

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462630

研究課題名(和文) ヒトと実験動物におけるPMP22遺伝子の難聴発症に關与する分子機構の解明

研究課題名(英文) Investigation for the mechanism of human and animal cochlea dysfunction of PMP22 gene

研究代表者

高橋 正時 (TAKAHASHI, MASATOKI)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80401355

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：Charcot-Marie-Tooth病には感音難聴をきたすことがあり、その原因は蝸牛障害によるものとされているが、原因は特定されていない。我々はCharcot-Marie-Tooth病の感音難聴を来す分子機構の解明のため、PMP22遺伝子の内耳への発現と蝸牛障害の關与を調査した。マウスを用いた実験動物モデルでは共焦点レーザー顕微鏡と凍結切片を用い蝸牛内免疫染色を施行し、外有毛細胞に近接した部分に強い染色を確認することができた。しかしながら局在を特定するには至らなかった。今後データのさらなる解析が必要である。また、ヒト側頭骨内でのPMP22遺伝子の蝸牛内の発現に関してデータ解析中である。

研究成果の概要(英文)：Charcot-Marie-Tooth disease causes the sensorineural hearing loss regarded as cochlea dysfunction. We investigated the isolation and molecular mechanism of the PMP gene in the inner ear and cochlear dysfunction in order to figure out the mechanism of the sensorineural hearing loss for Charcot-Marie-Tooth disease. The portion close to the outer hair cells of the animal models demonstrated intense immunohistochemical reaction by the anti-pmp antibody using confocal laser scanning microscopy and frozen section. However, we could not identify the specification of localization in the organ of Corti and the cause of hearing loss. We need to accumulate the data for analysis. We are also analyzing the data about the localization of pmp22 protein in the human cochlea.

研究分野：耳科学

キーワード：内耳

## 1. 研究開始当初の背景

我々は *PMP22* 変異を有する患者の CMT 1A 症例が感音難聴を示したことより、精密聴覚機能評価を施行した。結果として蝸牛障害を示唆する所見が得られた。*PMP22* 変異による臨床例が蝸牛神経障害のみならず蝸牛障害を示すことを経験し、*PMP22* の蝸牛内の局在と難聴発症の分子機構に関する本研究の着想に至った。

## 2. 研究の目的

*PMP22* 変異が内耳性難聴の発症にどのように関与しているかを確認するために *PMP22* の内耳内での発現、局在を動物実験モデルにて確認し、*pmp22* の蝸牛神経および蝸牛における局在と機能を検討した。またヒト側頭骨を用いてヒト内耳内の発現を調査した。

## 3. 研究の方法

*PMP22* が蝸牛内に発現することを確認するため、wild type mouse による共焦点レーザー顕微鏡を用い蝸牛内免疫染色を施行する。また、Charcot-Marie-Tooth 病 1 型の動物実験モデルである *Trembler-J* mouse (*TrJ*) を用いてコントロールマウスとの免疫染色の比較によって局在を確認することで、*pmp22* の詳細な局在を同定し、同時に *pmp22* 欠損マウスの誘発電位および歪成分耳音響放射を経時的に計測する。ヒト内耳内の発現を調査するためにヒト側頭骨標本を作成し、切片を用いて *PMP22* の蝸牛内の免疫染色を施行した。

## 4. 研究成果

実験動物モデルでは共焦点レーザー顕微鏡を用い蝸牛内免疫染色を施行し、外有毛細

胞に近接した部分に強い染色を確認したが、局在の特定には至らなかった。また、誘発電位および歪成分耳音響放射を用いた聴覚障害の発症機序に関する十分な数のデータが収集できなかった。今後今までのデータと現在解析中のデータを合わせる予定である。ヒト側頭骨標本切片を用いた実験では標本数が少なく、現時点では同定に至っておらず、標本の完成を待って再度調査する予定である。

## 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 7 件)

(1) Noguchi Y, Takahashi M, Ito T, Fujikawa T, Kawashima Y, Kitamura K. Delayed restoration of maximum speech discrimination scores in patients with idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Auris Nasus Larynx*.43:495-500,2016  
査読(有)

(2) Kawashima Y, Noguchi Y, Takase H, Takahashi M, Horie S. Bilateral hearing impairment as the initial symptom of sympathetic ophthalmia. *Am J Otolaryngol*.36:606-10,2015  
査読(有)

(3) Honda K, Noguchi Y, Kawashima Y, Takahashi M, Nishio A, Kitamura K. Ex vivo visualization of the mouse otoconial layer compared with micro-computed tomography. *Otol Neurotol*. 36:311-7,2015  
査読(有)

(4) 川島 慶之, 野口 佳裕, 伊藤 卓, 水島 豪太, 高橋 正時, 喜多村 健, 堤 剛. 耳症状を主訴に受診した ANCA 関連血管炎 20 例の臨床像 全身型による比較検討. 日本耳鼻咽喉科学会会報 119 巻:110-117, 2015

査読 (有)

(5) 澤田 光毅, 野口 佳裕, 山本 桂, 高橋 正時, 吉本 亮一, 喜多村 健. 補聴器適合検査の指針(2010)を用いた補聴器適合評価 Audiology Japan 58 巻:189-197, 2015

査読 (有)

(6) 野口 佳裕, 初山 直子, 高橋 正時, 喜多村 健. 軽度難聴の急性感音難聴症例の検討. Audiology Japan 57 巻:63-70, 2014

査読 (有)

(7) 初山 直子, 高橋 正時, 野口 佳裕, 喜多村 健. 熱湯による外傷性鼓膜穿孔例. 耳鼻咽喉科臨床 106 巻:1077-1082, 2013

査読 (有)

〔学会発表〕(計 3 件)

(1) 川島 慶之, 高橋 正時, 水島 豪太, 堤 剛肥厚性硬膜炎の 2 例 耳症状を主訴に当科を受診した多発血管炎性肉芽腫症の画像所見. 第 25 回日本耳科学会 2015 年 10 月 長崎ブリックホール (長崎県、長崎市)

(2) 川島 慶之, 野口 佳裕, 高橋 正時, 伊藤 卓, 喜多村 健. 耳症状を主訴に当科を受診した ANCA 関連血管炎 20 例の臨床像 全身型による比較検討. 第 116 回日本耳鼻咽喉科学会 2015 年 5 月 東京国際フォー

ラム (東京都 千代田区)

(3) 渡邊 浩基, 野口 佳裕, 伊藤 卓, 高橋 正時, 小池 竜司, 窪田 哲朗 Muckle-Wells 症候群における聴平衡覚障害の検討第 59 回日本聴覚医学会 2014 年 11 月 海峡メッセ下関 (山口県 下関市)

〔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 高橋正時

( TAKAHASHI, MASATOKI )

東京医科歯科大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80401355

(2)研究分担者 喜多村 健

( KITAMURA, KEN )

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究  
科・特任教授

研究者番号：90010470

(3)連携研究者

( )

研究者番号：