

平成 23 年 6 月 16 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21791643

研究課題名(和文)

耳小骨の骨形成と骨吸収に関する検討

研究課題名(英文)

osteoclasts regulate morphology of auditory ossicles and maintaining hearing function

研究代表者

神崎 晶 (KANZAKI SHO)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：50286556

研究成果の概要(和文):

cFos あるいは RANKL 遺伝子が欠損した大理石病モデルマウスにおいて聴力と形態を測定した。正常群と比較して、大理石病モデルマウスは 2 種とも難聴を呈し耳小骨が拡大した。耳小骨の拡大化に比較して中耳腔は拡大していなかった。中耳腔骨が耳小骨にぶつかって振動しないことが解明された。

研究成果の概要(英文):

We analyzed hearing function and morphological features of auditory ossicles in osteopetrotic mice, which lack osteoclasts because of the deficiency of either cytokine RANKL or transcription factor c-Fos. Osteopetrotic mice showed severe hearing loss and a smaller volume of the tympanic cavity but had larger auditory ossicles compared with controls. Unexpected contact of ossicles to the otic capsule causes hearing loss.

交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉頭科学

キーワード：耳小骨、破骨細胞、耳硬化症、大理石病、難聴

1. 研究開始当初の背景

われわれは、本研究申請において、破骨細胞数の変化が耳小骨や聴力に対して影響がどの程度あるかを調査してきた。破骨細胞数が増加すると骨吸収が強まり、アブミ骨周囲でその変化が強まることから耳硬化症が破骨細胞数の増加によるものであると考えられている。このように耳硬化症をはじめ、中耳炎、大理石病など中耳疾患において耳小骨の

骨吸収、形成は聴力を決定する重要な因子であると考えられている。

大理石病マウスは臨床生まれな疾患であるが、耳鼻咽喉科の範囲では、伝音難聴あるいは混合難聴を呈することが報告されており、中耳に異常があると予想されている。臨床上、難聴の原因は内耳道の骨性閉塞など蝸牛神経(聴神経)の圧迫によるなど感音難聴による部分についてのみ説明がされており、伝音

難聴については明らかなメカニズムが説明できなかった。

過去に報告された大理石モデルラットに関して難聴の原因について言及されていない。耳小骨が太くなることは基礎研究でも臨床的にも判明していたが、どうして難聴に関連するかという原因は不明のままであった。そこで当該年度において大理石病モデルを用いて、耳小骨の形態、サイズと難聴の有無を解析し、難聴の原因について検討することとした。

2. 研究の目的

耳小骨における破骨細胞数の重要性について解析する。破骨細胞数が減少した(ほとんどない)大理石病モデルを使用して難聴の原因を解析することが目的である。

3. 研究の方法

6-8週齢の大理石病モデルマウス(cFos あるいは RANKL ノックアウトマウス)を使用した。

聴力測定: ABR(聴性脳幹反応)で2, 4, 12, 20 kHz 聴力を測定した。

鼓膜振動測定: それぞれの遺伝子型マウスにおいてレーザードップラーで鼓膜振動を解析した。

μ CT: 内耳腔、中耳腔、耳小骨(ツチ骨、キヌタ骨、アブミ骨)の容積の測定を μ CTを用いて行った。

SPi ring 8: 高解像度CTにてツチ骨頭の一部を撮影し、軟骨細胞を解析した。

組織学的検討: それぞれのマウスから抽出された耳小骨形態を実体顕微鏡にて撮影した。さらに耳小骨を固定、パラフィン包埋後に切片作成し、HE染色あるいはアリザリンレッド染色(軟骨細胞を特異的に染色する)で中耳を測定した。

