

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K09377

研究課題名(和文) 恒常性破綻による蝸牛有毛細胞障害メカニズムの解明

研究課題名(英文) Mechanism of cochlear hair cell damage due to homeostatic disruption

研究代表者

勝野 達也 (Katsuno, Tatsuya)

京都大学・医学研究科・研究員

研究者番号：90527665

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：難聴の主要な原因の1つである内耳有毛細胞の変性メカニズムを解明するため、内耳の恒常性に着目し、内耳に存在するコンパートメントの維持に必要な細胞骨格と細胞接着に関与する構造タンパク質の遺伝子改変マウスの解析を進めた。その1つ、細胞骨格系に関わるタンパク質、TRIOBPの欠損によって、有毛細胞の存在する感覚毛の「根(rootlet)」の形状に異常を引き起こし難聴となることが分かった。また、この遺伝子改変マウスの解析から、これまで一様な構造と考えられていたrootletに性質の異なるdomainが存在することを明らかとなり、細胞内微細構造と聴覚機能の関係について更なる知見を得ることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、難聴の表現型を示す、内部環境の維持に必要な細胞骨格や細胞接着関連分子の変異マウスを解析し、細胞内微細構造と聴覚機能の関係について更なる知見を得ることができた。生体では内耳は骨の中に囲まれている上に、内部環境が厳密にコントロールされているため、その内部環境を壊さず、何か起きているかを調べる事は難しいが、本研究の結果は、ヒト難聴のメカニズムの一端を明らかにしており、難聴治療につながる内耳研究の知識基盤の形成に貢献するものである。

研究成果の概要(英文)：To elucidate the mechanism of degeneration of inner ear hair cells, one of the major causes of hearing loss, we focused on inner ear homeostasis. We analyzed genetically engineered mice for structural proteins involved in the cytoskeleton and cell adhesion, which are necessary for maintaining the compartments in the inner ear. One of these proteins, TRIOBP, is involved in the cytoskeletal system. Its deletion causes abnormalities in the shape of the "rootlet" of stereocilia in the hair cells, resulting in deafness. The analysis of these transgenic mice revealed that the rootlet, which had been thought to have a uniform structure, has different domains, providing further insight into the relationship between intracellular microstructure and auditory function.

研究分野：細胞生物学

キーワード：内耳 有毛細胞 難聴 細胞内微細構造

1. 研究開始当初の背景

外界からの音刺激は内耳有毛細胞で電気的な信号に変換され聴神経に伝達される。その有毛細胞の不可逆的な変性は聴覚に致命的な影響を及ぼす。有毛細胞は、アミノグリコシド系耳毒性薬物や音響暴露に伴う酸化ストレス、蝸牛内液体ホメオスタシスの異常等で容易に変性 (= 細胞死) してしまう。ほ乳類においては、一度変性した有毛細胞は基本的には再生しない。難聴の治療が困難な理由の大きな要因として、この有毛細胞の、すぐ死ぬ、再生しない、という性質があげられる。変性・脱落した有毛細胞の再生を目指して、有毛細胞様細胞の移植や、周辺細胞の有毛細胞への分化誘導等、様々な試みがなされているが、その臨床応用実現には至っておらず、まずは有毛細胞の変性そのものを防ぐことが急務であった。

2. 研究の目的

本研究では、遺伝子改変マウスの有毛細胞の変性過程を詳細に解析することで変性抑制のための手がかりを探り、細胞骨格と細胞接着治療への応用を目指した難聴の予防・治療に関連する知見を蓄積することを目的とした。

3. 研究の方法

有毛細胞の変性を引き起こし難聴の表現型を示す、細胞骨格や細胞接着分子の遺伝子改変マウスを作製し、それらを機能、形態、遺伝子発現など、総合的に解析することで、有毛細胞変性のメカニズムの解明を行った。使用した遺伝子改変マウスは有毛細胞変性の時期がほぼ特定されており、変性の過程を追いやすいという利点があり、変性過程の詳細を解析した。

