

平成 22 年 4 月 5 日現在

研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2008～2009  
 課題番号：20791212  
 研究課題名（和文） 中耳・副鼻腔における炎症の遷延化と粘膜修復機構に関する基礎的研究  
 研究課題名（英文） Basic research for mechanisms of mucus cell metaplasia in otitis media and sinusitis.  
 研究代表者  
 中村 善久 (NAKAMURA YOSHIHISA)  
 名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教  
 研究者番号：90360023

研究成果の概要（和文）：申請者は 20ng/ml TNF- $\alpha$ （炎症性サイトカイン）と 1 $\mu$ M レチノイン酸（粘膜分化に必須の栄養素）とともに中耳粘膜細胞を培養することによって多数の杯細胞を誘導する炎症性杯細胞化生モデルを確立した。この系で Math1（杯細胞発生時に杯細胞への分化を決定する転写因子）を遺伝子導入すると、さらに多くの杯細胞を誘導することができることから、Math1 は炎症による杯細胞化生においても中心的な役割を果たしていると考えられる。さらに、Math1 は主にレチノイン酸により活性化され、EGF（表皮成長因子）受容体のチロシンキナーゼ阻害剤（AG1478）により有意に抑制されることを発見した。Math1 や EGF 受容体チロシンキナーゼの制御により杯細胞化生を予防する治療が開発できると考えられる。

研究成果の概要（英文）：A key issue in otitis media (OM) is mucous cell metaplasia, a condition for hyperproduction of mucus in the middle ear mucosa and development of chronic OM. We demonstrated that Math1, a critical transcription factor for the development of mucous cells in the intestine, in the presence of pro-inflammatory cytokine (tumor necrotic factor alpha, TNF $\alpha$ ) and retinoic acid (RA), promoted the differentiation of middle ear epithelial cells (MEECs) into mucus cells. RA strengthened the expression of Math1 via the epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase activity. A specific inhibitor for EGFR tyrosine kinase, AG1478, abrogated the Math1 expression and reduced mucus cell numbers. Math1 or EGFR tyrosine kinase should be the therapeutic molecular target for the OM.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：杯細胞化生、Math1、TNF- $\alpha$ 、レチノイン酸、EGFR

## 1. 研究開始当初の背景

慢性中耳炎にみられるような粘性耳漏は、急性期が過ぎても癒えることなく分泌され、中耳に貯留して難聴を引き起こす。このような疾患の背景には、杯細胞化生と呼ばれる病態が存在する。杯細胞化生とは、炎症により障害された粘膜の再生時に、完全な粘膜再生がなされず、粘液産生細胞（杯細胞）が過剰に出現することである。炎症産物を含んだままの耳漏は、局所に停滞して更なる杯細胞化生を誘発し、病態を難治化・遷延化させる。慢性中耳炎の頑固な耳漏を治療するためには、このような病態を打破する必要があるが、杯細胞化生に関する知識が不足しているために有効な治療法を打ち出せないのが現状である。

## 2. 研究の目的

細胞化生（分化）に関与する因子として、TNF- $\alpha$  (Tumor necrosis factor- $\alpha$ )、IL-13 などのサイトカイン、EGF(epidermal growth

factor)などの成長因子、Math1（小腸の肺細胞発生に必須の転写因子）、細菌の菌体成分、レチノイン酸(retinoic acid, RA、ビタミンA誘導体)など様々なものが報告されている。本研究では特に Math1 に注目し、杯細胞化生の機序を明らかにする。

## 3. 研究の方法

マウス中耳粘膜細胞を様々な因子とともに培養し、効率的に杯細胞を誘導する方法を検討した。さらに、杯細胞分化における Math1 の作用を検討するため、Math1, as-Math1, C2(empty vector control) 遺伝子導入細胞を樹立し、同様の実験を行った。また、様々なシグナル伝達阻害薬を用いて Math 1 による杯細胞化生に関与するシグナル伝達経路を検討した。

#### 4. 研究成果

20ng/ml TNF- $\alpha$  (炎症性サイトカイン) と 1  $\mu$ M レチノイン酸 (粘膜分化に必須の栄養素) とともに中耳粘膜細胞を培養することによって多数の杯細胞を誘導する炎症性杯細胞化生モデルを確立した。この系で Math1 を遺伝子導入すると、さらに多くの杯細胞を誘導することができることから、Math1 は炎症による杯細胞化生においても中心的な役割を果たしていると考えられる。さらに、Math1 は主にレチノイン酸により活性化され、EGF (表皮成長因子) 受容体のチロシンキナーゼ阻害剤 (AG1478) により有意に抑制されることを発見した。Math1 や EGF 受容体チロシンキナーゼの制御により杯細胞化生を予防する治療が開発できると考えられる。

#### 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 1 件)

中村善久、ヒト大腸杯細胞 HT29-MTX における杯細胞マーカーの発現、耳鼻咽喉科免疫アレルギー、査読なし、27 巻、2009、117-118

[学会発表] (計 3 件)

Yoshihisa Nakamura, Math1 drives the differentiation of middle ear epithelial cells into mucous cells in vitro. 6<sup>th</sup> Extraordinary International Symposium on Recent Advances in Otitis Media, 2009年5月6日, 韓国

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

中村 善久 (NAKAMURA YOSHIHISA)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：90360023