

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 7 日現在

機関番号： 14501
 研究種目： 基盤研究 (C)
 研究期間： 2010~2012
 課題番号： 22590271
 研究課題名 (和文) 内耳機能 (聴・平衡覚) とその障害における低分子 G 蛋白質および活性酸素種の役割
 研究課題名 (英文) Roles of small GTPases and ROS in functions and diseases of inner ear
 研究代表者
 上山 健彦 (Ueyama Takehiko)
 神戸大学・自然科学系先端融合研究環バイオシグナル研究センター・准教授
 研究者番号： 80346254

研究成果の概要 (和文) :

1. 活性酸素を産生する遺伝子操作マウスを作製し、このマウスが騒音性難聴を呈し、この難聴発症が活性酸素消去剤により改善することを発見した。
2. 難聴を呈するノックアウトマウスの作製に成功した。現在、その難聴の発症分子メカニズム解明中である。

研究成果の概要 (英文) :

1. We engineered a genetically modified mice-line producing ROS, and found that the mice-line was vulnerable to noise exposure. The vulnerability to ROS was inhibited by the scavenger of ROS.
2. We engineered a knockout (KO) mice-line manifesting progressive hearing loss. Now we are extensively analyzing the molecular mechanism of deafness in the KO mice.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・医化学一般

キーワード： small GTPases, ROS, inner ear, hearing, balancing

1. 研究開始当初の背景

聴・平衡覚に関わる先天性疾患や加齢性障害（老人性難聴やメニエル病）で苦しむ人々が驚く程多いにも拘わらず、補聴器や人工内耳など極めて限られた対処法しかないのが現状であり、克服しなければならない研究・治療領域であり、iPS細胞からの有毛細胞の誘導等再生医療の試みも芽生えて来ている。我々は、内耳において低分子G蛋白質やROS産生を制御することにより、それらの聴・平衡覚（発生や機能維持）における役割解明や内耳障害（加齢、騒音、抗癌剤等の薬物、メニエル病など）を最小限に抑えることができるのではないかと考え、研究を行っている。

2. 研究の目的

本研究では、最近注目されている聴覚・平衡覚の感受-シグナル伝達機構に注目し、遺伝子操作マウスを用いて、以下の2点の解明を目標とした。

1. 活性酸素を産生する遺伝子操作マウスを作製し、活性酸素が難聴に関与することを証明すること。更には、難聴（特に老人性難聴）の新規治療薬・法の開発に繋げること

2. ノックアウトマウスを作製し、聴・平衡覚の感受-シグナル伝達機構における低分子G蛋白質の機能を解明すること

3. 研究の方法

1. 活性酸素を産生する遺伝子操作マウスを音響暴露に呈する。このマウスの内耳からのサンプルをDNAマイクロアレイや質量分析法

を用いて、活性酸素が騒音性難聴を引き起こすターゲット分子の同定を行う。

2. 難聴を呈するノックアウトマウスを作製し、その発症分子メカニズムを、内耳器官初代培養、免疫染色、電子顕微鏡を用いて明らかにする。

4. 研究成果

1. 活性酸素を産生する遺伝子操作マウスの作製に成功した。このマウスが音響暴露実験により騒音性難聴を呈し、この難聴の発症が活性酸素消去剤により改善することを発見した。難聴発生の分子メカニズムの解明と並行して、DNAマイクロアレイや質量分析法を用いて、活性酸素が騒音性難聴を引き起こすターゲット分子の同定を進めた。その結果、数種の候補蛋白質の同定に成功し、現在、この蛋白質のか過剰発現やノックアウトにより、内耳道警物質に対する毒性がどう変化するか解析中である。

2. 難聴を呈するノックアウトマウスの作製に成功した。このマウスは、アクチン代謝の障害により内耳聴覚有毛細胞の緩徐進行性脱落を来すことを、内耳器官初代培養、免疫染色、生体蛍光イメージング法、電子顕微鏡や種々の遺伝子操作マウスの併用により解明した。また、ノックアウト内耳有毛細胞のモデル細胞を、MDCK細胞を用いて確立し（MDCK-KD細胞）、この細胞が、種々の難聴病態の解明に大いに役立つことを見出した。これらの結果は、現在、論文投稿準備中である。

5. 主な発表論文等

(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 2 件)

1) Yamashita K, Miyoshi T, Arai Y, Mizugishi K, Takaori-Kondo A, Ueyama T: Enhanced generation of reactive oxygen species by interferon- γ may have contributed to successful treatment of invasive pulmonary aspergillosis in a patient with chronic granulomatous disease.

Int J Hematol, 97(4):505-10, 2013
査読有

2) Bohdanowicz M, Schlam D, Hermansson M, Rizzuti D, Fairn GD, Ueyama T, Somerharju P, Du G, Grinstein S: Phosphatidic acid is required for the constitutive ruffling and macropinocytosis of phagocytes.

Mol Biol Cell, 24, 1700-1712, 2013
査読有

[学会発表] (計 4 件)

1) 佐久間恵, 上山健彦, 浜田猛, 齋藤尚亮
Duox と Duoxa の H₂O₂ 産生に重要な領域の同定

第 86 回日本薬理学会年会、2013 年 3 月 21-23 日、福岡

2) 白藤俊彦, 上山健彦, 吉野健一, 足立直子, 高橋英之, 吾郷由希夫, 松田敏夫, 齋藤尚亮

黒質線条体系における PKC \cdot の基質の解析 : ドパミン遊離における \cdot PIX リン酸化の役割
第 86 回日本薬理学会年会、2013 年 3 月 21-23 日、福岡

3) 上山 健彦

中枢神経損傷と Rho family GTPases (CNS injury and Rho family GTPases)

第 85 回日本薬理学会年会、2012 年 3 月 14-16 日、京都

4) 上山 健彦

部位特異的 KO マウスを用いた低分子量 G タンパク質の組織学的機能解析

日本組織細胞化学学会年会、2011 年 9 月 24-25 日、金沢

5) Takehiko Ueyama

Regulatory mechanisms of Rac activation by RhoGDI

第 84 回日本薬理学会年会、2011 年 3 月 22-24 日、横浜

6) Takehiko Ueyama,

Translocation/dissociation/activation mechanisms of Rac-RhoGDI complex on membranes

2011 International Symposium on Cell Signaling and Gene Regulation, Feb, 19-20, 2011, Tainan, Taiwan

[図書] (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上山 健彦 (Ueyama Takehiko)

神戸大学・自然科学系先端融合研究環バイオシグナル研究センター・准教授

研究者番号 : 80346254

(2) 研究分担者

坂口 博史 (Sakaguchi Hirofumi)
京都府立医科大学・医学(系)研究科(研
究院)・講師

研究者番号 : 00515223

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :