, 津田潤子, 橋本 誠, 金川英寿, 山下裕司 : メタボリック症候群モデル動物の内耳における変化 第 57 回 日本聴覚医学会総会・学術講演会 2012. 10. 11 国立京都国際会館 (京都) (講演)
- ⑤ 菅原一真, 広瀬敬信, 御厨剛史, 下郡博明, 山下裕司 : HFS1 欠損マウスを用いた老人性難聴の研究 第 22 回 日本耳科学会総会・学術講演会 2012. 10. 4 名古屋国際会議場 (愛知) (シンポジスト)
- ⑥ 菅原一真, 津田潤子, 広瀬敬信, 下郡博明, 山下裕司 : メタボリック症候群と内耳における遺伝子発現について 第 1 回 耳鼻咽喉科フロンティアカンファレンス 2012. 9. 15 旭川グランドホテル (北海道) (講演)
- ⑦ 菅原一真 : 山口県の臨床データより 第 42 回 日本耳鼻咽喉科感染症研究会ならびに第 36 回 日本医用エアロゾル研究会 2012. 9. 7 海峡メッセ下関 (山口) (シンポジスト)
- ⑧ 菅原一真, 津田潤子, 御厨剛史, 下郡博明, 山下裕司 : メタボリック症候群モデルマウスの内耳における遺伝子発現について 第 6 回 聴覚アンチエイジング研究会 2012. 7. 7 慶応病院 (東京) (講演)
- ⑨ 菅原一真, 津田潤子, 山下裕司 : 糖尿病モデルマウスにおける加齢性難聴について 第 12 回 日本抗加齢医学会総会 2012. 6. 22 パシフィコ横浜 (神奈川) (ポスター)
- ⑩ Kazuma Sugahara, Syuhei Yoshida, Makoto Hashimoto, Yoshinobu Hirose, Hiroaki Shimogori, Hiroshi Yamashita : The minimum peptides of IGF-I and Substance P can protect vestibular hair cells against the neomycin ototoxicity. 27th Barany Society Meeting 2012. 6. 10 Uppsala (Sweden) (ポスター)
- ⑪ Kazuma Sugahara, Hiroaki Shimogori, Hiroshi Yamashita : The Case of Congenital Cholesteatoma Spontaneously Cured During Observation. The 9th International Conference on Cholesteatoma and Ear Surgery 2012. 6. 3 長崎ブリックホール (長崎) (ポスター)
- ⑫ Kazuma Sugahara, Junko Tsuda, Takefumi Mikuriya, Makoto Hashimoto, Hiroaki Shimogori, Hiroshi Yamashita : Age-related Hearing Loss in Animal Model of Diabetes with Obesity. The First Asian Otology Meeting & The 3rd

- East Asian Symposium on Otolology
2012.6.2 長崎ブリックホール (長崎)
(ポスター)
- ⑬ 菅原一真, 御厨剛史, 橋本 誠, 原 浩貴, 山下裕司: 抗ロイコトリエン薬、ステロイド点鼻薬を併用したスギ花粉症初期療法 第113回 日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 2012.5.10 朱鷺メッセ (新潟) (講演)
- ⑭ 菅原一真: 小児急性中耳炎治療における経口抗菌薬の有用性について 第4回 山口県市中感染症研究会勉強会 2012.4.26 山口グランドホテル (山口) (教育講演)
- ⑮ 菅原一真: 点鼻ステロイド薬を使用したアレルギー性鼻炎の初期療法 山口県耳鼻咽喉科黄砂研究会 2012.4.5 ANAクラウンプラザホテル宇部 (山口) (特別講演)
- ⑯ Kazuma Sugahara, Junko Tsuda, Eiju Kanagawa, Takefumi Mikuriya, Makoto Hashimoto, Hiroaki Shimogori, Hiroshi Yamashita: Age Related Hearing Loss in the Animal Model of Diabetes with Obesity 35th Annual MidWinter Research Meeting of the Association for Research in Otolaryngology 2012.2.25 San Diego (USA) (ポスター)
