

令和 7 年 5 月 26 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2022～2024

課題番号：22K09700

研究課題名（和文）感音難聴と上気道好酸球性炎症の病態形成における活性イオウ分子種の関与

研究課題名（英文）The contribution of sulfur species in the pathogenesis of sensorineural hearing loss and upper airway eosinophilic inflammation

研究代表者

鈴木 淳（Suzuki, Jun）

東北大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：80735895

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）： 活性イオウ分子種が感音難聴及び上気道好酸球性炎症の病態に関与するかは不明であった。本研究では、活性イオウ分子種の産生が低下する遺伝子改変マウス（CARS2 AINK/+マウス）において、騒音性難聴の発症に有意な差を認めないことを明らかにした。臨床検体を用いた解析からは、好酸球性副鼻腔炎患者の副鼻腔粘膜では、システイン、グルタチオン、活性イオウ分子種の生成源となるGSSSGの量が、炎症のない正常コントロール粘膜に比較して有意に低下することが明らかになった。また、呼気中の活性イオウ分子種を測定する実験系を確立し、鼻副鼻腔の腫瘍性疾患と炎症性疾患ごとにイオウ化合物濃度の比較を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、好酸球性副鼻腔炎患者の副鼻腔粘膜において、酸化ストレス防御機構に関わるイオウ化合物の濃度が低下していることが明らかになった。この結果は、好酸球性副鼻腔炎の病態形成にイオウ化合物が関与することを示唆しており、治療法の開発に結びつく可能性がある。また、経鼻呼気中の活性イオウ分子種を測定する実験系を新規に確立した。今後、鼻副鼻腔疾患のみならず、様々な気道疾患に対するイオウ化合物の関与を検討する準備を完了することができた。

研究成果の概要（英文）：The role of sulfur species, including supersulfides, in the pathogenesis of sensorineural hearing loss and upper airway eosinophilic inflammation remains unclear. In this study, we demonstrated no significant difference in the noise sensitivity in CARS2 AINK/+ mice with reduced production of supersulfides. Analysis using clinical samples revealed that the levels of GSSSG, a precursor of supersulfides, as well as cysteine and glutathione, were significantly reduced in the paranasal mucosa of patients with eosinophilic chronic rhinosinusitis compared to normal control mucosa without inflammation. Additionally, we developed an experimental system for measuring sulfur species in exhaled breath and conducted comparisons of sulfur compound concentrations in exhaled breath for tumorous and inflammatory diseases of the nasal cavity and paranasal sinuses.

研究分野：耳鼻咽喉科学

キーワード：活性イオウ分子種 騒音性難聴 好酸球性副鼻腔炎 超イオウ 感音難聴

1. 研究開始当初の背景

感音難聴は、内耳での酸化ストレス・ミトコンドリア機能障害が発症に重要とされ (Yamasoba T, et al. *Hear Res.* 2013)、高齢社会の進行により加齢性難聴患者が急増し社会問題となっている。動物実験では有望な治療法も開発されているが、未だ臨床的に確立された治療法はなく、新たな病態の解明と更なる治療法の開発が求められている。好酸球性副鼻腔炎・中耳炎は、好酸球活性化やムチン産生などの炎症反応の遷延化を特徴とする 2 型炎症である。主に免疫学的アプローチから病態解明が進んでおり、酸化ストレス防御機構との関連性を検討した報告は少ない。下気道疾患では局所の酸化ストレスが増加すると報告されており (Sugiura H. *Antioxid Redox Signal* 2008)、上気道好酸球性炎症への酸化ストレスの関与を検討することで、病態解明と新規治療法の開発につながるものが想定される。このような背景の中、申請者らは強力な抗酸化活性を有する活性イオウ分子種に着目した。

