



Immunohistochemical localization of Nrf2 in the human cochlea

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2019-02-08 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 細川, 久美子 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003446

博士（医学） 細川 久美子

論文題目

Immunohistochemical localization of Nrf2 in the human cochlea

（ヒト蝸牛における Nrf2 の免疫学的局在）

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

酸化ストレスは老化、肥満、神経変性疾患や自己免疫疾患の原因または増悪因子と考えられ、持続的な酸化ストレスは騒音性難聴、薬剤性難聴、加齢性難聴、メニエール病などの難聴の原因となる。Nuclear factor erythroid 2-related factor 2(Nrf2)は、Nuclear factor (erythroid derived 2)-like 2(NFE2L2)遺伝子によりコードされる転写因子であり、著明な生体防御システムの中心的メディエーターである。Nrf2 は抗酸化剤応答配列と結合し、生体防御タンパク質遺伝子の発現を誘導する。Nrf2 の生体防御効果はがん、神経変性疾患、心臓血管疾患、肝機能障害等多くの疾患モデルでも研究されてきた。酸化ストレスによってもたらされる活性酸素種が蝸牛の細胞損傷に関わっているのではないかと考えられており、Nrf2 は内耳感覚細胞での解毒化酵素の誘導により生体防御作用を発揮すると考えられる。我々はヒト側頭骨標本から内耳組織を得て、Nrf2 の免疫組織学的局在について調べた。

〔材料ならびに方法〕

ヒト側頭骨における Nrf2 抗体の免疫組織学的染色を行った。UCLA Temporal Bone Bank より autopsy30 検体（33 耳）を使用した。男女比は 13:17、年齢は 18 歳から 92 歳まで（平均年齢 67 歳）、内耳機能については大きく分けて正常と内耳障害をもつ疾患群に分類した。コントロールとして、ラット（生後 4 週、雄）の内耳ならびに小脳を使用した。染色領域の量的解析については、画像解析ソフト Image J software (<https://imagej.nih.gov/ij/download.html> version 1.50 g)を利用し、量的解析を行った。各群の染色領域の統計学的解析のため、The Sigma Stat 3.1 software program (Sigma Stat, Ashburn, VA, USA)で有意差検定を行い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。なお、本研究はカリフォルニア大学ロサンゼルス校 (UCLA) 倫理に係る委員会の承認に従い実施した。

〔結果〕

成人、若年、老年の異なる内耳疾患の側頭骨標本で、内耳における Nrf2 免疫反応の細胞分布を調査した。蝸牛コルチ器では、12 耳で有毛細胞と支持細胞の細胞質と核の両者、18 耳で有毛細胞と支持細胞の細胞質のみ、3 耳で有毛細胞と支持細胞の核のみで Nrf2 免疫反応を認めた。7 耳でラセン隆起、ラセン板縁の細胞で免疫反応がみられたが、それ以外の血管条、ラセン靱帯、ライスネル膜、ラセン神経節ニューロンでは免疫反応はみられなかった。この Nrf2 免疫反応はすべての側頭骨標本で一貫して認められたが、有毛細胞と支持細胞における免疫反応の細胞分布に明確なパターンはなかった。前庭感覚上皮の有毛細胞と支

持細胞の細胞質と核でも、同じように Nrf2 免疫反応が確認できた。感覚上皮の下の間質細胞、前庭神経節ニューロンは免疫反応を認めなかった。すべての側頭骨標本のコルチ器と前庭感覚上皮の有毛細胞と支持細胞に、一貫して Nrf2 免疫反応がみられた。そして加齢とともにコルチ器における Nrf2 の免疫反応が有意に減少していた。

ラットの蝸牛コルチ器においても、有毛細胞と支持細胞の細胞質で Nrf2 免疫反応が認められたが、ヒトの蝸牛と異なり細胞核には免疫反応がみられなかった。血管条とラセン靱帯はヒトと同様に免疫反応は認められなかった。

[考察]

Nrf2 は脳、網膜、内耳などに認められることが知られている。Nrf2 は酸化反応の中で核に蓄積される。本研究では蝸牛コルチ器および前庭感覚上皮の有毛細胞と支持細胞の細胞質と核の両方に局在していた。

一方、蝸牛と前庭において主要な神経伝達物質であるグルタミン酸は、過度の騒音や耳毒性物質によって、過度に放出が誘発される。グルタミン酸誘発の興奮毒性は、細胞内カルシウムイオンの蓄積を通して酸化ストレスを生成する。Nrf2 はこれらの反応をコントロールする能動的な転写因子である。Nrf2 によって活性化される酵素の中には、ヘモオキシゲナーゼ (HO-1)、キノン還元酵素 (NQO1)、スーパーオキシドジスムターゼ (SOD1 と SOD2)、グルタチオン過酸化酵素がある。騒音や老化、疾患に対するヒト内耳における反応において、Nrf2 活性化により多くの活性酸素が処理されて、生体防御メカニズムが増強されると推察された。

さらに我々は、加齢群において Nrf2 免疫反応が統計学的に有意に減少していることを見出した。蝸牛コルチ器においては、加齢により感覚有毛細胞や支持細胞の消失による可能性が高いと考えられ、特にコルチ器の基底回転から頂回転へ細胞が徐々に減少していた。その他、Nrf2 の免疫反応自体が低下している可能性も考えられた。

正常群と内耳疾患群との間に Nrf2 免疫反応の有意な差が認められなかったが、本研究で分析した個体数が少なかったためか、あるいは Nrf2 の活性化を一定に保つための調節機能が存在する可能性が示唆された。

[結論]

今回我々は、ヒト側頭骨標本の蝸牛コルチ器および前庭感覚上皮における Nrf2 免疫組織反応を調べ、その局在を明らかにした。

正常蝸牛と内耳疾患側頭骨の蝸牛コルチ器における Nrf2 免疫反応に統計学的有意差は認められなかったが、若年群と加齢群の比較においては有意差を認めた。

Nrf2 が聴覚および前庭感覚上皮に局在し、酸化ストレスによる感覚有毛細胞の損傷を防ぐ役割を担っていると推察した。