

Title	Proinflammatory Cytokines Expression in Noise-Induced Damaged Cochlea
Sub Title	音響外傷蝸牛における炎症性サイトカインの発現
Author	藤岡, 正人(Fujioka, Masato)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2006
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.83, No.2 (2006. 6) ,p.22-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20060602-0022">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20060602-0022</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

# Proinflammatory Cytokines Expression in Noise-Induced Damaged Cochlea

(音響外傷蝸牛における炎症性サイトカインの発現)

藤岡 正人

## 内容の要旨

過大音曝露は蝸牛性の感音難聴の原因の一つとして古くから知られている。临床上この難聴は音響外傷性難聴と診断され、治療にはステロイド大量療法が経験的に用いられる。しかしその効果は低く上に副作用が大きいと、病態生理に基づいた新規治療法が望まれている。ここ数年、音響外傷急性期における蝸牛局所への炎症細胞浸潤が動物実験レベルで報告され、急性期における抗炎症治療の重要性が再認識されるようになったが、その一方で治療的となりうる炎症反応関連分子の発現に関する知見は未だ乏しい。今回我々は、音響外傷急性期における障害局所での炎症性サイトカイン発現を検討した。

4～6週齢のSprague-Dawleyラット雄に、無麻酔下で4kHz中心124dB SPLの1オクターブ幅のバンドノイズを負荷した。負荷前および直後、3、6、12、24時間、3、5、7、14、28日後に断頭し蝸牛を摘出し、RT-PCR法により7種類の炎症関連物質の発現を検討したところ、TNF- $\alpha$ 、IL-1ファミリー、IL-6に発現を認めた。IL-12 p40、GM-CSFの発現は認めなかった。TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6の発現をTaqMan法で定量したところ、音響負荷後3時間でIL-1 $\beta$ 、IL-6に有意なRNAの発現上昇を認めた。ウェスタンブロット法では、IL-6はやや遅れた6時間で有意な上昇を認めた。免疫組織染色では12時間未満で蝸牛外側壁の最外側にあたるtype IV、Ⅲ線維細胞の細胞質にIL-6の発現を認め、その後外側壁に広域に分布した。この発現は活性型炎症細胞の表面抗原分子であるIba-1の発現と一致しなかった。らせん神経節でもNeuN陽性の神経細胞の細胞質に12時間～24時間後でIL-6の発現を認めた。

過去の報告から、音響外傷後の蝸牛ではマクロファージをはじめとした単球優位の炎症細胞浸潤が生じ、蝸牛内で障害を受けた細胞を食食することが明らかにされている。他方、ノックアウトマウスの検討から、IL-6には障害局所へ炎症細胞浸潤を促進する役割があることが他臓器で知られている。急性感音難聴において広範な副作用を有するステロイド剤が大量投与される現状を考えると、発現分子特異的阻害剤による抗炎症治療には、より選択的で副作用の小さい新規治療法としての可能性がある。とくに昨今上梓されたIL-6阻害剤は、臨床治験において副作用が極めて少ないことが確認されており、今後IL-6シグナルの阻害による当モデルへの影響を検討することが急務と考えられた。

## 論文審査の要旨

炎症反応は組織障害に際して臓器・障害の種類を問わず、局所から生じる普遍的な生理反応である。炎症反応急性期に障害局所に生じる炎症性サイトカインに関する研究は、その阻害・抑制によって続発する一連の炎症反応を抑制し得るという意味で、臨床的観点から極めて重要である。他方、進行した感音難聴は不可逆であり、難聴や耳症状(耳鳴・耳閉塞感など)に生涯悩まされることとなるため、急性期における蝸牛障害の抑制は耳科学の重要なテーマである。昨今の音響外傷急性期における蝸牛局所での炎症細胞浸潤に関する報告に鑑み、今回、病態生理に基づいた副作用の少ない感音難聴に対する新規抗炎症治療的を探索する目的で、音響外傷蝸牛急性期における炎症性サイトカインの発現を検討した。

審査では、まず本研究の前半部において、有意な発現上昇が定量RT-PCRで確認されているIL-1 $\beta$ のタンパク質レベルでの検討も進め

るべきとの助言がなされた。次にIL-6の有意な発現上昇にRT-PCRでは音響負荷後3時間、ウェスタンブロットでは6時間と差があることに関して質問がなされ、何らかのtranslationalな調節がなされている可能性があるとの回答がなされた。続いて免疫組織染色では12時間で蝸牛外側壁に広域に発現した後24時間で減弱したと関連し、IL-6タンパク質の安定性について質問がなされた。これに対し、蝸牛内での分解やタンパク自体の半減期は明らかではないが、蝸牛リンパ液は脳脊髄液へ還流されることから、今回検討したIL-6も同様の経路で排泄されている可能性があるとの回答がなされた。早期の発現部位であったIV型、Ⅲ型線維細胞の機能について、前者が蝸牛内でのカリウムイオンのリサイクルを担う細胞の一員であることが述べられると同時に、後者はaquaporinの発現が報告されているので、おそらく蝸牛内のリンパ液環境の恒常性維持に何らかの関与をしているであろうとの回答がなされた。初期において外側壁に局限した発現が見られることの機序や生理的意義についての質問には、自己免疫性難聴モデルでも蝸牛外側壁の線維細胞において炎症反応関連分子の発現上昇が報告されていることを挙げ、本来、蝸牛線維細胞そのものに細胞レベルで炎症を惹起する性質があるのだろうという推察がなされた。またコルチ器下面の線維細胞にもIL-6が強く発現していたことが述べられ、音響負荷による振動刺激からIL-6発現が誘導される可能性が述べられた。これに対し、蝸牛外側壁は血管に富んでいることから、炎症関連物質の産生や炎症細胞浸潤には、血管収縮や血流障害も関与しているであろうとの助言がなされた。

次に、IL-6発現部位の周囲にIba-1陽性細胞が分布したことに関連して、この細胞の由来について質問がなされた。これに対し、過去の報告から外側壁に分布する同細胞はCD45陽性CD11b陽性であり、骨髄由来の浸潤細胞と考えられるとの回答がなされた。浸潤細胞の種類に関する質問には、過去の報告から単球優位で、リンパ球の浸潤に関する報告はないとの回答がなされ、その原因として、音響外傷蝸牛で発現上昇が報告されているMCP-1などの好中球遊走因子の関与の可能性が述べられた。

最後に、これらの現象は音圧によるコルチ器障害に続発するものであって、外側壁障害による直接の現象ではないのではないかと、この質問がなされた。これに対し、今回検討したモデルでは音響負荷は2時間連続して負荷しているためおそらくはコルチ器の障害とは独立して外側壁に物理的侵襲が生じていると考えられるが、両者の関係を明らかにするためには、予め耳毒性薬物などでコルチ器を障害した個体で音響外傷モデルを作成して、IL-6発現に変化が生じるかを比較検討する必要があるだろうとの回答がなされた。

以上のように当研究には未だ検討すべき課題が残されているものの、音響外傷に際して蝸牛外側壁から炎症性サイトカインの発現を伴う炎症反応が生じるということを初めて示した研究として、有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 耳鼻咽喉科学 小川 郁  
外科学 河瀬 斌 微生物学・免疫学 小安 重夫  
解剖学 仲嶋 一範  
学力確認担当者:  
審査委員長: 河瀬 斌

試問日: 平成18年2月15日