

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18720

研究課題名（和文）必須微量元素セレン欠乏に注目した急性感音難聴の病態解明

研究課題名（英文）Elucidation of the pathophysiology of acute sensory deafness focusing on deficiency of the essential trace element selenium

研究代表者

大越 明 (Ohkoshi, Akira)

東北大学・大学病院・講師

研究者番号：70772979

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、酸化ストレス防御に働く含セレン蛋白質に注目し、必須微量元素セレンの欠乏による感音難聴発症のメカニズムを明らかにし、臨床応用につなげることを目的としたものである。本研究は、マウス遺伝学による基礎研究と、耳毒性をもつ代表的薬剤シスプラチン投与をうける頭頸部がん患者における観察研究を併行して行なった。マウスにおいて音響暴露後にABRにて聴力評価した結果としては、低セレン餌の飼育のみでは、通常餌と比べてABRの値に有意な差は認められなかった。Nrf2欠失マウスを低セレン餌で飼育して、同様の検討をすすめているが、安定した結果が得られておらず、仮説の検証は途中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低セレン環境は音響暴露による感音難聴の直接の危険因子であることは証明されなかった。しかしながら、同時にすすめた頭頸部がん患者における観察研究においては、低セレン状態は急性感音難聴発症には影響を与えないものの、放射線化学療法の副作用に影響し、完遂率を低下させる要因であることが明らかになった。セレンに代表される微量元素や栄養管理の重要性はますます高まることが期待される。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to clarify the mechanism of the onset of sensorineural deafness due to the deficiency of the essential trace element selenium, focusing on the selenium-containing protein that acts to protect against oxidative stress, and to connect it to clinical application. This study was conducted in parallel with a basic study by mouse genetics and an observational study in patients with head and neck cancer who received cisplatin, a typical drug with ototoxicity. As a result of hearing evaluation by ABR after acoustic exposure in mice, no significant difference was observed in the ABR value between the low selenium diet alone and the normal diet. Nrf2-deficient mice are bred on a low selenium diet, and similar studies are being conducted, but stable results have not been obtained, and the hypothesis is still being tested.

研究分野：耳鼻咽喉・頭頸部外科

キーワード：セレン 感音難聴

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

急性感音難聴のうち原因不明のものは突発性難聴といわれ、国内では年間約 35000 人 (人口 100 万人対で 275 人) に発症する。高齢者のみならず若年者にも多くみられ、副腎皮質ステロイドや高気圧酸素療法等が行われるものの、プラセボと比較して有効性が証明された治療法はなく、治癒率は約 30%にとどまる。急性感音難聴の病態解明は急務であるが、以前から提唱されている蝸牛循環障害説やウイルス内耳炎説に加え、近年、活性酸素種の関与が注目されている。我々は、含セレン蛋白質と共に酸化ストレス防御に働く転写因子 Nrf2 の遺伝子改変マウスを用いて、騒音暴露による内耳障害は活性酸素種を介して起こり、Nrf2 活性化にて予防できることを明らかにした。また、Single Nucleotide Polymorphism (SNP)により NRF2 活性が低いヒトは、騒音性難聴発症リスクが高いことを示し、抗酸化酵素群が感音難聴における有力な治療標的であることを明らかにした。

含セレン蛋白質は、必須微量元素セレン(Se)を活性中心に含み、Nrf2 と共に生体の抗酸化機能・酸化還元恒常性維持に重要な役割を果たしている。代表的な含セレン蛋白質であるグルタチオンペルオキシターゼ(Gpx)やチオレドキシニン還元酵素(TrxR)は、Nrf2 の標的遺伝子として知られている。一方で、我々は、肝臓およびマクロファージにおける臓器特異的含セレン蛋白質合成破綻マウスを作製して、含セレン蛋白質が欠失すると Nrf2 が活性化してその抗酸化機能を代償することを示した。また、含セレン蛋白質と Nrf2 を同時に欠失したマウスは活性酸素種の蓄積により致死となることも示し、含セレン蛋白質と Nrf2 は相互作用を持ちながら、生体の酸化還元恒常性維持に不可欠な役割を果たしていることを実証した。

セレン蛋白質と Nrf2 の相互作用は肝臓のみならず、赤血球、骨髄球および小脳においても観察されている。我々は、「内耳において、含セレン蛋白質は Nrf2 と共に酸化ストレス防御に働き、セレン欠乏により急性感音難聴発症リスクが高まる」という仮説をたてた。

