

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 15 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592485

研究課題名(和文)内耳感覚細胞の発生、分化と再生機構の解明

研究課題名(英文)The study of mechanism in the development, differentiation and regeneration of inner ear sensory cells

研究代表者

董 有毅(DONG, YOUYI)

香川大学・医学部・助教

研究者番号：90457341

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では蝸牛側壁のmarginal cells (MCs) やroot cells (RCs)やspiral ligament fibrocytes (SLFs) の分化中にPTENの発現が認められた。成熟の蝸牛において、PTEN表現はMCsとSLFs中にnegativeになり、しかし、RCs には高い表現があり。このPTENの表現のpatternは、蝸牛のlateral wallの分化中に重要な役割を演ずることを示唆します。

研究成果の概要(英文)：In this study we found that PTEN can be expressed in the differentiating marginal cells (MCs), root cells (RCs) and spiral ligament fibrocytes (SLFs). In the mature cochlea, PTEN lost its expression in MC and SLFs but it remains high expression in RCs. The expression pattern for PTEN suggests that it plays a critical role in the differentiation of the lateral wall.

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：内耳 発生学

1. 研究開始当初の背景

内耳は聴覚と平衡感覚を受容する感覚器官であり、その形態は英語で“labyrinth(迷宮)”と表現される複雑なものである。しかしその発生は意外にも、外胚葉が肥厚してできた単純な構造の耳プラコードから始まる。発生が進むに従って、耳プラコードの中央部が陥凹して嚢胞状となり、前後・背腹・内側外側の領域化が生じ、局所の突出やくびれが出現し、形態形成が成熟していく。この過程では様々な遺伝子群の発現が見られるが、複雑な形態形成が正確に行われるためには、これらの遺伝子の発現の時間的空間的な制御が重要であると考えられる。内耳の前駆細胞が増殖サイクルから外れる時に細胞周期関連蛋白質である p27^{Kip1} の発現が上昇していることが報告され注目された。PTEN (Phosphatase and tensin homolog) は p27^{Kip1} の upstream regulator であり、内耳の発生中に有毛細胞の増殖と不動毛の分化を調節することを報告した。内耳の発生に関しては、いくつもの遺伝子が内耳の発生に関わっていることが明らかになっているとはいえほとんど未解決であり、それらの相互作用などを含めて特にホットな研究領域になっている。

2. 研究の目的

耳は、動物の器官の1つで、音を適刺激とする感覚器であると同時に、重力の向きと加速度を適刺激とする感覚器でもある。音刺激を電気信号に変換する役割を果たす蝸牛有毛細胞は自発的に再生する能力を持たず、有毛細胞のダメージによる難聴は非可逆的で、残念ながら一度失われた聴力は改善しません。そのため、内耳性難聴にはかねてから再生医療が待ち望まれていました。本研究では内耳の発生から再生までのメカニズムを調べて、さらに実際の再生医療への応用を目指している。

3. 研究の方法

マウスの発達・分化段階各ステージの内耳凍結切片や Whole mount staining や Western blot や RT-PCR などを用いて、特異的な抗体を用いた免疫蛍光染色により、これら機能蛋白質の発現時期や発現場所の解析を行うことで、機能的関連がある可能性を明らかにする。

4. 研究成果

我々の研究は、マウス内耳の有毛細胞と感覚神経の分化が開始する内耳有毛細胞において、PTEN が特異的かつ急激に発現が始まり、分化の終了した有毛細胞では完全に消失していることを発見した。PTEN が有毛細胞の分化のシグナルに関わる重要な蛋白質であることを報告した。この研究では、cochlear lateral wall の marginal cells (Figure 1.a-f) や root cells (Figure 2. a-c) や spiral ligament fibrocytes (Figure 2. d-f) の分化中に PTEN の発現が認められた。内耳成熟したあと、root cells が PTEN の発現は positive になる。この結果は 2014 年に Neuroscience に論文として発表しました (Dong *et al.*, Neuroscience, 2014)。また spiral limbus の fibrocytes と interdental cells の分化中に PTEN の発現も認められた (論文作成中です)。これらの結果から、PTEN シグナルは Cochlear marginal cells と fibrocytes の再生のターゲットになる可能性が示唆された。

Figure 1.

