

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09728

研究課題名(和文) SLC26A4遺伝子変異で見られる多彩な表現型に関する要因の解明

研究課題名(英文) Elucidating factors underlying the diverse phenotypes observed in SLC26A4 gene mutations

研究代表者

伊藤 卓 (Ito, Taku)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・講師

研究者番号：40401400

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)：SLC26A4遺伝子変異によるモンディーニ奇形や内リンパ水腫の発症メカニズムを解明するため、ノックアウトマウスを用いた研究を行った。聴力検査、形態学的解析、遺伝子発現解析により、SLC26A4欠損がマクロファージの活性化や極性形成に影響を及ぼし、ラセン靭帯や血管条の変性を引き起こすことが明らかになった。さらに、m-TOR阻害剤シロリムスの投与実験を計画したが、動物実験施設の規制改変により中断を余儀なくされた。本研究により、SLC26A4遺伝子変異の表現型多様性の一因が明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、SLC26A4遺伝子変異による難聴・平衡障害の発症メカニズムの一端を明らかにした点で学術的に意義がある。SLC26A4欠損がマクロファージの機能異常を引き起こし、内耳の変性に関与することを示した。この知見は内リンパ水腫などの内耳奇形の分子病態解明に貢献する。

一方、社会的には難聴患者の病因解明と新規治療法開発への手がかりを与えた。SLC26A4遺伝子変異は先天性難聴の主要な原因であり、マクロファージ制御を標的とした新しいアプローチが有望視される。さらに、m-TOR阻害剤によるマクロファージ活性調節が内耳変性抑制に有効かを検証する重要性が示された。

研究成果の概要(英文)：Research using knockout mice was conducted to elucidate the pathogenic mechanisms caused by SLC26A4 gene mutations. Morphological analyses showed distinct labeling patterns of macrophage markers between wildtype and mutant mice. Three-dimensional analysis further unveiled a distinct polarity in the morphology of activated macrophages. Reanalysis of microarray data identified upregulated molecules in the stria vascularis of mutants. Comprehensive analysis integrating single-cell data elucidated changes in macrophages. These results suggest SLC26A4 deficiency affects macrophage activation and polarity formation, leading to degeneration of the spiral ligament and stria vascularis.

Experiments administering the mTOR inhibitor sirolimus were planned but suspended due to revised animal facility regulations. While this research uncovered part of the mechanism underlying the diverse phenotypes associated with SLC26A4 mutations, further analysis, including the sirolimus experiments, is necessary.

研究分野：耳鼻咽喉科学

キーワード：SLC26A4 前庭水管拡大 ペンドレッド メラニン マクロファージ Mondini IP-11

### 1. 研究開始当初の背景

*SLC26A4* 遺伝子は日本人の遺伝性難聴の原因として頻度が高く、前庭水管拡大を伴う先天性もしくは小児期発症の進行性難聴を呈する例が多いです。難聴は非先天性で、軽度～中等度のこともあり、左右非対称を示す例も多く、その多彩な表現型は遺伝的多様性や環境要因に起因すると考えられていますが、解剖学的な異常や変異のタイプなどについては十分に明らかにされていませんでした。また、申請者は過去の研究で、*Slc26a4* ノックアウトマウスが内耳血管条の過剰色素沈着を示し、聴覚障害が重症化することを報告しました。これに基づき、本研究では血管条内色素沈着とマクロファージの増殖・活性化に注目し、その病態進行の予防法確立を目指しました

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、*SLC26A4* 変異による難聴のモデルマウスを用いて、内耳血管条における色素沈着およびマクロファージの増殖や活性化がどのような病態で引き起こされるのかを明らかにし、これらの変化が薬剤で抑えることが可能かを検討することです。また、本研究の結果は、難聴の変動や進行の予防法や治療法確立につながる可能性があり、さらに老人性難聴に代表される血管条障害に伴う内耳性難聴のメカニズム解明にも貢献すると考えられます

### 3. 研究の方法

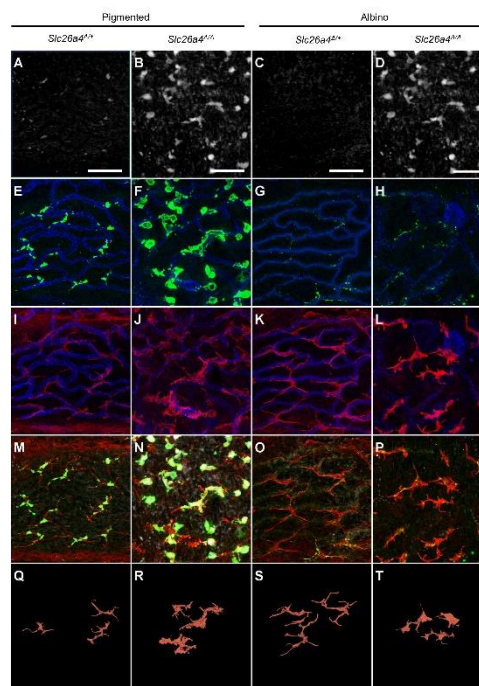
本研究では、黒色系および白色系の *Slc26a4* ノックアウトマウスを用いて、以下の実験を行いました：

- 聴性脳幹反射 (ABR) および内リンパ電位 (EP) の測定
  - マクロファージの標識と免疫染色 (CD68、F4/80、Iba-1 抗体)
  - 血管条内の RNA 発現の解析
  - シロリムス、メトホルミン、およびステロイドの投与による治療効果の検討
- さらに、これらの結果をタンパク質レベルでも確認するため、免疫染色を行いました

### 4. 研究成果

#### (1) 研究の主な成果

本研究において、*Slc26a4* ノックアウトマウスを用いた実験を通じて、内耳血管条における色素沈着がマクロファージの活性化を誘導し、それが聴覚障害の進行に大きく寄与することが明らかになりました。特に、黒色系と白色系のマウスでは、血管条内のマクロファージの形態や機能に顕著な違いが見られ、色素の有無がマクロファージの活性化に影響を与えることが示唆されました。さらに、シロリムスの投与により、血管条のマクロファージ活性化が抑えられる効果が確認されました。この成果は、*SLC26A4* 変異による難聴の予防および治療において新たなアプローチを提供するものです



(2) 得られた成果の国内外における位置づけとインパクト

本研究の成果は、遺伝性難聴のメカニズム解明において重要な知見を提供しました。特に、内耳血管条のマクロファージの役割に注目した点は新規性が高く、これまでの研究では明らかにされていなかった病態進行のメカニズムを解明しました。この知見は、国内外の研究者にとって貴重な情報となり、遺伝性難聴の治療法開発に向けた基盤を築くものとなります。また、血管条障害に伴う内耳性難聴のメカニズム解明にも寄与し、広範な難聴患者の治療においても応用が期待されます

(3) 今後の展望

今後の研究では、得られた知見を基に、より具体的な治療法の開発に取り組む予定です。特に、シロリムスや他の薬剤を用いた治療の効果をさらに詳しく検証し、臨床応用に向けた研究を進めていきます。また、マクロファージの活性化に関与する分子メカニズムの解明を進め、標的となる遺伝子やタンパク質を特定することで、新たな治療戦略を提案することを目指します。さらに、内耳血管条における色素沈着の役割についても、詳細な解析を行い、難聴の発症メカニズムの全体像を明らかにする予定です

(4) 予期しない事象から得られた新たな知見

本研究の過程で、動物飼育施設のレギュレーション改変により、一部の実験が中断を余儀なくされましたが、この間に行った追加実験により、マクロファージの三次元形態解析で新たな極性が見られることが発見されました。この極性は、マクロファージの機能と関連しており、特定の方向性を持つ細胞形状が示唆する新たな生理的役割が明らかになりました。また、マイクロアレイデータおよびシングルセルデータの再解析により、*Slc26a4* 欠損がマクロファージの活性化に与える影響がさらに詳しく解明されました。このような予期しない事象が、新たな視点を提供し、研究の進展に寄与することが確認されました

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Ito Taku, Fujikawa Taro, Honda Keiji, Makabe Ayane, Watanabe Hiroki, Bai Jing, Kawashima Yoshiyuki, Miwa Toru, Griffith Andrew J., Tsutsumi Takeshi	4. 巻 22
2. 論文標題 Cochlear Pathomorphogenesis of Incomplete Partition Type II in Slc26a4-Null Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of the Association for Research in Otolaryngology	6. 最初と最後の頁 681 ~ 691
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10162-021-00812-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Ito Taku, Kurata Natsuko, Fukunaga Yoko	4. 巻 13
2. 論文標題 Tissue-Resident Macrophages in the Stria Vascularis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Neurology	6. 最初と最後の頁 N.A.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fneur.2022.818395	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Nakanishi Hiroshi, Prakash Pragya, Ito Taku, Kim H. Jeffrey, Brewer Carmen C., Harrow Danielle, Roux Isabelle, Hosokawa Seiji, Griffith Andrew J.	4. 巻 11
2. 論文標題 Genetic Hearing Loss Associated With Autoinflammation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Neurology	6. 最初と最後の頁 N.A.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fneur.2020.00141	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Makabe Ayane, Kawashima Yoshiyuki, Sakamaki Yuriko, Maruyama Ayako, Fujikawa Taro, Ito Taku, Kurima Kiyoto, Griffith Andrew J., Tsutsumi Takeshi	4. 巻 21
2. 論文標題 Systemic Fluorescent Gentamicin Enters Neonatal Mouse Hair Cells Predominantly Through Sensory Mechanoelectrical Transduction Channels	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the Association for Research in Otolaryngology	6. 最初と最後の頁 137 ~ 149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10162-020-00746-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔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
---------	---------