活性イオウ分子種はシステインやグルタチオンなどのチオール基に過剰にイオウ分子が付加した活性イオウ・ポリスルフィドであり、東北大学医学系研究科環境医学分野の赤池孝章教授のグループにより、強力な抗酸化作用を有する内因性抗酸化分子として世界に先駆けて報告された (Ida T, et al. *PNAS* 2014)。その後、CARS2 がシステインパーズルフィドの合成活性を持つこと (Akaike T, et al. *Nat Commun* 2017)、活性イオウ誘導体の投与により内毒素ショックモデルマウスの生存率が改善すること (Zhang T, et al. *Cell Chem Biol*, 2019)、慢性閉塞性肺疾患患者の肺細胞・気道被膜液中で活性イオウ量が減少していること (Nakamura T, et al. *Thorax* 2017) などが次々報告されている。一方、感音難聴及び上気道好酸球性炎症の病態に活性イオウ分子種が関与するかは不明である。そこで、「強力な内因性抗酸化物質である活性イオウ分子種とその産生酵素が、感音難聴及び上気道好酸球性炎症の病態形成に関与するのか、そして新たな治療ターゲットになりうるのか」を学術的な問いとして本研究を開始した。

2. 研究の目的

本研究では、上記の学術的「問い」に答えるために、活性イオウ分子種の生成能が低下するマウスおよび鼻副鼻腔疾患患者の臨床検体 (副鼻腔粘膜など) を用いて、以下の疑問点を解明することを目的とした。

- (1) 活性イオウ分子種の生成能が低下するマウスでは、騒音性難聴 (Noise-induced hearing loss: NIHL) や加齢性難聴の発症が野生型と比較しどのように異なるのか?
- (2) 副鼻腔炎・中耳炎患者の組織中の活性イオウ分子種量と臨床指標の間に有意な関連があるのか?
- (3) 活性イオウ分子種の生成能が低下するマウスでは、好酸球性副鼻腔炎 (Eosinophilic chronic rhinosinusitis: ECRS) や好酸球性中耳炎 (Eosinophilic otitis media: EOM) の重症度が野生型と比較し異なるのか?
- (4) 活性イオウ誘導体の補充は、NIHL、ECRS、EOM に対する予防法・治療法になり得るのか?

以下、研究期間内に明確な結果を得ることができた (1) 騒音性難聴との関連性、(2) 副鼻腔炎との関連性について研究方法と結果を記載する。

3. 研究の方法

(1) NIHL との関連性

C57BL/6 背景の 6~8 週齢のオス *CARS2^{AINK/+}* マウスと野生型マウスを用いた。*CARS2^{AINK/+}* マウスは CARS2 活性が低下するという特徴を有する。永続性閾値上昇が生じる音響暴露 (8-16kHz, 96dB, 2 時間) を行い、騒音暴露 1 日後と 4 週間後に聴性脳幹反応 (ABR) で聴力閾値を評価した。上記の実験にあわせて、酸化ストレス防御に関与すると考えられる脂肪酸結合タンパク質 7 型の欠損マウス (*Fabp7^{KO}* マウス) の聴力評価も行った。

(2) 副鼻腔炎患者の副鼻腔粘膜および呼気におけるイオウ化合物の定量

東北大学病院および関連病院で手術を行った副鼻腔炎患者の副鼻腔粘膜 (鈎状突起) を採取し、活性イオウ分子種を含むイオウ化合物の定量 (LC-MS/MS 法) を行った。診療録より年齢、性別、採血結果 (末梢血好酸球数など)、画像検査結果 (Lund-Mackay score など) 等を収集した。副鼻腔サンプルは正常群、非 ECRS 群、ECRS 群の 3 群で比較・検討を行った。

東北大学病院に通院している副鼻腔炎患者、鼻副鼻腔腫瘍患者、および健常者 (正常コントロール) の呼気 (経口および経鼻) を採取し、活性イオウ分子種を含むイオウ化合物の定量 (LC-

