

寺門 万里子 論文内容の要旨

主 論 文

Distribution of glucocorticoid receptors and 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase isoforms in the rat inner ear

(ラットの内耳におけるグルココルチコイドレセプターと11ベータ-ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼアイソフォームの発現)

寺門 万里子、隈上 秀高、高橋 晴雄

Hearing Research

(Accepted 12 May 2011. Available online 6 June 2011. In press) 2011 年

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻

(主任指導教員：高橋 晴雄 教授)

緒 言

グルココルチコイド (glucocorticoid : GC) は、その受容体であるグルココルチコイドレセプター (glucocorticoid receptor : GR) に結合し、細胞保護作用、発達の調節、イオンの制御など多彩な生理作用を発揮する。GC は、突発性難聴、メニエール病、急性低音障害型感音難聴などの内耳性難聴の治療に広く使用されており、GR が内耳に存在することは、動物の内耳でも確認されている。しかしながら、内耳の GR に関して、これまで①mRNA と免疫染色の存在部位が一致しない、②細胞内の極性が示されていない、③音を受容するコルチ器の有毛細胞では GR の存在が確定していない、などの未解決な点がある。また、細胞内の GC は、変換酵素 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase (11 β -HSD) の作用を受け、活性型であるコルチゾールと不活性型コルチゾンとに変換され、それらの細胞内濃度が調節されていることが示されており、近年、この 11 β -HSD には、1 型 (11 β -HSD1) と 2 型 (11 β -HSD2) の 2 種類の isoform が存在することが知られるようになった。11 β -HSD は、脳脈絡叢における髄液産生や緑内障や眼圧調節、脂質代謝、血圧調整など多くの臓器において多彩な作用を示すことが知られているが、内耳における 11 β -HSD の isoform の分布と発達段階における変化については十分に知られていない。我々は、ステロイド作用を考える上で重要な役割を果たすと考えられる GR と 11 β -HSD の isoform について、RT-PCR 及び免疫組織学的手法を用い、正常のラット内耳で、その局在と極性を調べると共に発達段階での違いについても検索した。

対象と方法

対象 ; 生後 1 日・4 日・10 日及び成熟した Wistar Rat。

方法 ;

1. ラットの正常耳より内耳組織 (蝸牛 (コルチ器、血管条)・前庭) を採取し、4%PFA/PBS で固定後、パラフィン包埋し、薄切した。GR、11 β -HSD1、11 β -HSD2 に対する各抗体で免疫染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡下 (LSM

510 META, Zeiss, Germany) に観察した。

2. ラットの正常耳より内耳組織（蝸牛（コルチ器、血管条）・前庭）を採取し、RT-PCR を用いて、GR、 11β -HSD1、 11β -HSD2 の mRNA の発現を観察した。
3. ラットの正常耳より血管条を採取し、でデキサメサゾン（Dexamethason : DXM）を含む培養液と含まないものを $5\%CO_2/37^\circ C$ 下で 2 時間培養し、 $4\%PFA/PBS$ で固定後、免疫染色を行い、GC の刺激で GR がどのように変化するかを共焦点レーザー顕微鏡下に観察した。

結 果

1. RT-PCR 法において、GRs、 11β -HSD1、および 2 の mRNA が、蝸牛コルチ器、血管条、前庭に発現していた。
2. 免疫染色法において、GRs 及び 11β -HSD1 は、蝸牛有毛細胞、支持細胞、血管条、らせん靱帯、らせん神経節、Reissner 膜、蝸牛神経、前庭有毛細胞、暗細胞、前庭神経に存在したが、 11β -HSD2 は、観察されなかった。
3. 血管条において、GR は、DXM を含む培養液では、核も染色されたが、DXM が無い場合では、核には観察されなかった。

考 察

GR は、有毛細胞、血管条上皮、神経に広く存在し、GC および 11β -HSD により聴覚と平衡覚の伝達が、それらの制御下にあることが判明した。臨床的にはこれらの部位が治療の標的となるものと思われる。血管条においては、GC、 11β -HSD1 は発達早期から発現されており、血管条は、内リンパを産生し、内耳の恒常性維持に重要な役割を果たしていると共に、イオン調節による蝸牛内電位（EP : endocochlear potential）の形成源となっており、GR、 11β -HSD による GC の細胞内制御が聴覚の発生に重要な機能を果たしていることが考えられる。また、一般に GR は、GC と未結合の場合、細胞質にも存在し、GC の刺激により核に移動することが知られている。血管条において、GR は、GC により核内に移動することが確認されたことより、本研究の薄切標本における免疫染色の結果は、GC と未結合の GR を観察していると考えられた。GR、 11β -HSD は、他領域における疾患に関与していることが解明されつつある。GR、 11β -HSD が内耳疾患にどのように関わっているか、今後の検討が必要である。

（備考）※日本語に限る。2000 字以内で記述。A4 版。