

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：32666  
研究種目：若手研究  
研究期間：2018～2022  
課題番号：18K16909  
研究課題名（和文）聴覚障害におけるRas/Erk経路の細胞生物学的・行動科学的アプローチによる研究  
  
研究課題名（英文）Biochemical and behavioral approach against inner ear disorder and development of new therapeutic modality  
  
研究代表者  
加藤 大星（Kato, Taisei）  
  
日本医科大学・医学部・助教  
  
研究者番号：80787523  
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）：現在、Erk2,FRS2の内耳特異的コンディショナルノックアウトマウスの作製がほぼ終了して聴覚機能の解析を行うと、ノックアウトマウスでは強大音負荷によりより重症の聴覚障害が起きることが判明した。また、本内耳特異的本コンディショナルノックアウトマウスは形態学的な異常は特になことを確認した。また、FRS2のシグナルの下流のAP-1の発現も増加していることを確認した。

#### 研究成果の学術的意義や社会的意義

内耳特異的Erk1/2およびFRS2コンディショナルノックアウトマウスの聴覚特性の解析することにより、内耳障害を引き起こす可能性のある分子ネットワークを網羅的に解析、検討することが可能となり、内耳障害の診断と治療、またその進行の独創的な予防法が明らかになると考えられる。

研究成果の概要（英文）：It became clear now that seriously worse hearing impairment occurred in the knockout mouse by powerful sound load when manufacture of the inner ear-specific conditional knockout mouse of Erk2,FRS2 was almost completed, and it analyzed the hearing function.Also, this inner ear-specific conditional knockout mouse confirmed that there was not the morphologic abnormality particularly.  
Also, we confirmed that the expression of downstream AP-1 of the signal of FRS2 increased.

研究分野：内耳生化学

キーワード：内耳性難聴 急性感音難聴 蝸牛 Erk 細胞死

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

加齢性難聴のモデルマウスや急性音難聴のモデルとしての急性音響外傷モデルモットの作成を行い、それらのモデルを用いて急性音響外傷における転写制御因子 Activator protein-1(AP-1) および Hypoxia inducible factor-1 (HIF-1)などのストレス応答分子の動態の観察を生化学的および形態学的手法を用いて行っている。神経特異的 Erk1/2 コンディショナルノックアウトマウス(防衛医科大学校薬理学講座佐藤泰司との共同研究)は、佐藤らが世界で初めて報告したものであり大変有用である。このマウスから作製された内耳特異的 Erk1/2 および FRS2 コンディショナルノックアウトマウスの聴覚特性の解析することにより、内耳障害を引き起こす可能性のある分子ネットワークを網羅的に解析、検討することが可能となり、内耳障害の診断と治療、またその進行の独創的な予防法が明らかになると考えられる。

### 2. 研究の目的

本研究ではさらに神経特異的 Erk-1/2 コンディショナルノックアウトマウスおよび内耳特異的 Erk-1/2 コンディショナルノックアウトマウスを生化学的、組織学的、機能的(聴覚・行動)に解析し、強大音負荷により MEK/Erk 経路が音響性難聴および耳鳴の発症メカニズムにどのように関与しているかを生化学的および組織学的に解析する。

### 3. 研究の方法

(1) 蝸牛特異的 Erk1/2 コンディショナルノックアウトマウスの作製(慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科学教室藤岡正人・防衛医科大学校薬理学講座佐藤泰司との共同研究)