MS/MS 法) を行った。

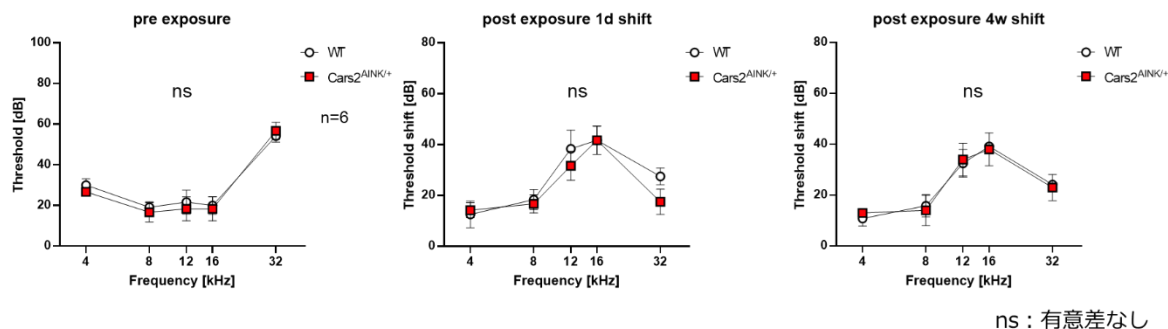
4. 研究成果

(1) NIHL との関連性

① *CARS2*^{AINK/+} マウス

CARS2^{AINK/+} マウスは、野生型マウスと比較し、騒音暴露前、騒音暴露 1 日後、騒音暴露 4 週間後の聴力に有意な差を認めなかった (図 1)。

図 1



② *Fabp7* KO マウス

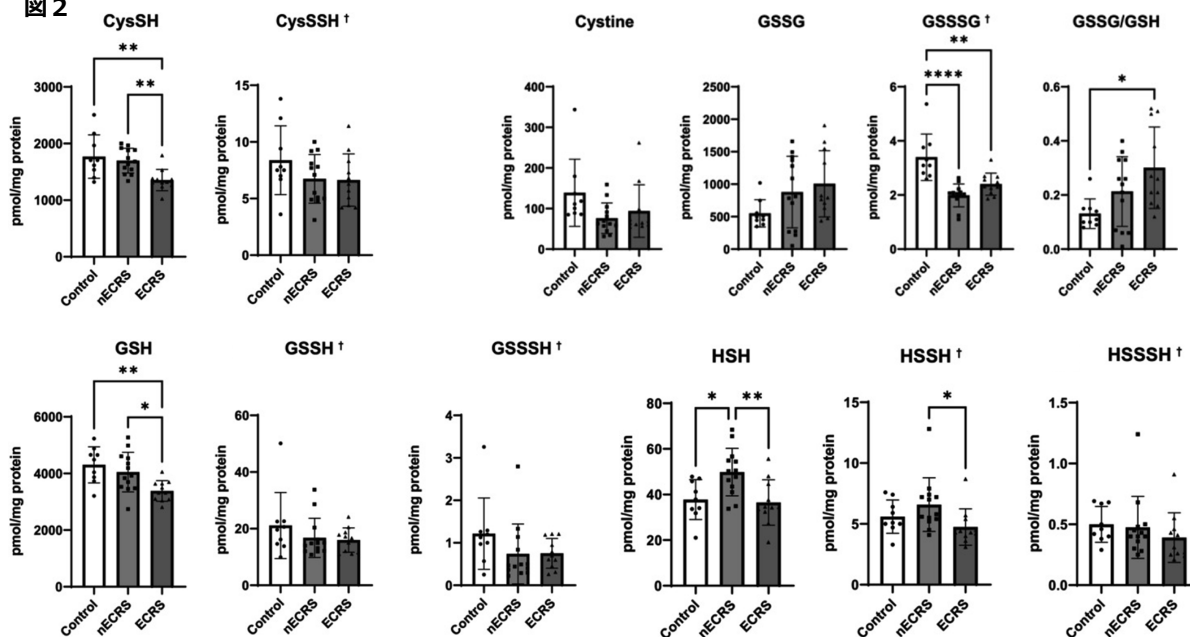
Fabp7 KO マウスは、9 週目において、野生型マウスとの間で ABR 閾値に有意な差を認めなかった。騒音暴露 (8-16kHz, 100dB, 2 時間) 2 週間後において、8-32 kHz の閾値は *Fabp7* KO マウスで有意に低かった。高周波数領域における有毛細胞の生存率は、*Fabp7* KO マウスで有意に高かった。RNA シーケンス解析では、*Fabp7* KO マウスにおいて電子伝達系に関連する遺伝子の発現が有意に上昇していた。メタボロミクス解析では、*Fabp7* KO マウスにおいて代謝物の多様な変化が観察された。

