

令和 5 年 5 月 19 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09864

研究課題名(和文) PAX2ヘテロ遺伝子異常から読み解く内耳発生機構

研究課題名(英文) Mechanism of inner ear development revealed from PAX2 heterozygous gene abnormality

研究代表者

杉本 寿史 (Sugimoto, Hisashi)

金沢大学・医学系・准教授

研究者番号：20547179

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究はPAX2ヘテロ遺伝子異常を持った生体が、どのような聴覚器異常を呈するのかを機能および形態の両面から解析するものである。当院の腎コロボーマ症候群の患者について確認したところ、7例中3例において比較的若年であるにもかかわらず高音域の感音難聴を示した。そしてその3例ともPAX2のヘテロ遺伝子異常を有していた。これらの結果からPAXヘテロ遺伝子異常が高音域の感音難聴を引き起こす可能性のあることを明らかとした。しかし蝸牛の形態異常およびコルチ器の組織学的解析の両面から行う難聴の原因解明、耳毒性薬物を用いた内耳脆弱性の検証においては有意差を見いだせなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PAX2は眼、中枢神経および尿生殖器(腎、尿管、性器)の発生過程に関与し、その異常は同部位の形態・機能異常の原因となることが知られている。聴覚器の発生にかかわる遺伝子をも制御するため、その異常により感音難聴などの感覚器の先天異常を引き起こす。今回の研究はPAX2のヘテロ遺伝子異常により発症する腎コロボーマ症候群患者の内耳生理機能と形態異常を分析し、同時にPAX2ヘテロノックアウトマウスの聴覚器異常およびその脆弱性について解析したはじめての試みである。

研究成果の概要(英文)：We checked the patients with renal coloboma syndrome in our hospital, 3 out of 7 patients showed sensorineural hearing loss in the high frequency range despite being relatively young. And all three cases had a heterogeneous mutation of PAX2. From these results, it was clarified that the PAX heterogeneous gene abnormality may cause sensorineural hearing loss in the high frequency range. However, no significant difference was found in the elucidation of the cause of hearing loss from both cochlear malformation and histological analysis of the organ of Corti, and in the verification of inner ear vulnerability using ototoxic drugs.

研究分野：耳科学

キーワード：PAX2

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

PAX2 ヘテロ遺伝子異常を持った生体が、生下後どのような聴覚器異常を呈するのかを機能および形態の両面から解析し、同時にその脆弱性を分析することで聴覚器における PAX2 の役割を解明する研究である。

2. 研究の目的

PAX2 のヘテロ遺伝子異常により発症する腎コロボーマ症候群患者の内耳生理機能と形態異常を分析し、同時に PAX2 ヘテロノックアウトマウスの聴覚器異常およびその脆弱性について解析すること。

3. 研究の方法

第一段階：腎コロボーマ症候群の患者 7 名の聴力データを解析した。聴力は標準純音聴力検査にて測定する。さらに歪成分耳音響放射 (distortion product otoacoustic emission: DPOAE)、チンパノメトリー、耳小骨筋反射、を合わせて行うことで難聴のパターンを解析する。

第二段階：PAX2 および Kif26b ヘテロノックアウトマウスの難聴パターンを小動物用 ABR にて解析する。生後 1~6 ヶ月、7~9 ヶ月、10~15 ヶ月の 3 群に分類し、加齢による変化が存在するかどうか解析する。マウスとヒトの聴力障害パターンが一致するか確認した。B/6 系統の野生型マウス、および同系統の PAX2 および KIF26b ヘテロノックアウトマウスを用いる。各群のマウスに対し、各タイムポイント(生後~5 ヶ月、6 ヶ月~9 ヶ月、10 ヶ月~の 3 群)において聴性脳幹反応 (ABR) で聴覚閾値を測定する。関電極として刺激側の外耳付近の頭部皮下、不関電極として対極側の外耳付近の頭部皮下、アース電極として頸部皮下にそれぞれ針電極を装着し、それぞれの針電極をバイオアンプ (Model : ER-1 Cygnus Technologies Inc.) に誘導して音刺激により誘発される ABR を記録する。音刺激は、Coupler type speaker (Model : ES1spc, パイオリサーチセンター株式会社) の音出力パイプを片側外耳道に挿入して TDT 音響システム (ZBus for system3, Tucker-Davis Technologies Inc.) より与える (音刺激条件: 10~100dB, 周波数: 1, 4, 8, 16, 20 および 32kHz の Tone burst), 250 回 加算することで得られた波形を基準に、徐々に音圧を上げて ABR 閾値として測定する。以上の手法により、野生型マウスと PAX2 および Kif26b ヘテロノックアウトマウスの聴力パターンの違いについて解析する。