### 2. 研究の目的

急性感音難聴患者のセレン欠乏を示す報告は以前からあるものの、難聴発症との因果関係は不明である。一方で、セレンは発癌予防目的等で既に使用されているため、セレン欠乏により急性感音難聴が発症するメカニズムを解明できれば、容易に臨床応用が可能になると期待される。本研究は、セレン欠乏と急性感音難聴発症のメカニズムを明らかにし、臨床応用につなげることを目的とする。

### 3. 研究の方法

本研究では以下の2点を明らかにすることを大きな目標とした。

(1) 野生型マウスにおいて、セレン欠乏状態が感音難聴発症の危険因子となるかどうか。

(2) Nrf2 欠失マウスにおいて、セレン欠乏状態が感音難聴発症の危険因子となるかどうか。

本研究では、加齢性難聴の自然発症がみられる C57BL/6 系統の野生型、および Nrf2 欠失マウスを用いて以下の実験を行う。通常食群および低セレン食群にて、それぞれ飼育、繁殖する。血中セレン濃度および蝸牛の含セレン蛋白質活性 (グルタチオンペルオキシターゼ活性、Gpx1、Txnrd1 のウエスタンブロット、mRNA など) を測定して、セレン欠乏状態の確認を行う。感音難聴発症因子として、騒音暴露、薬剤暴露、加齢性変化を用いる。薬剤にはシスプラチンまたはゲンタマイシンを使用する。評価項目には、聴力(ABR)、蝸牛の形態学的な変化、活性酸素種蓄積の有無、蝸牛のグルタチオン濃度、含セレン蛋白質活性、Nrf2 活性 (標的遺伝子 Nqo1, Ho-1, Gclc, Gclm の mRNA など) を用いる。

### 4. 研究成果

本研究は、マウス遺伝学による基礎研究と、耳毒性をもつ代表的薬剤シスプラチン投与をうける頭頸部がん患者における観察研究を併行してすすめた。まず、C56/BL6 マウスを飼育し、4 週齢から通常餌と低セレン餌の 2 群にわけてそれぞれ飼育し、4 週間(8 週齢)および 8 週間(12 週齢)経過した時点で解析を行った。音響暴露後に ABR にて聴力評価した結果としては、低セレン餌の飼育のみでは、通常餌と比べて ABR の値に有意な差は認められなかった。臓器特異的セレン遺伝子欠失マウスの先行研究において、肝臓や脳、マクロファージにおけるセレン欠失は、同じく酸化ストレス防御に働く転写因子 Nrf2 とその標的遺伝子群の活性化が起こり、セレン欠失を代償することが知られている。そのため、Nrf2 欠失マウスを低セレン餌で飼育して、同様の検討を行うことにした。現在、実験を続けているが、今のところ安定した結果が得られておらず、仮説の検証は途中である。一方、シスプラチン投与をうける頭頸部がん患者を対象とした観察研究は、治療前と治療後 3 ヶ月において、聴力検査とともに血清セレン値の測定すると同時に、Nrf2 遺伝子多型も調べることとした。院内の倫理申請(2018-1-1011)で承認を得た後、文書で観察研究の説明と同意を得て、観察研究を開始した。目標症例数は 5 年間で 100 症例を設定しており、現在 3 年経過した時点で 59 例の登録が得られており、順調に症例集積がすすんでいる。また、難聴以外の検討を行なったところ、低セレン状態は頭頸部がん患者において、化学放射線治療の完遂率を低下させることが明らかになった。本研究結果は、Oral Oncology に掲載された。セレンに代表される微量元素を含む栄養状態の管理は、耳鼻咽喉・頭頸部外科診療に

において今後もますます重要性が高まることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ohkoshi Akira, Ishii Ryo, Wakamori Shun, Nakayama Yuki, Yoshida Takuya, Higashi Kenjiro, Nakanome Ayako, Ogawa Takenori, Katori Yukio	4. 巻 121
2. 論文標題 Serum selenium predicts achievement of full-dose cisplatin in concurrent chemoradiotherapy for locally advanced head and neck squamous cell carcinoma: A prospective, observational study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Oral Oncology	6. 最初と最後の頁 105475 ~ 105475
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.oraloncology.2021.105475	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------