(2) 副鼻腔炎患者の副鼻腔粘膜および呼気におけるイオウ化合物の定量

① ヒト副鼻腔炎粘膜におけるイオウ化合物の定量

コントロール群 (n=9)、ECRS 群 (n=13)、および非 ECRS (nECRS または non-ECRS) 群 (n=11) の副鼻腔粘膜におけるイオウ化合物の濃度を測定した。ECRS 群では、GSH および CysSH の濃度が有意に低下し、酸化ストレスの指標であるグルタチオンジスルフィド (GSSG) /GSH 比が上昇していた。活性イオウ分子種の濃度には明らかな差を認めなかったが、ECRS および nECRS 群では、活性イオウ分子種の前駆体であるグルタチオントリスルフィド (GSSSG) の濃度が有意に低下していた (図 2)。

図 2

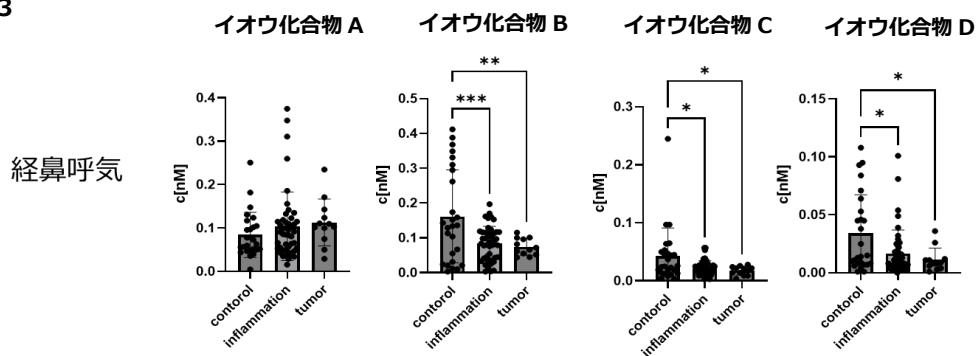


②鼻副鼻腔疾患患者の呼気におけるイオウ化合物の定量

経鼻呼気および経口呼気から、質量分析装置を用いて活性イオウ分子種を含むイオウ化合物を定量する実験系を確立した。一部のイオウ化合物において、経鼻呼気と経口呼気との間に有意な濃度差を認めた。

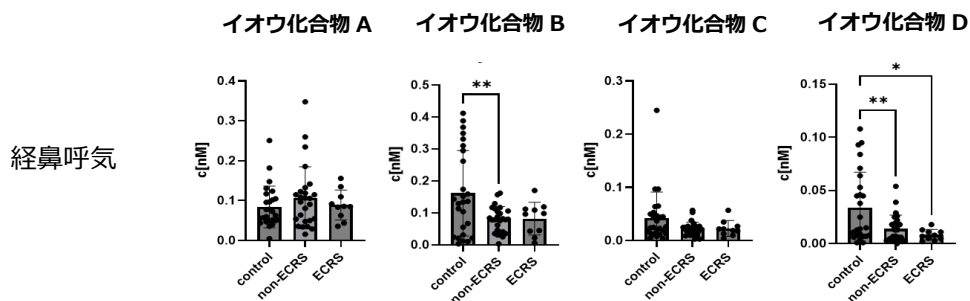
コントロール群 (n=26)、慢性副鼻腔炎などの炎症性疾患群 (n=49)、内反性乳頭腫などの腫瘍性疾患群 (n=12) の経鼻呼気および経口呼気におけるイオウ化合物の濃度を測定した。炎症性疾患群および腫瘍性疾患群の両方で、経鼻呼気中における一部のイオウ化合物の濃度がコントロール群と比較して有意に低下していた (図3)。

