

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2006～2009

課題番号：18390460

研究課題名 (和文) 聴覚受容に関与するイオンチャネルの解析と難聴モデルマウスの作成

研究課題名 (英文) Analysis of ion channels associated with auditory sensation and construction of a model for hereditary hearing impairment

研究代表者

島田 昌一 (SHIMADA SHOICHI)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：20216063

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：聴覚、内耳、有毛細胞、イオンチャネル、ノックアウトマウス

1. 研究計画の概要

感覚器は微小な器官であるがゆえ生化学的な研究が難しく、感覚器に特異的に発現する遺伝子の多くは重要な機能を担っているにも関わらずその研究が立ち遅れてきた。本研究では内耳の有毛細胞の感覚毛に特異的に局在する聴覚の受容に関与する遺伝子の同定を目指す。さらに、これらのチャネルの有毛細胞における分布の微細構造を明らかにすると同時に機械刺激に応答するイオンチャネルとしての機能を解析する。そして、この遺伝子のノックアウトマウスを作成し、実際に聴性脳幹反応 (ABR)、耳音響放射 (OAE) を測定し、難聴をきたしているかどうか解析し、難聴モデルマウスの作成を目指す。

2. 研究の進捗状況

内耳の有毛細胞に局在する聴覚受容に関与するイオンチャネルとして酸感受性イオンチャネル遺伝子ファミリーに属する ASIC1b を同定した。in situ ハイブリダイゼーション法による解析では ASIC1b は、外有毛細胞に強く発現し、内有毛細胞にも発現が認められた。さらに細胞内局在を検討するため、このイオンチャネルに対する抗体を作製し免疫組織化学法を行ったところ、ASIC1b イオンチャネルは有毛細胞において感覚毛がクチクラプレートに接する部分にのみ限局して分布していることが分かった。この領域は感覚毛が振動するとき、機械刺激の負荷がかかる部分なので興味深い。

また、このイオンチャネルは、低浸透圧

などの細胞膜の張力を増加させる条件下で、イオン透過性が増すことをアフリカツメガエル卵母細胞発現系を用いて示した。次に ASIC1b のノックアウトマウスを作成し聴覚検査を行ったところ、部分的な難聴を示した (東京医科歯科大学喜多村先生との共同研究)。走査電子顕微鏡や共焦点レーザー顕微鏡を用いて ASIC1b のノックアウトマウスの内耳の有毛細胞を形態学的に観察したところ、感覚毛、チップリンク、ホリゾンタルトップコネクターなどの内耳の微細構造は正常に保たれていたため、部分的な難聴は ASIC1b のチャネル機能が消失したことが、主な原因ではないかと考えられた。また、このイオンチャネルと協力して聴覚受容に関わると考えられる T 型カルシウムチャネルが内耳の有毛細胞に発現していることを明らかにし、その特性を電気生理学的に解析した。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

聴覚受容に関与するイオンチャネルの候補遺伝子として ASIC1b を同定した。また、このチャネルが低浸透圧などの物理的な張力の生じる刺激でイオン透過性が増すことが分かった。さらに、ASIC1b のノックアウトマウスを作成したところ、部分的な難聴を生じることが分かった。

4. 今後の研究の推進方策

ASIC1b のノックアウトマウスは部分的な

難聴を示し、完全に聴覚が消失したわけではない。そこで ASIC1b とともにイオンチャネルのサブユニットを形成していると考えられる ASIC1a と ASIC1b とのダブルノックアウトマウスを作成し、聴覚がどのような影響を受けるかを解析する予定である。

5. 代表的な研究成果

(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 4 件)

① Ugawa S, Ishida Y, Ueda T, Yu Y, Shimada S, Hypotonic stimuli enhance protein-gated currents of acid-sensing ion channel-lb., *Biochem Biophys Res Commun*, 査読有, 367,530-534,2008.

② Inagaki A, Ugawa S, Yamamura H, Murakami S, Shimada S, The CaV3.1 T-type Ca²⁺channel contributes to voltage-dependent calcium currents in rat outer hair cells., *Brain Res*, 査読有, 1201,68-77,2008.

③ Ugawa S, Ishida Y, Ueda T, Inoue K, Nagao M, Shimada S, Nafamostat mesilate reversibly blocks acid-sensing ion channel currents., *Biochem Biophys Res Commun*, 査読有, 363,203-208,2007.

④ Ugawa S, Inagaki A, Yamamura H, Ueda T, Ishida Y, Kajita K, Shimizu H, Shimada S, Acid sensing ion channel-lb in the stereocilia of mammalian cochlear hair cells., *Neuroreport*, 査読有, 17,1235-1239,2006.

[学会発表] (計 2 件)

① 鶴川真也, 石田雄介, 植田高史, 島田昌一, 低浸透圧刺激は酸感受性イオンチャンネル-1b のプロトン開口電流を増強する。第 31 回日本神経科学大会、2008 年 7 月 9 日、東京

② 鶴川真也, 石田雄介, 植田高史, 島田昌一, マウス蝸牛有毛細胞における酸感受性イオンチャンネル(ASIC)1b の発現。第 50 回日本神経化学会大会、2007 年 9 月 10 日、横浜

[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]