

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 25 日現在

機関番号：82643

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2013～2014

課題番号：25893299

研究課題名(和文) 自然免疫システムの制御による感音難聴の予防と治療

研究課題名(英文) Prevention and treatment for sensorineural hearing loss by controlling the system of innate immunity

研究代表者

林 裕史 (Hayashi, Yushi)

独立行政法人国立病院機構(東京医療センター臨床研究センター)・政策医療企画研究部・医師

研究者番号：40715166

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：ウイルス感染が原因と考えられる突発性難聴、メニエール病、先天性難聴などの感音難聴の発症メカニズムに関し、蝸牛感覚上皮の器官培養系を用いて解析を行った。ウイルス感染時に支持細胞において発現が誘導されるI型インターフェロンが蝸牛感覚上皮に与える影響に関して検討するため、I型インターフェロンの受容体であるIFNAR1の遺伝子を欠損させたマウスを用いた。

研究成果の概要(英文)：We analyzed the mechanism of sensorineural hearing loss caused by viral infection such as sudden hearing loss, Meniere's disease and congenital hearing loss using ex vivo system of cochlear sensory epithelia. To investigate the influence of type I interferon (IFN) which is transcribed in supporting cells during viral infection on the cochlear sensory epithelium, we used IFNAR1 which is a receptor of type I IFN knock out mice.

研究分野：耳科学・内耳基礎・免疫学

キーワード：蝸牛 自然免疫 有毛細胞 支持細胞 感音難聴 ウイルス感染 I型IFN RIG-I family

1. 研究開始当初の背景

(1) ウイルス感染症と感音難聴

聴覚障害者は国内人口の5%、約600万人いるとされ、その多くは内耳性を含む感音難聴であるが、その原因の一つとして風疹ウイルス、サイトメガロウイルス、ムンプスウイルス、麻疹ウイルス、水痘-帯状疱疹ウイルスなどのウイルス感染症の存在が知られている。また、突発性難聴、メニエール病、先天性難聴の一部などウイルス感染症が原因のひとつとされる内耳性難聴をきたす疾患もあるが、その病態は依然不明であり、対症療法としてのステロイド、イソバド、ビタミン製剤などの内科的な治療法には限界があり、治療効果が不十分であった場合や進行してしまった症例では補聴器、人工内耳などの人工の聴覚デバイスに頼ることとなり、決定的な治療方法は存在しない。よって内耳ウイルス感染症の病態を解明し、その治療法を開発することが強く求められている。

(2) 蝸牛における自然免疫システム

Homo sapiens など高等動物では、ウイルスや細菌感染症などに対し、自然免疫と獲得免疫、2種類の免疫能を持つとされるが、獲得免疫は抗原特異的であり非常に効果的であるものの、抗原曝露による'education'が必要であり、発動するまで1週間以上の時間を要する。一方、自然免疫は初回感染時より即時的に発動し、獲得免疫を誘導する橋渡しとして重要な役割を果たす。

RIG-IとMDA5はウイルス由来のRNAを認識するセンサーとして京都大学ウイルス研究所・藤田尚志教授のグループによって発見された。通常は不活性化状態であるが、ウイルス由来のRNAと結合することでその構造が変化、活性化状態となり、下流のシグナル分子であるIPS-1と結合、転写因子であるIRF-3、IRF-7を介して核内においてIFN α 、IFN β を含むI型IFNの発現を促し、抗ウイル

ス作用をもたらす。

これまで内耳では、血液-内耳関門の存在から、角膜・網膜や中枢神経系などと同様、免疫特権を持つとされてきたが、我々はマウス蝸牛感覚上皮において、音を感知する有毛細胞の周囲に存在する支持細胞のうち、ヘンゼン細胞・クラウディウス細胞がRIG-I、MDA5、IRF3を発現しており、またウイルス感染に対しヘンゼン細胞・クラウディウス細胞内でRIG-I、MDA5、IRF3が活性化されIFN α 、IFN β 1の発現が促されることを世界に先駆けて見出し、報告した。

2. 研究の目的

ウイルス感染による感音難聴の治療法を開発するためには、ウイルス感染時に蝸牛に起きている現象を理解することが必要となるが、現時点では突発性難聴を発症した患者の死後に剖検された側頭骨病理においてウイルス粒子が蝸牛・コルチ器に認められ、またコルチ器が委縮し扁平状となっていたこと以外、何も分かってはいない。蝸牛器官培養系を用いてこれにウイルスを感染させる内耳ウイルス感染モデルを用いて、蝸牛という臓器に何が起きているか、現象・及びそのメカニズムの解明を目指す。

3. 研究の方法

マウス蝸牛感覚上皮を顕微鏡下に摘出して培養液中にて培養を行う器官培養系を用いた。培養液中にピコルナウイルスを添加し、培養、蝸牛感覚上皮における変化に関して組織学的に検討を行った。またヘンゼン細胞・クラウディウス細胞において発現が誘導されるIFNの受容体であるIFNAR1のノックアウトマウスを用いての検討も行った。