図3



コントロール群 (n=26)、ECRS 群 (n=11)、および non-ECRS 群 (n=26) の経鼻呼気および経口呼気におけるイオウ化合物の濃度を測定した。経口呼気においては、コントロール群、ECRS 群、および non-ECRS 群において有意な差を認めなかった。経鼻呼気においては、コントロール群と比較し、ECRS 群および non-ECRS 群において一部のイオウ化合物の濃度が有意に低下していたが、ECRS 群と non-ECRS 群間においては有意な差を認めなかった。(図4)。

図4



* : p<0.05 , ** : p<0.01 , *** : p<0.001, **** : p<0.0001

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Suzuki Jun, Hemmi Tomotaka, Maekawa Masamitsu, Watanabe Masahiro, Inada Hitoshi, Ikushima Hiroyuki, Oishi Tetsuya, Ikeda Ryoukichi, Honkura Yohei, Kagawa Yoshiteru, Kawase Tetsuaki, Mano Nariyasu, Owada Yuji, Osumi Noriko, Katori Yukio	4. 巻 13
2. 論文標題 Fatty acid binding protein type 7 deficiency preserves auditory function in noise-exposed mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 21494
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-48702-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 鈴木 淳	4. 巻 151
2. 論文標題 【超高齢社会における難聴・耳鳴への対応】Hidden hearing loss(隠れ難聴)とAPD(聴覚情報処理障害)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本医師会雑誌	6. 最初と最後の頁 393
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 Suzuki Jun, Hemmi Tomotaka, Ida Tomoaki, Ogata Seiryu, Yoshitake Jun, Matsunaga Tetsuro, Ishida Tomoyasu, Numano Yuki, Kusano Yusuke, Ikeda Ryoukichi, Nomura Kazuhiro, Sugawara Mitsuru, Ohta Nobuo, Akaike Takaaki, Katori Yukio	4. 巻 9
2. 論文標題 Supersulfide formation in the sinus mucosa of chronic rhinosinusitis	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Laryngoscope Investigative Otolaryngology	6. 最初と最後の頁 e1261
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/liv.1261	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Jun Suzuki, Tomotaka Hemmi, Tomoaki Ida, Seiryu Ogata, Jun Yoshitake, Tetsuro Matsunaga, Tomoyasu Ishida, Yuki Numano, Yusuke Kusano, Ryoukichi Ikeda, Kazuhiro Nomura, Mitsuru Sugawara, Nobuo Ohta, Takaaki Akaike, and Yukio Katori
2. 発表標題 Supersulfide formation in the sinus mucosa of chronic rhinosinusitis
3. 学会等名 ISIAN& IRS2024 (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Jun Suzuki, Ryoukichi Ikeda, Yohei Honkura, Tetsuaki Kawase, Yukio Katori
2. 発表標題 Effects of Fabp7 deletion on hearing after noise exposure
3. 学会等名 2023 International Otopathology Society Meeting (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木 淳、逸見 朋隆、野村 和弘、菅原 充、太田 伸男、香取 幸夫
2. 発表標題 イオウ代謝物と慢性副鼻腔炎の病態に関する検討
3. 学会等名 第62回 日本鼻科学会総会・学術講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Suzuki J, Ikeda R, Honkura Y, Kawase T, Katori Y.
2. 発表標題 Fatty acid binding protein type 7 deficiency: Effect on murine auditory function post noise exposure.
3. 学会等名 EES2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木 淳
2. 発表標題 これからの音響性聴覚障害研究 Hidden hearing lossの病態解明と治療法開発の現状
3. 学会等名 第32回日本耳科学会
4. 発表年 2022年

〔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
研究 分担者	太田 伸男 (Ohta Nobuo) (20282212)	東北医科薬科大学・医学部・教授 (31305)	
研究 分担者	池田 怜吉 (Ikeda Ryoukichi) (30645742)	岩手医科大学・医学部・准教授 (31201)	

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
---------	---------