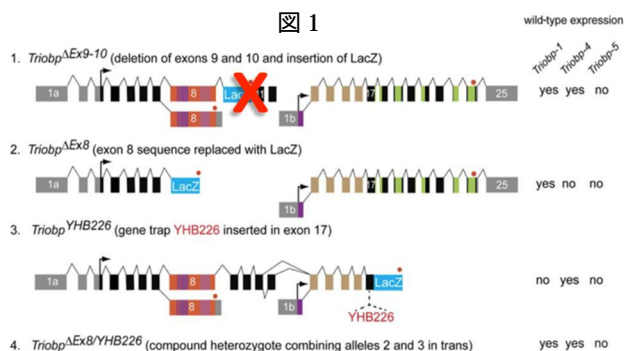
4. 研究成果

(1) タイトジャンクション関連分子ロックアウトマウスの聴力を経時的に測定し、生後9~14日の間に有毛細胞変性を伴う重度の難聴を呈することを確認した。

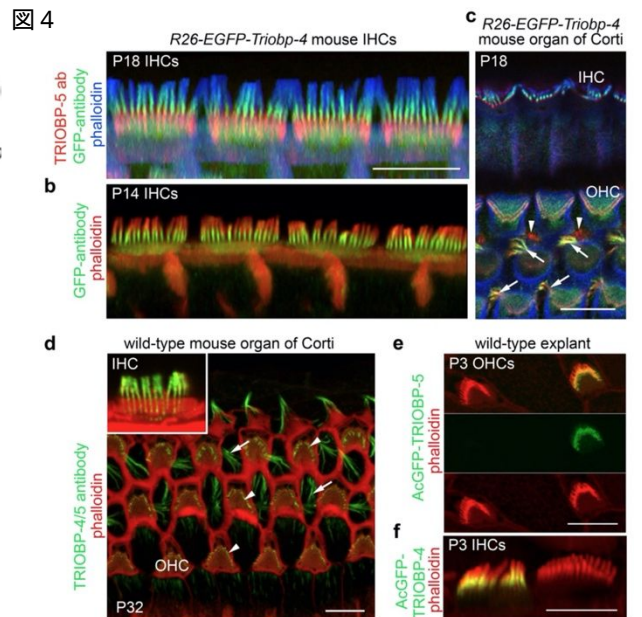
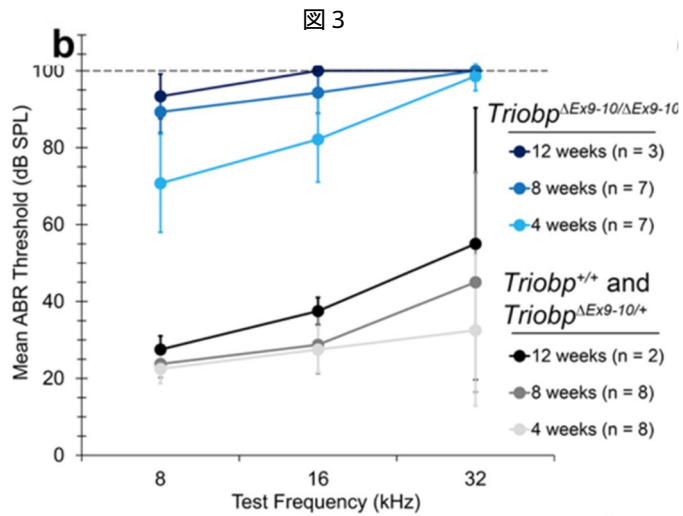
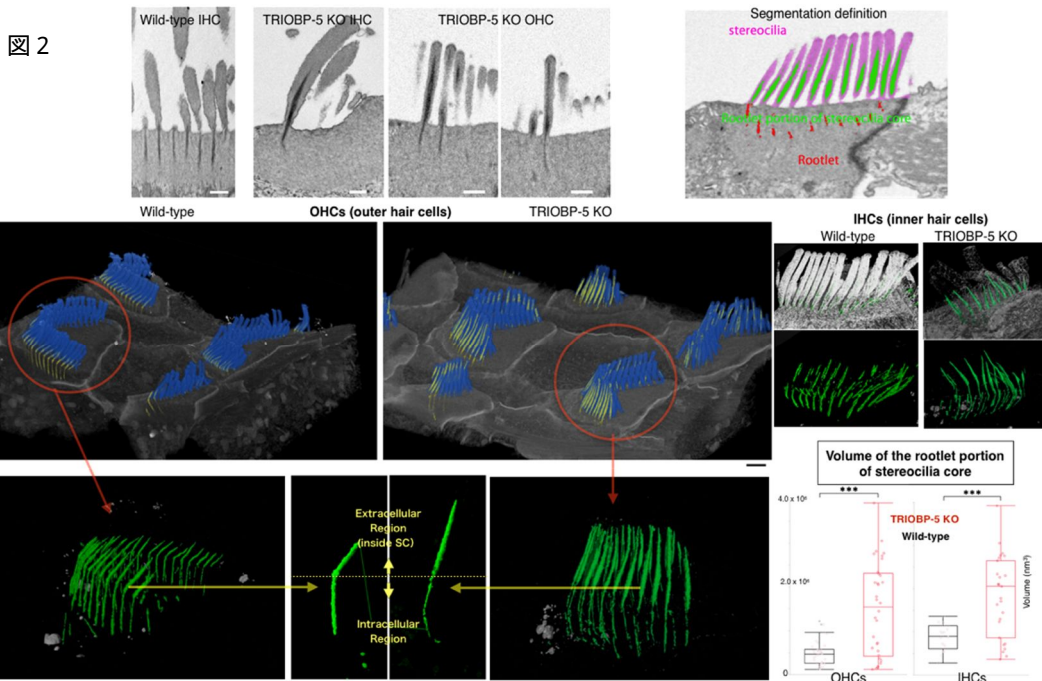
(2) 細胞骨格系に関わるタンパク質

