

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 17 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592551

研究課題名(和文) 老人性難聴とメタボリック症候群の関連についての基礎的研究

研究課題名(英文) The relationship between the metabolic syndrome and presbycusis

研究代表者

山下 裕司 (YAMASHITA, Hiroshi)

山口大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：00210419

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、生活習慣病であるメタボリック症候群が聴覚に及ぼす影響について明らかにし、その予防方法を開発、将来の臨床応用に発展させることである。そのためにモデルマウスTS0Dを用いて研究を行った。結果としてメタボリック症候群モデル動物は、加齢に伴い出現する難聴が対照動物に比べてより早期に出現することが明らかになった。組織学的検討からは内耳の血管に動脈硬化が生じ、内耳の血流が減少することが原因のひとつであると考えられた。また、発現遺伝子の検討からは、多くの種類の成長因子が減少していることが明らかになった。これらの結果は新しい難聴予防の方法の開発につながると考える。

研究成果の概要(英文)：This purpose of this study is to elucidate the relationship between the metabolic syndrome and presbycusis. The study was conducted using a model mouse TS0D for metabolic syndrome. The results showed that the hearing function of metabolic syndrome animal models decreased earlier than that of control animals. The histopathological examination showed arteriosclerosis in the blood vessels of the inner ear. In addition, the microarray analysis of expressed genes indicated the attenuation of many kinds of growth factors. These results can contribute to the development of the prevention methods for presbycusis related with metabolic syndrome.

研究分野：耳鼻咽喉科学

キーワード：内耳 メタボリックシンドローム 老化 難聴

1. 研究開始当初の背景

我が国の人口の高齢化は益々深刻化し、社会問題となっている。この高齢者において罹患率の高い疾患として老人性難聴が知られている。65-75歳の約40%が老人性難聴を発症しているとするデータも報告されており、さらに高齢者では罹患率は高いものと考えられる。難聴の進行は患者のQOLを低下させるだけでなく、補聴器、人工内耳などの高額医療を必要とし、医療費、社会保障費を増大させる要因ともなっている。にもかかわらず、老人性難聴の病態は十分に明らかにされたとはいえず、その治療法も明らかにされていない。

これらのことから、老人性難聴の病態解明と治療方法の開発が強く望まれているのが現状である。これまでの研究から、加齢内耳では感覚細胞障害、らせん神経節細胞障害、血管条の萎縮といった形態の変化が原因のひとつとして知られている。いかに長期的に副作用を伴わずに細胞障害を抑制するかが患者の聴覚予後を考える上で重要である。

我々は、加齢に伴って罹患率が増加する生活習慣病(メタボリック症候群)が内耳にも変化を生じ、それに伴って老人性難聴が促進される可能性について着目した。さらに、これまで研究してきた内耳保護療法が、新しい治療法の候補になると考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、生活習慣病と老人性難聴の関連を明らかにし、抗加齢物質を用いた内耳保護療法を老人性難聴の予防に応用できる可能性を明らかにすることである。そのため我々は、まず、生活習慣病モデルマウスの内耳における組織学的変化、分子生物学的変化を明らかにし、その変化がどのような役割を持つのかを明らかにすることが目的である。また将来的に老人性難聴の治療モデルを作成、解析することを目的とする。

3. 研究の方法

(1)メタボリック症候群モデルマウスの加齢内耳の検討

メタボリック症候群が内耳の老化に及ぼす影響を検討するために、TSOD(メタボリック症候群モデルマウス)、TSNO(TSODのコントロール動物)を用いた。これらの実験動物を通常飼料で飼育し、3か月齢、5か月齢、8か月齢、12か月齢の段階で血糖値の測定、体重の測定、ABR閾値の測定を行った。また、一部の動物は、組織学的検討を行うために、それぞれの時点で断頭し、組織学検査に用いた。

