

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 6月 5日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23791919

研究課題名（和文） HSV1型、2型による顔面神経・内耳神経への感染動態の評価とモデル動物の確立

研究課題名（英文） Murine models of facial nerve or auditory nerve palsy by experimental HSV neuritis

研究代表者

山野 耕嗣 (YAMANO KOJI)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：20597819

研究成果の概要（和文）：Bell 麻痺患者の中に、糖尿病との合併がしばしば認められる。STZにより膵島を破壊した糖尿病モデルマウスに HSV-1 を外耳に感染させたところ、STZ 非投与のマウスに比べて顔面神経麻痺の罹患頻度、麻痺の程度、死亡率が上昇した。また、電気生理学的に、組織学的にも STZ 非投与のマウスに比べて、神経変性の程度が悪化していた。糖尿病の状態にすることにより、HSV による顔面神経麻痺の状態の悪化が認められた。

また、HSV が前庭神経炎、突発性難聴の原因であるという報告が散見される。HSV-1、-2 をマウスの中耳に接種したところ、めまい、難聴の症状が認められた。内耳組織切片を検討したところ、血管条には HSV 感染と共にアポトーシス細胞が認められたが、コルチ器を構成する細胞の一部に HSV 感染は認められないがアポトーシス陽性である細胞が多数認められた。HSV 感染細胞がアポトーシスを誘導されるかどうかは、細胞の種類による異なることがわかった。

研究成果の概要（英文）：Bell's palsy frequently associated with diabetes mellitus. Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) was inoculated onto auricle of diabetes mice induced with streptozotocin. Frequency, clinical grade, mortality was more than mice without diabetes. Electrophysiological and pathological findings were more severe compared with mice without diabetes.

Close relationship between HSV and sudden deafness or vestibular neuritis has been reported. We inject HSV-1 or HSV-2 into tympanic cavity of mice. Vertigo and hearing loss was observed in those mice. HSV-infected, apoptotic cells were found in stria vascularis; however, apoptotic cells found around Corti's organ was not infected with HSV. Apoptosis induction after HSV infection differed according cell types.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学  
科研費の分科・細目：耳鼻咽喉科学  
キーワード：耳科学

### 1. 研究開始当初の背景

HSV-1 をマウス耳介に接種すると 1 週間後に一過性の顔面神経麻痺を呈するモデルマウスを作成し、顔面神経麻痺の研究を行っていた。また、ストレプトゾトシン(STZ)にて膵島を破壊した糖尿病マウスを用いて、耳介を擦過することにより HSV-1 が再活性化し、顔面神経麻痺を発症するモデルマウスにつき研究を行ってきた。しかし、HSV-1 が再活性化しているときの HSV の感染動態、組織学的変化、誘導されたアポトーシス等はまだまだ十分に解明されていない。また、同じモデルマウスが眩暈をおこすという報告もある。今回は耳介に HSV-1、HSV-2 を用いて、HSV の外耳接種における臨床症状と HSV の感染動態とアポトーシス誘導の関係につき比較検討する予定である。

ウイルス感染による難聴モデル動物は、過去にモルモットの中耳や内耳に HSV を接種して研究、報告されてきた。しかし、マウスの中耳や内耳に HSV を接種した報告は今までにはない。今回我々は、HSV-1、HSV-2 を用いて、HSV の中耳接種後の眩暈、難聴などの臨床症状と HSV の感染動態、またアポトーシス誘導の関係につき比較検討する予定である。

### 2. 研究の目的

突発性難聴、前庭神経炎はそれぞれ難聴、眩暈を主訴とする疾患である。一方、単純ヘルペスウイルス 1 型は顔面神経膝神経節に潜伏感染しており、Bell 麻痺の主な原因と考えられている。前庭神経節、蝸牛神経節にも同様に潜伏感染した単純ヘルペスウイルス 1 型が検出されており、眩暈、難聴の原因の一部に単純ヘルペスウイルス 1 型を代表としたウイルスが関与している可能性が考えられている。マウス顔面神経、聴神経に単純ヘルペスウイルス 1 型、2 型を感染させ、感染動態と臨床症状、組織学的変化、アポトーシス等につき検討する。また、動物モデルを用いた新たな治療法につき模索するため、顔面麻痺、難聴、眩暈を呈するマウスモデルを各々確立する。

### 3. 研究の方法

まず、各ウイルスをマウス外耳、中耳に接種し、顔面麻痺モデルマウス、難聴モデルマウス、眩暈モデルマウスをそれぞれ作製する。また、各モデルマウスの臨床症状を経時的に

評価する。次に組織学的な変化を観察するため、経時的に頭部を採取し、切片を作成する。HSV 感染、アポトーシスシグナル蛋白の発現を免疫染色を用いて観察する。また、アポトーシスは TUNEL 法を用いて観察する。連続切片を染色、比較し、また蛍光多重染色で観察することにより、組織障害を受けた部位と HSV 感染の関係、また HSV 感染部位とアポトーシス誘導、アポトーシスシグナル蛋白の発現を検討する。各々のウイルスによる結果を比較して、HSV-1、HSV-2 感染動態の相違や、US3 が感染動態に及ぼす影響を検討する。

#### 4. 研究成果

STZ により膵島を破壊したマウスに HSV-1 を外耳に感染させたところ、STZ 非投与のマウスに比べて顔面神経麻痺の罹患頻度、麻痺の程度、死亡率が上昇した。また、電気生理学的に、組織学的にも STZ 非投与のマウスに比べて、神経変性の程度が悪化していた。糖尿病の状態にすることにより、HSV による顔面神経麻痺の状態が悪化することが認められた (Esaki S. et al: *Otol Neurotol*, 2012)。

HSV-1、-2 をマウスの中耳に接種したところ、眩暈、難聴の症状が認められた。内耳組織切片を検討したところ、血管条には HSV 感

染と共にアポトーシス細胞が認められたが、コルチ器を構成する細胞の一部に HSV 感染は認められないがアポトーシス陽性である細胞が多数認められた。HSV 感染細胞がアポトーシスを誘導されるかどうかは、細胞の種類による異なることがわかった (Esaki S. et al: *Acta Otolaryngol*, 2011)。

#### 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 2 件)

- (1) 山野耕嗣、勝見さち代、江崎伸一、村上信五:名古屋市立大学における顔面神経減荷術の検討. *Facial Nerve Research* 31:33-34, 2011. 査読有
- (2) Esaki S, Yamano K, Katsumi S, Murakami S: Diabetic mice show an aggravated course of herpes-simplex virus-induced facial nerve paralysis. *Otology & Neurotology* 33 (8):1452-1457, 2012. 査読有

[学会発表] (計 1 件)

- (1) 山野耕嗣: 移植神経に発生したと考えられる顔面神経鞘腫 1 例、第 35 回日本顔面神経研究会、2013. 5. 31-6. 1、福島県

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

山野 耕嗣 (YAMANO KOJI)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：20597819