- ⑰ 菅原一真: 花粉症治療におけるプランルカスト水和物と点鼻ステロイド併用による初期療法 学術講演会 2012.2.9 山口グランドホテル (山口) (教育講演)
- ⑱ 菅原一真, 御厨剛史, 橋本 誠, 原 浩貴, 山下裕司: プランルカスト, ステロイド点鼻薬を併用した初期療法 (第2報) 第30回 日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会 2012.1.16 琵琶湖ホテル (滋賀) (ポスター)
- ⑲ Kazuma Sugahara, Junko Tsuda, Hiroshi Yamashita: Age related hearing loss in animal model of diabetes with obesity. 11th Japan-Taiwan Conference on Otolaryngology-Head and Neck Surgery 2011.12.8 ANAクラウンプラザホテル神戸 (兵庫) (講演)
- ⑳ 菅原一真, 橋本 誠, 御厨剛史, 下郡博明, 山下裕司: 突発性難聴に対するエダラボン鼓室内投与併用療法—第2報— 第56回 日本聴覚医学会総会・学術講演会 2011.10.27 アクロス福岡 (福岡) (講演)
- ㉑ 菅原一真: 老人性難聴と内耳保護の試み 第7回 山口県めまい・難聴治療研究会 2011.10.13 ホテルニュータナカ (山口) (教育講演)
- ㉒ 菅原一真, 津田潤子, 御厨剛史, 下郡博明, 山下裕司: 糖尿病モデルマウスの聴覚と加齢による変化 第5回 聴覚アンチエイジング研究会 2011.7.2 慶応病院 (東京) (講演)
- ㉓ 菅原一真, 御厨剛史, 津田潤子, 山下裕司: 糖尿病モデルマウスにおける加齢と聴覚について 第11回 日本抗加齢医学会総会 2011.5.27 国立京都国際会館 (京都) (ポスター)
- ㉔ Kazuma Sugahara, Makoto Hashimoto, Takefumi Mikuriya, Hiroaki Shimogori, Hiroshi Yamashita: Intratympanic Free Radical Scavenger (Edaravone) as Rescue Therapy in Sudden Sensorineural Hearing Loss. 34th ASSOCIATION FOR RESEARCH IN OTOLARYNGOLOGY 2011.2.19 Baltimore (USA) (ポスター)
- ㉕ Kazuma Sugahara, Takefumi Mikuriya, Makoto Hashimoto, Hiroaki Shimogori, Hiroshi Yamashita: The Protective Effect of Resveratrol against the Hair Cell Degeneration Induced by Neomycin. Sixth International Symposium on Meniere's Disease and Inner Ear Disorders 2010.11.14 国立京都国際会館 (京都) (講演)
- ㉖ Kazuma Sugahara, Takefumi Mikuriya, Yoshinobu Hirose, Yujiro Fukuda, Hideki Toyota, Kenji Takeno, Makoto Hashimoto, Hiroaki Shimogori, Hiroshi Yamashita: The protective effect of resveratrol on vestibular hair cells death 26th Barany Society Meeting 2010.8.18 Reykjavik (Iceland) (海外招待講演)
- ㉗ 菅原一真, 御厨剛史, 広瀬敬信, 下郡博明, 山下裕司: サプリメントによる内耳保護効果について 第4回 聴覚アンチエイジング研究会 2010.7.2 慶応病院 (東京) (講演)
- ㉘ 菅原一真: 音響傷害と老人性難聴 第1回 研究推進体「ストレス」フォーラム 2010.6.15 山口大学医学部 (山口) (講演)
- [図書] (計1件)
- ① 菅原一真, 山下裕司. 永井書店. 感音難聴と酸化ストレス. よくわかる聴覚障害 難聴と耳鳴のすべて. 2010. 334-336
6. 研究組織
(1) 研究代表者
菅原 一真 (SUGAHARA KAZUMA)
山口大学・医学部附属病院・講師
研究者番号: 20346555