(2)メタボリック症候群モデルマウスにおける加齢と遺伝子発現の変化

メタボリック症候群の内耳への影響を分子生物学的に検討するために、以下の実験を行った。TSOD(メタボリック症候群モデルマウス)、TSNO(TSODのコントロール動物)を

8か月齢まで飼育した。氷上で速やかに内耳を摘出し、キットを用いて、mRNAを抽出した。発現している遺伝子の変化についてマイクロアレイ法を用いて検討した。

4. 研究成果

(1)メタボリック症候群モデルマウスの加齢内耳の検討

我々の飼育条件でもメタボリック症候群モデルマウスは、肥満(図1)、高血糖を示した。ABR閾値を測定して、聴覚を検討したが、測定を開始した3か月齢では、モデルマウスと対照動物に明らかな差は認めなかったが、8か月齢モデルマウスのABR閾値が上昇し、13か月齢ではさらに上昇を認めた。組織学的に検討したところ、8か月齢では目立った変化を指摘できなかったが、13か月齢では、蝸牛軸の小動脈にPAS染色陽性の物質の沈着を認め動脈硬化の像と考えられた。また、蝸牛血管条の動脈について、インディアインクを経心灌流して血管内腔を染色して血管の分布について評価を行ったが、13か月齢のモデルマウスでは対照動物と比較して、血管径の有意な減少を認めた。

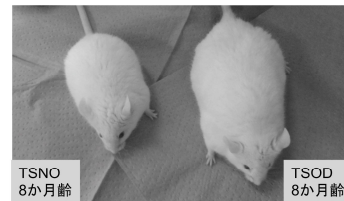


図1:メタボリック症候群モデルマウスの外観

(2)メタボリック症候群モデルマウスにおける加齢と遺伝子発現の変化

マイクロアレイはモデル動物と対照動物それぞれ3匹を対照とした。発現量が30%以上変化した遺伝子で有意差を認めたもので、モデルマウスが対象と比べて増加したものが403遺伝子、減少したものは887遺伝子であった(図2)。変化した遺伝子としては成長因子に分類されるIGF-1, TGF- β 2, FGFR2, FGFR1, CTGF, FGF7(KGF), FGF12はいずれもモデルマウスで有意に減少していた。

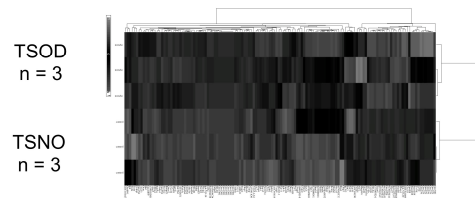


図2:DNAマイクロアレイ結果

我々の研究結果からは、メタボリック症候群が加齢とともに出現する難聴を促進する可能性を示唆しており、その原因として蝸牛

内の血管の変化が関与している可能性を示した。発現遺伝子の検討から得られた結果については、これらの遺伝子の蝸牛内での発現分布にも関係しており、今後詳細に検討してゆく予定である。血管障害を抑制できる薬物は、難聴の進行を予防できる可能性が高く、今後、治療モデルを作成する上で意義のある結果であったと考えられた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 16 件)