4. 研究成果

大理石病モデルマウスにおいては2種類ともに、野生型マウスと比較して、3つの耳小骨が太くなっており、ツチ骨に接した鼓膜振動の速度(velocity)が小さくなることでレーザードップラーバイプロメーターで確認され、少なくともツチ骨と鼓膜振動の可動制限が存在することが示された。すなわち伝音難聴を有することが示唆された(図1)。また、図2に示す通り cFos KO ならびに RANKL KO マウスでは野生型と比較して30から40dB以上の閾値が上昇していた。

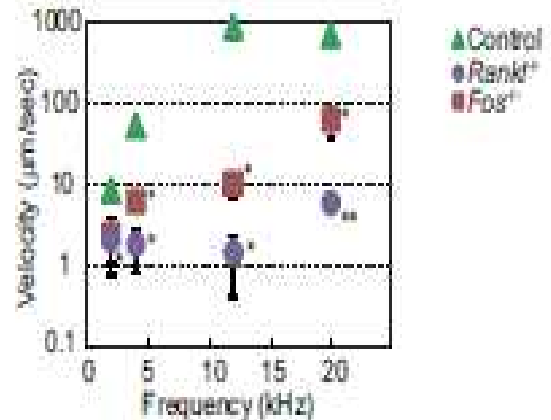


図1 レーザードップラーによる鼓膜振動
野生型(コントロール群)に比較して大理石病モデルでは2種とも鼓膜振動スピードが低下していることがわかる。

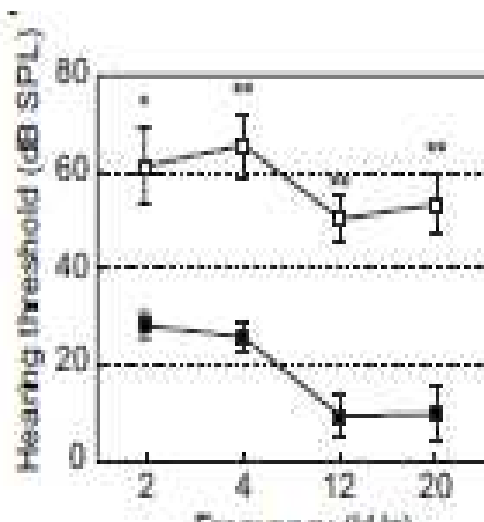


図2 ABR
(RANKL KO マウスと野生型マウスの聴力について)
大理石病モデルマウスではあらゆる周波数で高度難聴を認める。

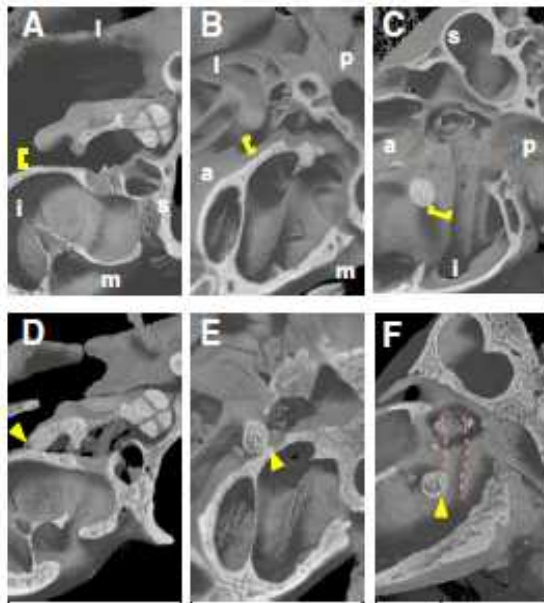


図3 CTにおける耳小骨の観察

AからCまでは正常であり、中耳腔と耳小骨に距離があり(bracket に示す)振動できるが、DからFまでは大理石病モデルであるが、距離がなく接触していることがCTにて観察された。