4. 研究成果

(1) ウイルス感染は内耳有毛細胞障害をきたす

ピコルナウイルスを培養液に添加して蝸牛に感染させ、時間経過による組織の変化を

検討した。ウイルス感染 9 時間までは有毛細胞数の変化を認めなかったが、16 時間を超えると外有毛細胞数が減少し始め、24 時間では外有毛細胞の大部分が消失していた。ただし内有毛細胞はウイルス感染 24 時間でも大部分がその形態を保っており、同じ有毛細胞でも外有毛細胞と内有毛細胞ではウイルス感染に対する応答に違いがあるものと思われた。

(2) IFNAR1 ノックアウトマウスでは蝸牛感覚上皮のウイルス感染が増長される

ウイルス感染時に支持細胞において発現が誘導される IFN の受容体である IFNAR1 の遺伝子を欠損させたマウスの蝸牛感覚上皮を摘出し、上記と同様に培養液中にて培養、培養液にピコルナウイルスを添加して組織学的検討を行った。wild type と比較して有毛細胞・支持細胞ともにウイルス感染細胞数が増加しており、ウイルス感染時に支持細胞において発現が誘導される IFN が蝸牛感覚上皮において抗ウイルス作用をもたらすことが明らかとなった。

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 3 件)

1. Virus-induced expression of retinoic acid inducible gene-1 and melanoma differentiation-associated gene 5 in the cochlear sensory epithelium.
Hayashi Y, Onomoto K, Narita R, Yoneyama M, kato H, Nakagawa T, Ito J, Taura A, Fujita T.
Microbes Infect. 2013; 15(8-9):592-8.

2. Insulin-like growth factor 1 inhibits hair cell apoptosis and promotes the cell cycle of supporting cells by activating different

downstream cascades after pharmacological hair cell injury in neonatal mice.

Hayashi Y, Yamamoto N, Nakagawa T, Ito J.
Mol Cell Neurosci. 2013; 56:29-38.

3. Insulin-like growth factor 1 induces the transcription of Gap43 and Ntn1 during hair cell protection in the neonatal murine cochlea.

Hayashi Y, Yamamoto N, Nakagawa T, Ito J.
Neurosci Lett. 2014; 560:7-11.

[学会発表] (計 4 件)

1. Type I IFN is produced in supporting cells against virus infection of the cochlear sensory epithelium via RIG-I like receptor signalling pathway.

Yushi Hayashi, Koji Onomoto, Ryo Narita, Mitsutoshi Yoneyama, Hiroki Kato, Akiko Taura, Takayuki Nakagawa, Juichi Ito, Kimitaka Kaga and Takashi Fujita.
ARO 37th Annual MidWinter Meeting. 22-26 Feb 2014. San Diego, CA, USA.

2. Type I IFN is produced in supporting cells against virus infection of the cochlear sensory epithelium via RIG-I like receptor signalling pathway.

Yushi Hayashi, Koji Onomoto, Ryo Narita, Mitsutoshi Yoneyama, Hiroki Kato, Akiko Taura, Takayuki Nakagawa, Juichi Ito, Kimitaka Kaga and Takashi Fujita.

51st Inner Ear Biology Workshop. 30 Aug – 2 Sep 2014. Sheffield, UK.

3. Type I IFN is produced in supporting cells against virus infection of the cochlear sensory epithelium via RIG-I like receptor signalling pathway.

Yushi Hayashi, Koji Onomoto, Ryo Narita,

Mitsutoshi Yoneyama, Hiroki Kato, Akiko Taura, Takayuki Nakagawa, Juichi Ito, Kimitaka Kaga and Takashi Fujita.
Inner Ear Biology Workshop 2014 in Kyoto.
1-4 Nov 2014. Kyoto, Japan.

4. The Pathogenesis of Sensorineural Hearing Loss During Virus Infection of the Cochlear Sensory Epithelium.

Yushi Hayashi, Koji Onomoto, Mitsutoshi Yoneyama, Kimitaka Kaga, Takashi Fujita and Nobuyuki Tanaka.
ARO 38th Annual MidWinter Meeting. 21-25 Feb 2015. Baltimore, MA, USA.

〔図書〕(計1件)

1. Temporal bone computed tomography of patients with poor postoperative hearing improvement after surgery for atresia of the external auditory canal.

Hayashi Y, Kaga K.

Adv Otorhinolaryngol. 2014; 75:135-8.

〔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

6. 研究組織

(1)研究代表者
林 裕史 (Yushi Hayashi)
東京医療センター(臨床研究センター)・
政策医療企画研究部・医師
研究者番号：40715166

(2)研究分担者
()

研究者番号：

(3)連携研究者
()

研究者番号：