S. Yoshida, K. Sugahara, M. Hashimoto, Y. Hirose, H. Shimogori, H. Yamashita, The minimum peptides of IGF-1 and substance P protect vestibular hair cells against neomycin ototoxicity, *Acta Oto-Laryngologica*, 査読有, Vol.135, No.5, 2015, 411-415, K. Sugahara , H. Hirose, T. Mikuriya, M. Hashimoto, E. Kanagawa, H. Hara, H. Shimogori, H. Yamashita, Coenzyme Q10 Protects Hair Cells against Aminoglycoside, *PLoS One*, 査読有, Vol.9, 2014, DOI: 10.1371/journal.pone.0108280
Eiju Kanagawa, Kazuma Sugahara, Yoshinobu Hirose, Takefumi Mikuriya, Hiroaki Shimogori, Hiroshi Yamashita, Pathology of the inner ear after acoustic injury, *The Bulletin of the Yamaguchi Medical School*, 査読有, Vol.61, No.12, 2014, 1-6, E. Kanagawa, K. Sugahara, Y. Hirose, T. Mikuriya, H. Shimogori, H. Yamashita, Effects of substance P during the recovery of hearing function after noise-induced hearing loss, *Brain Res*, 査読有, Vol.1582, 2014. 187-196,
下郡博明, 山下裕司, 加齢と感音難聴, *ENTONI*, 査読無, Vol.165, 2014, 17-23,
堀 健志, 菅原一真, 津田潤子, 下郡博明, 山下裕司, 漢方製剤を用いたメタボリック症候群モデルマウスの難聴予防の試み, *耳鼻咽喉科ニューロサイエンス*, 査読無, 28 巻, 2014, 35-38,
菅原一真, 山下裕司, 耳鼻咽喉科領域のサプリメント, *耳鼻咽喉科・頭頸部外科*, 査読無, 85 巻, 12 号, 2013 , 1006-1011,
菅原一真, 山下裕司, 糖尿病と感音難聴, *ENTONI*, 査読無, Vol.161, 2013, 26-31,
金川英寿, 菅原一真, 広瀬敬信, 御厨剛史, 下郡博明, 山下裕司, 音響障害後における内毛細胞シナプス数の経時的変化, *耳鼻咽喉科ニューロサイエンス*, 査読無, 27 巻, 2013, 22-24,

広瀬敬信, 菅原一真, 山下裕司, ゼブラフィッシュ側線有毛細胞を用いた抗癌剤のスクリーニング, *耳鼻咽喉科ニューロサイエンス*, 査読無, 27 巻, 2013, 83-85,
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*. 査読有, Vol.39, 2012, 270-274,
Hideki Toyota, Hiroaki Shimogori, Kazuma Sugahara, Hiroshi Yamashita, A novel treatment for vestibular disorder with FGLM-NH2 plus SSSR, *Neuroscience Letters*, 査読有, Vol.526, 2012, 128-132,
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*, 査読無, 28 巻, 5 号, 2012, 803-805,
吉田周平, 下郡博明, 豊田英樹, 金川英寿, 菅原一真, 山下裕司, AMPA を用いた前庭障害モデル作成の試み, *頭頸部自律神経*, 査読無, 26 巻, 2012, 32-33,
金川英寿, 菅原一真, 豊田英樹, 御厨剛史, 下郡博明, 山下裕司, モルモット内毛細胞のシナプス評価法の確立, *頭頸部自律神経*, 査読無, 26 巻, 2012, 81-83,
山下裕司, 聴覚に係わる社会医学的諸問題「新生児聴覚スクリーニングの現状と課題」, *Audiology Japan*, 査読無, 55 巻, 2 号, 2012, 111-117,

〔学会発表〕(計 29 件)

Takeshi Hori , Kazuma Sugahara , Junko Tsuda , Yoshinobu Hirose , Makoto Hashimoto , Hiroaki Shimogori , Hiroshi Yamashita, The Effect of Oriental Herbal Medicine and Calorie Restriction on the Age-related Hearing Loss of TSOD Mouse, 38th Association for Research in Otolaryngology Annual MidWinter Meeting, 2015.2.21, Baltimore (USA) ,
Yoshinobu Hirose , Kazuma Sugahara , Hiroshi Yamashita, Screening for Protective Effect in Kanpo(Harbal Medicine)Using the Lateral Line Hair Cell, 28th Barany Society Meeting, 2014.5.25, Buenos Aires(Argentina) ,
Kazuma Sugahara , Yoshinobu Hirose , Makoto Hashimoto , Hiroaki