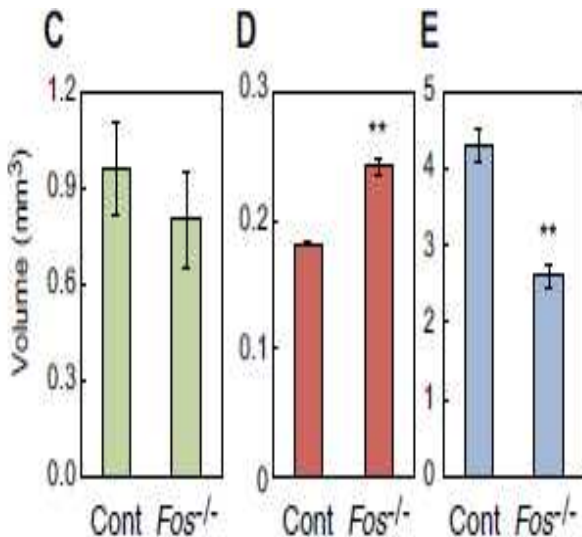


図4 容積比に関する比較

C 内耳の容積は正常とFos ノックアウトマウスとの間で統計学的に有意差はなかった。

D 耳小骨容積は Fos ノックアウトマウスでは大きかった。

E 中耳容積は Fos ノックアウトマウスでは小さかった。

** p<0.01

したがって、中耳骨壁が肥厚し容積が小さくなった結果、耳小骨が中耳腔壁に接触したため、耳小骨の振動が制限される可能性が生じるため、難聴になると考えられた。

(これらの図1 - 4はAJP誌に掲載された図の抜粋である)

組織学手検討では、大理石病モデルマウスの耳小骨では軟骨細胞が著しく増加していた。耳小骨が太くなっていたのは軟骨細胞の増加であると考えられる。

すなわち、破骨細胞が無いと骨細胞に分化しない機構がある。耳小骨の骨化は軟骨内骨化であるが、その機構に破骨細胞が関与していることが示唆された。

まとめ

大理石病の難聴である原因は臨床的にも諸説あるが、少なくともモデルマウスにおいて耳小骨の振動制限が主たる原因と考えられた。

2年間の総括

- 1) 破骨細胞数は耳小骨のサイズ、形に影響を及ぼし、結果的に聴力にも影響があった。破骨細胞数が正常よりも多くても少なくても難聴になることがわかった。
- 2) これらのうち、破骨細胞数増加を抑制する薬剤を投与して聴力が改善することがわかった。

今後の課題

これらの基礎データを応用してさまざまな臨床的耳科疾患(中耳炎、真珠腫性中耳炎、耳硬化症)などにおける耳小骨の破骨細胞数について解析していきたい。

耳小骨は正常では骨リモデリングが遅いが、実際の炎症による変化、耳硬化症による原因不明の骨吸収増加を呈する病変では破骨細胞数が増加していると予測される。

将来的に耳小骨の骨吸収を保存的に抑制することが可能になれば、中耳炎による難聴は減少することが予想される。また、WHOによれば、貧困に関する疾患として中耳炎による難聴を挙げており、発展途上国を含む世界の人々に恩恵のある、社会的にインパクトのある治療になりうると考えている。

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2件)

Kanzaki S, Takada Y, Niida S, Takeda Y, Nango N, Momose A, Ogawa K, Matsuo K, Impaired of vibration auditory ossicles in osteopetrotic mice, American Journal of Pathology 2011, 178, 1270-8. (査読有)

小川郁、井上泰宏、斎藤秀行、神崎晶、鈴木隆史、大石直樹、岡本康秀(総説)耳硬化症update (2) - 治療と予防 - 耳鼻咽喉科臨床 2010, 103 103-112 (査読有)

[学会発表](計1件)

Kanzaki S, Significant correlation between audiogram and perioperative testing ossicular mobility in otosclerosis patients - JOINT MEETING - IV CONSENSUS IN AUDITORY IMPLANTS & V EAONO INSTRUCTIONAL WORKSHOP - Parma June 16-19, 2010

[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]

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

神崎 晶 (KANZAKI SHO)
慶應義塾大学・医学部・講師
研究者番号：50286556

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし