

令和 5 年 6 月 11 日現在

機関番号：32651

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2022

課題番号：20K22986

研究課題名（和文）先天性難聴モデルにおけるGER胎生期変性の原因と難聴発症メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of the cause of GER embryonic degeneration and the mechanism of onset of hearing loss in a congenital hearing loss model

研究代表者

高橋 恵里沙（Takahashi, Erisa）

東京慈恵会医科大学・医学部・助教

研究者番号：20875546

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：先天性難聴の原因遺伝子Xのノックアウトマウス内耳において「greater epithelial ridge (GER)の胎生期変性」という新しい表現型を発見した。GERは外界からの音の伝導を司る内毛細胞の生後成熟に不可欠である。先天性難聴の原因遺伝子Xを発現した細胞を蛍光色素GFPで標識した遺伝子組換えノマウスでは、GFP陽性細胞がGERに異常浸潤していることを発見した。GERの胎生期変性では、血管系、有毛細胞、支持細胞や神経細胞マーカーの発現局在の変化を認められなかった。これらの研究成果から「GER胎生期変性が先天性難聴の原因となりうる」と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

難聴は先天性疾患の中でも最も多いものの一つであり、その発症メカニズムの解明は治療戦略において重要である。本研究ではGERの胎生期変性という新しい表現型を発見した。これらの研究成果を基盤にして、近い将来、GER胎生期変性を原因とする先天性難聴に対する治療戦略の確立を目指す。

研究成果の概要（英文）：We found new phenotype which is "degeneration of the fetal greater epithelial ridge (GER)" in the inner ear using model mice of congenital hearing loss. GER is essential for inner hair cell maturation. In the transgenic mice which demonstrate previously expressed cells of the gene X responsible for congenital hearing loss with GFP labelling, we found that GFP-positive cells abnormally infiltrate the GER. In addition, we confirmed that there are no changes of cell markers of stria vascularis, hair cells, supporting cells, and neural cells. These results may suggest that degeneration of the fetal GER cause congenital hearing loss.

研究分野：内耳

キーワード：内耳 GER 難聴

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

新生児聴覚スクリーニングの普及に伴い、難聴は最も高頻度に発見される先天性疾患の一つとなった。

申請者は先天性難聴の原因遺伝子 X をノックアウトしたマウスにおいて、胎生期における大上皮稜 greater epithelial ridge (GER) の発生異常を発見した。GER は聴覚に必須である内有毛細胞の成熟に関与しており、正常聴覚の獲得に重要な役割を演じている。GER については以下のことが近年判明しているなど、注目されつつある。

- (1) 生後の支持細胞/内有毛細胞/聴神経と GER 領域における細胞間分子伝達活動 (Spontaneous activity) は聴覚伝導路の発達に必要である。
- (2) 有毛細胞の前駆細胞として知られている支持細胞よりも GER 細胞の方が細胞分裂能に富み、かつ、有毛細胞に分化できる能力を有している。
- (3) 蝸牛支持細胞の選択的アブレーションにより、GER 領域で顕著な細胞分裂が発生し、これらの増殖細胞から支持細胞が再生する。
- (4) 先天性難聴の原因遺伝子として最も多い Gjb2 (Connexin26) 遺伝子の変異により、GER のアポトーシスが遅延してコルチ器の構造異常が生じる。

2. 研究の目的

先天性難聴の原因遺伝子 X をノックアウトしたマウスにおける GER 胎生期変性のメカニズムを解明する。

3. 研究の方法

先天性難聴の原因遺伝子 X を発現した細胞を蛍光色素 GFP で標識できる遺伝子組換えマウスを用いた。

- (1) GER の胎生期変性を起こしている細胞の挙動の追跡

上記マウスの内耳発生初期(胎生 10.5 日)、後期(胎生 18.5 日)において GFP で標識されている細胞の分布を観察する。

- (2) GER 以外の領域での遺伝子や細胞の局在の検証

i) 上記マウスの内耳発生初期(胎生 10.5 日)を用いて、耳胞領域マーカー (*Pax2*, *Dlx5*, *Otx1*, *Hmx3*) の *in situ* hybridization を行い、発現局在パターンを観察する。

ii) 上記マウスの内耳発生後期(胎生 18.5 日)を用いて、血管系、有毛細胞、支持細胞、神経細胞マーカー (*Dct*, *Kcnq1*, *Myo7a*, *Sox2*, *Tuj1*) の免疫染色を行い、発現局在パターンを可視化する。

4. 研究成果

- (1) 先天性難聴の原因遺伝子 X の変異に伴い、遺伝子 X を発現した細胞が GER に異常浸潤して、GER の胎生期変性が生じていることが明らかになった。
- (2) 先天性難聴の原因遺伝子 X の変異モデルマウスにおいて、内耳発生初期(胎生 10.5 日)での耳胞領域マーカー (*Pax2*, *Dlx5*, *Otx1*, *Hmx3*) の発現局在パターンに変化は

なく、正常であった。加えて、内耳発生後期（胎生 18.5 日）における血管条、有毛細胞、支持細胞、神経細胞マーカー（Dct, Kcnq1, Myo7a, Sox2, Tuj1）の発現は control と比較して変化がなく、正常と考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高橋恵里沙、宇田川友克、小島博己
2. 発表標題 三次元再構築を用いたマウ己スとニワトリの耳胞における遺伝子発現領域の比較
3. 学会等名 第32回日本耳科学会
4. 発表年 2022年

〔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
---------	---------