Shimogori , Hiroshi Yamashita,
Pyrroloquinoline Quinone Can
Protect Vestibular Hair Cells Against
the Neomycin Ototoxicity, 28th
Barany Society Meeting, 2014.5.25,
Buenos Aires (Argentina)
津田潤子, 菅原一真, 堀 健志, 廣瀬敬
信, 御厨剛史, 山下裕司, メタボリック
シンドロームモデルマウス TSOD にお
ける加齢と難聴について, 第 115 回
日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会,
2014.5.14, ヒルトン福岡シーホーク
(福岡県・福岡市),
堀 健志, 菅原一真, 津田潤子, 下郡博
明, 山下裕司, TSOD マウスを用いた加
齢性難聴に対する漢方投与・カロリー制
限の効果について, 第 115 回 日本耳
鼻咽喉科学会総会・学術講演会,
2014.5.14, ヒルトン福岡シーホーク
(福岡県・福岡市),
Kazuma Sugahara , Yoshinobu Hirose ,
Takeshi Hori , Hironori Fujii , Makoto
Hashimoto , Hiroaki Shimogori ,
Hiroshi Yamashita, Pyrroloquinoline
Quinone Protect Vestibular Hair Cells
Against the Neomycin Ototoxicity,
37th Association for Research in
Otolaryngology Annual MidWinter
Meeting, 2014.2.22, San Diego(USA) ,
Yoshinobu Hirose , Kazuma Sugahara ,
Hiroshi Yamashita, Screening for
Protective Effect in Herbal Medicine
Using the Zebrafish Lateral Line,
37th Association for Research in
Otolaryngology Annual MidWinter
Meeting, 2014.2.22, San Diego (USA)
Hiroaki Shimogori , Kazuma
Sugahara , Makoto Hashimoto ,
Hiroshi Yamashita, Effects of
Antidepressant on The Vestibular
System, 37th Association for
Research in Otolaryngology Annual
MidWinter Meeting , 2014.2.22, San
Diego (USA) ,
Takeshi Hori , Kazuma Sugahara ,
Junko Tsuda , Yoshinobu Hirose ,
Hiroaki Shimogori , Makoto
Hashimoto , Hiroshi Yamashita, The
Efficiency of Bofutsushosan and
Daisaikoto, an Oriental Herbal
Medicine to Prevent the Presbycusis
of TSOD Mouse, 37th Association
for Research in Otolaryngology
Annual MidWinter Meeting,
2014.2.22, San Diego (USA)
堀 健志, 菅原一真, 津田潤子, 下郡博
明, 山下裕司, メタボリック症候群モデ
ル動物 TSOD の加齢性難聴に対する漢
方薬投与・カロリー制限の効果, 第 58
回 日本聴覚医学会総会・学術講演会,