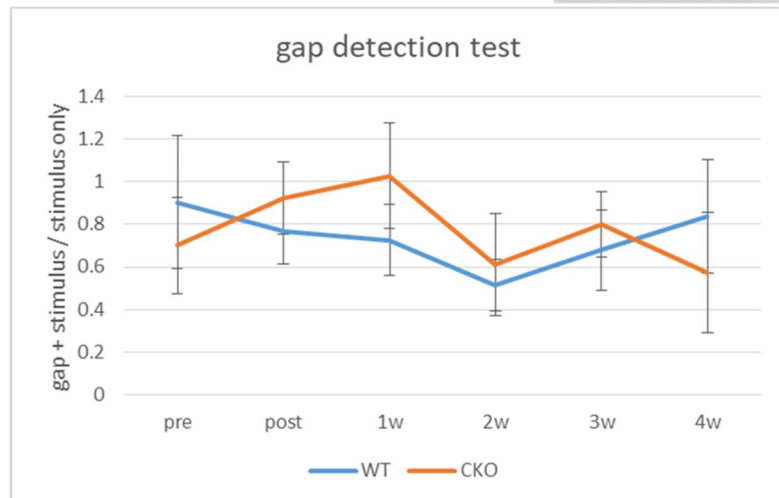
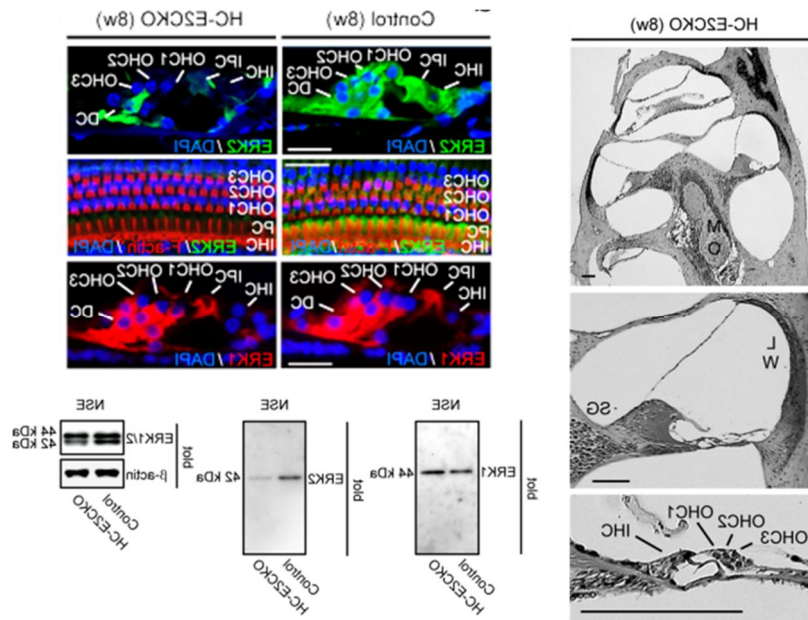
蝸牛特異的 Erk1/2 ノックアウトマウスの聴覚(聴覚測定には聴性脳幹反応, ABR を用いる)を生後 2w, 4w, 8w, 16w, 20w と測定し、野生型のマウスと比較を行う。また、いくつかの週齢において強大音負荷を行い、強大音負荷に対する聴覚の脆弱性の検討を行う。音響外傷後の内耳有毛細胞およびらせん神経節細胞の脱落の程度を検討し、音響性内耳障害における MEK/Erk 経路の関連性、重要性を証明する。また、耳鳴の有無につき、行動科学的実験である GAP detection test を行い、耳鳴発症における Erk 経路の関与につき検討する。なお、コンディショナルノックアウトマウスの継続的な作成には分担研究者である防衛医科大学校薬理学講座佐藤泰司が行い、PCR、ウエスタンブロットも担当する。

(2) 耳鳴の発症機序の解明(慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科学教室藤岡正人との共同研究)

過去の膨大な耳鳴研究から、耳鳴は内耳・中耳・外耳など末梢の障害により中枢が可塑的变化を受けることで発生すると広く認識されている。Erk1/2 ノックアウトマウスに強大音曝露などを行い、各種聴覚検査(脳幹聴性反応, 以下 ABR、歪成分耳音響放射, 以下 DPOAE)にて聴覚機能障害を検討し、また、耳鳴をきたしているかどうかの検討には行動科学的実験である Gap detection test を行う。2006年に Turner らにより開発された驚愕反射とその Prepulse inhibition(PPI) を利用したこの評価法は同一個体で繰り返し耳鳴を評価可能で条件付けも不要であることからさかんに用いられるようになってきている。さらにワイルドタイプのマウスに Erk 阻害剤を投与し、病態における Erk 経路の関与の裏付けを行う。耳鳴発症の分子メカニズムの検討はほとんど報告されておらず、これまでにない新しい研究である

#### 4. 研究成果

現在、Erk2, FRS2 の内耳特異的コンディショナルノックアウトマウスの作製がほぼ終了して聴覚機能の解析を行うと、ノックアウトマウスでは強大音負荷によりより重症の聴覚障害が起きることが判明した。また、本内耳特異的本コンディショナルノックアウトマウスは形態学的な異常は特にないことを確認した。また、FRS2 のシグナルの下流の AP-1 の発現も増加していることを確認した。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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