

研究種目：基盤研究 (B)  
研究期間：2007～2010  
課題番号：19390438  
研究課題名 (和文) 内耳有毛細胞に存在する新規機械電気変換イオンチャネルの単離と機能解析  
研究課題名 (英文) Isolation and functional expression of novel putative mechano-electrical transduction channels in cochlear hair cells  
研究代表者  
鵜川 眞也 (UGAWA SHINYA)  
名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号：20326135

研究代表者の専門分野：神経科学  
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：聴覚、機械刺激電気変換チャネル、有毛細胞

#### 1. 研究計画の概要

鼓膜の振動に由来する機械刺激を有毛細胞感覚毛において電気信号に変換する機械刺激電気変換チャネル分子 (聴覚受容体) を単離・同定する。マウス有毛細胞で惹起される機械刺激電流はアミロライドで抑制されることが証明されているので、有毛細胞に発現するアミロライド感受性のチャネル分子を探す。

#### 2. 研究の進捗状況

聴覚受容体候補遺伝子としてアミロライド感受性チャネルの一つである酸感受性イオンチャネル ASIC1b を同定した。ノックアウトマウスを作製し、その聴力を調べたところ、中等度の難聴所見が得られた。ASIC1b が機械刺激受容に関与していることを証明するために、パッチクランプ法を用いて有毛細胞の機械刺激電流 (MET 電流) を測定したところ、ノックアウトマウス有毛細胞の MET 電流は野生型のものに比べ大幅に減少していた。さらに、MET 電流の惹起に ASIC1b がどの程度貢献しているのかを評価するため、野生型マウス有毛細胞の MET 電流を ASIC1b の特異的阻害剤であるフサン FUT 存在下で記録したところ、約 30% の電流値減少が観察された。このことは、MET 電流の発生に少なくとも ASIC1b が寄与しているという我々の仮説を強く支持するものであり、同時に他の遺伝子も機械刺激受容に関与していることを意味している。そこで、作製したマウス蝸牛 cDNA ライブラリーを用いて新規聴覚受容体候補遺伝子のスクリーニングを開始した。

#### 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

当初の計画通り、ASIC1b が正常な聴覚受容に必須の遺伝子であることがわかった。ノックアウトマウスにおいて機械刺激電流 (MET 電流) がその程度減少しているのか、正確な数値を出すためには更に解析を続ける必要がある。MET 電流の測定は技術的に極めて困難なものであり、世界的にも測定できる施設は2, 3箇所しか存在しない。我々の教室でも MET 電流を測定すべくセットアップを行っている最中であるが、まだまだ改善すべき点も多い。ASIC1b 遺伝子が聴覚受容に必須の遺伝子であるとして論文にすることもできるが、もう少し詳細な有毛細胞に関するデータを揃えてから報告したいと考えている。感覚毛に発現する遺伝子を欠損させると有毛細胞自体が死滅する 경우가多く、この場合、難聴になるのは当然である。ASIC1b 欠損マウスの場合、有毛細胞の変性は生じないので、機能的に難聴が生じていることになり、聴覚研究史上、極めて特殊な結果である。

#### 4. 今後の研究の推進方策

ノックアウトマウスと野生型マウスの機械刺激受容の違い (機械刺激電流の大きさの違い) を有意差がつくまで測定を繰り返す。また、ASIC1b 以外の聴覚受容体遺伝子も存在すると考えられるので、作製したマウス蝸牛 cDNA ライブラリーを用いて新規聴覚受容体候補遺伝子のスクリーニングを行う。聴覚受容体の特性に関する知見が文献的にも極めて少ないので、遺伝子単離の手がかり

となるような情報を獲得すべく、有毛細胞の生理学的・薬理的解析を並行させる。

5. 代表的な研究成果

(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4件)

- ① Reelin-disabled-1 signaling in the mature rat cochlear nucleus. Inagaki A, Ugawa S, Safwat MM, Keceli S, Shimada S, Motohiko S, Murakami S. Acta Otolaryngol Suppl. 2009 Jun;(562):7-11. 査読有り.
- ② The CaV3.1 T-type Ca<sup>2+</sup> channel contributes to voltage-dependent calcium currents in rat outer hair cells. Inagaki A, Ugawa S, Yamamura H, Murakami S, Shimada S. Brain Res. 2008 Mar 27;1201:68-77. 査読有り.
- ③ Hypotonic stimuli enhance proton-gated currents of acid-sensing ion channel-1b. Ugawa S, Ishida Y, Ueda T, Yu Y, Shimada S. Biochem Biophys Res Commun. 2008 Mar 14;367(3):530-4. 査読有り.
- ④ Nafamostat mesilate reversibly blocks acid-sensing ion channel currents. Ugawa S, Ishida Y, Ueda T, Inoue K, Nagao M, Shimada S. Biochem Biophys Res Commun. 2007 Nov 9;363(1):203-8. 査読有り.

[学会発表] (計3件)

- ① 鶴川真也. 蝸牛有毛細胞に存在する機械刺激電気変換イオンチャネル候補遺伝子の同定. 第115回日本解剖学会総会. 2010年3月(盛岡).
- ② 鶴川真也. 内耳蝸牛有毛細胞に存在する機械電気変換イオンチャネル候補遺伝子の同定. 自然科学研究機構生理学研究所「バイオ分子センサー連携研究プロジェクト」レクチャーコース. 2008年11月(岡崎).
- ③ 鶴川真也, 石田雄介, 植田高史, 山田貴博, 梶田健二, 佐久間英輔, 島田昌一. 内耳蝸牛に発現する酸感受性イオンチャネルASIC1bの聴力における役割. 第68回日本解剖学会中部支部会. 2008年10月(名古屋).

[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]