2013.10.24, ホテル・ブエナビスタ(長
野県・松本市),
津田潤子, 菅原一真, 堀 健志, 御厨剛
史, 山下裕司, メタボリックシンドロ
ームモデル動物 TSOD における加齢と聴
覚について, 第 58 回 日本聴覚医学会
総会・学術講演会, 2013.10.24, ホテ
ル・ブエナビスタ(長野県・松本市),
菅原一真, 堀 健志, 津田潤子, 原 浩
貴, 山下裕司, メタボリック症候群モデ
ル動物における老人性難聴と漢方製剤
を用いた予防の試み, 第 29 回 日本耳
鼻咽喉科漢方研究会学術集会,
2013.10.5, 品川グランドセントラルタ
ワー(東京都・港区),
堀 健志, 菅原一真, 津田潤子, 下郡博
明, 山下裕司, 漢方製剤を用いたメタボ
リック症候群モデルマウスの難聴予防
の試み, 第 31 回 ニューロサイエンス
研究会, 2013.8.24, ホテルグランヴィ
ア大阪(大阪府・大阪市)
堀 健志, 菅原一真, 津田潤子, 下郡博
明, 山下裕司, メタボリック症候群モデ
ルマウスの難聴予防の試み, 第 7 回
聴覚アンチエイジング研究会, 2013.7.6,
慶應義塾大学(東京都・新宿区),
菅原一真, 津田潤子, 堀 健志, 山下裕
司, メタボリック症候群モデル動物の
老人性難聴について, 第 13 回 日本抗
加齢医学会総会, 2013.6.28, パシフィ
コ横浜(神奈川県・横浜市),
津田潤子, 菅原一真, 堀 健志, 御厨剛
史, 下郡博明, 山下裕司, メタボリック
シンドロームモデル動物の内耳におけ
る変化, 第 114 回 日本耳鼻咽喉科学
会総会・学術講演会, 2013.5.15, ロイト
ン札幌(北海道・札幌市),
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 Association for Research in
Otolaryngology Annual MidWinter
Meeting, 2013.2.16, Baltimore(USA) ,
Eiju Kanagawa , Kazuma Sugahara ,
Yoshinobu Hirose , Takefumi Mikuriya ,
Hiroaki Shimogori , Hiroshi
Yamashita, Action of Substance P on
the Recovery from the Intense Noise
Exposure, 36th Association for
Research in Otolaryngology Annual
MidWinter Meeting, 2013.2.16,
Baltimore (USA) ,
Yoshinobu Hirose , Kazuma Sugahara ,
Eiju Kanagawa , Hiroshi Yamashita,
Screening for Protective Effect in
Supplement Drugs Using the

- Zebrafish Lateral Line, 36th Association for Research in Otolaryngology Annual MidWinter Meeting, 2013.2.16, Baltimore(USA), 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(京都府・京都市),
- 21 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, 慶應義塾大学(東京都・新宿区),
- 22 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(神奈川県・横浜市),
- 23 Hiroshi Yamashita, Hiroaki Shimogori, Hideki Toyota, Kazuma Sugahara, Topical application of FGLM-NH2 plus SSSR is effective for vestibular disorder induced by AMPA, 27th Barany Society Meeting, 2012.6.10, Uppsala (Sweden),
- 24 Yoshinobu Hirose, Kazuma Sugahara, Hiroaki Shimogori, Hiroshi Yamashita, Screening for protective effect in supplement drugs using the zebrafish lateral line, 27th Barany Society Meeting, 2012.6.10, Uppsala (Sweden)
- 25 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)
- 26 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 Otology, 2012.6.2, 長崎ブリックホール(長崎県・長崎市),
- 27 津田潤子, 菅原一真, 金川英寿, 御厨剛史, 山下裕司, メタボリック症候群モデル動物における加齢と聴覚について, 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(新潟県・新潟市),

- 28 Hiroshi Yamashita, Kazuma Sugahara, Junko Tsuda, Age related hearing loss in the animal model of type 2 diabetes, 14th Japan-Korea Joint Meeting, 2012.4.12, 京都ホテルオークラ(京都府・京都市),
- 29 Eiju Kanagawa, Kazuma Sugahara, Hideki Toyota, Takefumi Mikuriya, Hiroaki Shimogori, Hiroshi Yamashita, Effect of substance P on the recovery from the acoustic trauma, 14th Japan-Korea Joint Meeting, 2012.4.12, 京都ホテルオークラ(京都府・京都市),

〔図書〕(計 2 件)

橋本 誠, 山下裕司, 中山書店, ENT 臨床フロンティア 子どもを診る高齢者を診る耳鼻咽喉科外来診療マニュアル, 2014, 368(279-284),

橋本 誠, 山下裕司, 中山書店, ENT 臨床フロンティア 最新薬物療法マニュアル-選び方・使い方, 2014, 360(223-226),

〔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：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等：なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山下 裕司(YAMASHITA, Hiroshi)
山口大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：00210419

(2) 研究分担者

下郡 博明(SHIMOGORI, Hiroaki)
山口大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：70226273

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

広瀬 敬信 (HIROSE, Yoshinobu)
山口大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：80555714

(3)連携研究者

なし