(Triobp)のアイソフォーム特異的な変異マウスを作製し解析を行った。(図1)

その結果、TRIOBP-5が、感覚毛細根の適正なサイズと形状の確立と、聴覚上皮の支持細胞を硬化させるのに不可欠であることを明らかにした。



FIB-SEMを用いた有毛細胞の電子顕微鏡像の3D解析等の結果、マウスにおけるTRIOBP-5の喪失は、有毛細胞上部のクチクラ板内の部分において異常に細く、感覚毛内の部分では幅および長さが増加しているという異形性の細根をもたらし、ヒト難聴の表現型を再現する進行性の難聴を引き起こすことが明らかになった。(図2,3)



また、TRIOBP遺伝子のコードするタンパク質がアイソフォーム毎にrootletの異なる部分に局在し、これまで一様な構造と考えられていたrootletに性質の異なるdomainが存在することが明らかになった。(図4)

以上の結果から、有毛細胞内の、細胞内微細構造が聴覚機能に直接影響を与えていることを証明した。

<引用文献>

Tatsuya Katsuno et. al., TRIOBP-5 sculpts stereocilia rootlets and stiffens supporting cells enabling hearing. JCI Insight. 2019 Jun 20;4(12)

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Katsuno Tatsuya, Belyantseva Inna A., Cartagena-Rivera Alexander X., Ohta Keisuke, Crump Shawn M., Omori Koichi, Ito Juichi, Frolenkov Gregory I., Friedman Thomas B., Kitajiri Shin-ichiro	4. 巻 4
2. 論文標題 TRIOBP-5 sculpts stereocilia rootlets and stiffens supporting cells enabling hearing	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 1-21
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1172/jci.insight.128561	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

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 勝野 達也
2. 発表標題 アクチン束化タンパク質TRIOBP-5は聴覚に関わる有毛細胞の根の形成と維持に必須である
3. 学会等名 第72回日本細胞生物学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tatsuya Katsuno, Inna A. Belyantseva, Koichi Omori, Juichi Ito, Gregory I. Frolenkov, Thomas B. Friedman, Shin-ichiro Kitajiri
2. 発表標題 内耳有毛細胞の感覚毛の根の形成および聴覚における アクチン束化タンパク質TRIOBPの役割
3. 学会等名 日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tatsuya Katsuno
2. 発表標題 Different compositions of TRIOBP isoforms on the stereocilia rootlets: one continuously uniform actin cytoskeleton structure
3. 学会等名 第70回日本細胞生物学会
4. 発表年 2018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
研究 分担者	北尻 真一郎 (Kitajiri Shin-ichiro) (00532970)	信州大学・学術研究院医学系(医学部附属病院)・講師 (13601)	
研究 分担者	山本 典生 (Yamamoto Norio) (70378644)	京都大学・医学研究科・准教授 (14301)	

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
---------	---------