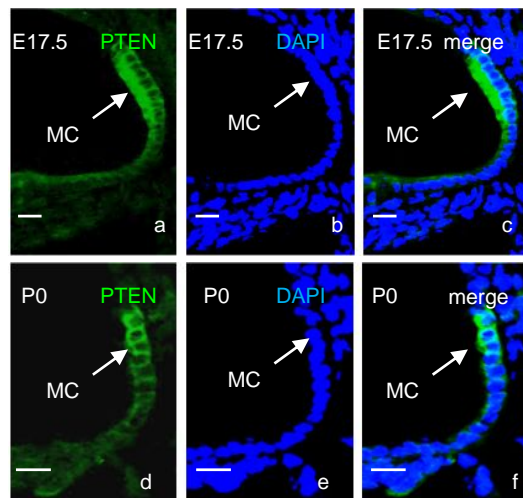
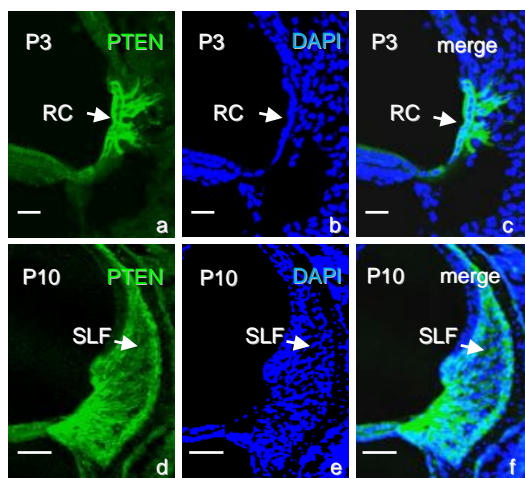


Figure 2.



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1件)

Dong Y, Sui L, Yamaguchi F, Kamitori K, Hirata Y, Hossain MA, Noguchi C, Katagi A, Nishio M, Suzuki A, X Lou, Tokuda M. The expression of PTEN in the development of mouse cochlear lateral wall. Neuroscience. (2014). 258:263-9

[学会発表](計4件)

1. Dong Y, Sui L, Yamaguchi F, Kamitori K, Hirata Y, Hossain MA, Noguchi C, Katagi

M, Nishio M, Suzuki A, Tokuda M. The role of PTEN in the development of the interdental cells in mouse postnatal cochlea. 86th Biochemical conference of Japan, Yokohama. 2013, 9.

2. Dong Y, Sui L, Yamaguchi F, Kamitori K, Hirata Y, Suzuki A, Tokuda M. PTEN regulates hair cell proliferation, differentiation and innervation in the mammalian inner ear. The 37th Congress of the International Union of Physiological Sciences. UK. Birmingham. 2013, 7.

3. Dong Y, Sui L, Yamaguchi F, Kamitori K, Hirata Y, Suzuki A, Tokuda M. Role of PTEN in the development of inner ear. The 90th Congress of Physiological Sciences. Tokyo, 2013, 3.

4. Dong Y, Sui L, Yamaguchi F, Kamitori K, Hirata Y, Suzuki A, Tokuda M. Expression of PTEN in the development of inner ear. The 89th Congress of Physiological Sciences. Japan, Matsumoto, 2013, 3.

[図書](計0件)

[産業財産権]
出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

董 有毅 (Youyi Dong)

研究者番号：

90457341

(2) 研究分担者

徳田 雅明 (Masaaki Toukuda)

香川大学. 医学部. 教授

研究者番号：10163974

山口 文徳 (Fuminori Yamaguchi)

香川大学. 医学部. 准教授

研究者番号：40271085

神鳥 和代 (Kazuyo kamitori)

研究者番号：40457338

(3) 連携研究者

()

研究者番号：