第三段階：腎コロボーマ患者、PAX2 および KIF26b ヘテロノックアウトマウスの内耳形態異常を CT スキャンにて解析を試みる。また、ノックアウトマウスのコルチ器を組織学的手法にて解析を試みた。まずヘテロノックアウトマウスの生後の内耳形態の観察を小動物用 CT スキャン (Aloka Latheta LCT-200, Hitachi, Japan) にて撮像したのち、3D 再構築ソフト (ZIO station with TXA version 2.4.3.3) にて再構築して正常内耳形態と比較検討する。

第四段階： PAX2 および KIF26b ヘテロノックアウトマウスに対して耳毒性のある薬物を投与することで、内耳脆弱性の検証を生理機能および組織学の両面から試みる。PAX2 および KIF26b ヘテロノックアウトマウスを用いて、聴覚毒性薬物である Furosemide (FR, Sigma-Aldrich) および cis-Diammineplatinum (II) dichloride (Cisplatin, CS, Sigma-Aldrich) を反復投与して、ABR と組織学的検査で聴覚への影響の確認を試みる。具体的には、3 ヶ月齢の PAX2 および KIF26b ヘテロノックアウトマウス雌雄各 6 匹ずつおよび wild type のマウス雌雄各 6 匹を用いて、SIL 20 mg/kg を 1 日 1 回、14 日間強制経口投与後、40 mg/kg に増量し、さらに 14 日間投与する。その後聴性脳幹反応 (ABR) で聴覚閾値を測定する。さらに上述した組織化学的評価にて外有毛細胞の定量をおこない、ノックアウトマウスと wild type のマウスの聴覚への影響の比較検討を試みる。

4 . 研究成果

当院の腎コロボーマ症候群の患者について確認したところ、7 例中 3 例において比較的若年であるにもかかわらず高音域の感音難聴を示した。そしてその 3 例とも PAX2 のヘテロ遺伝子異常を有していた。これらの結果から PAX ヘテロ遺伝子異常が高音域の感音難聴を引き起こす可能性のあることを明らかとした。しかし蝸牛の形態異常およびコルチ器の組織学的解析の両面から行う難聴の原因 解明、耳毒性薬物を用いた内耳脆弱性の検証においては有意差がみられなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 杉本寿史	4. 巻 130
2. 論文標題 人工聴覚器の医療最前線	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 金沢大学十全医学会雑誌	6. 最初と最後の頁 112 - 117
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 杉本寿史	4. 巻 31
2. 論文標題 当科における好酸球性中耳炎聾症例に対する人工内耳植え込み術	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 OTOLOGY JAPAN	6. 最初と最後の頁 334-341
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 杉本寿史	4. 巻 42
2. 論文標題 「いしかわ赤ちゃんきこえの相談支援センター（みみずくクラブ）」に対するアンケート調査	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 小児耳鼻咽喉科	6. 最初と最後の頁 320-325
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sugimoto H, Hatano M, Yoshizaki T	4. 巻 46
2. 論文標題 In scalp incision for cochlear implantation.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Otolaryngology	6. 最初と最後の頁 101-105
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/coa.13630.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 杉本寿史、波多野都、吉崎智一	4. 巻 123巻9号
2. 論文標題 局所進行扁平上皮癌に対する動注化学療法併用放射線治療	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本耳鼻咽喉科学会会報	6. 最初と最後の頁 1168 - 1174
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 杉本寿史
2. 発表標題 当科における補聴器診療
3. 学会等名 日耳鼻石川県地方部会第36回学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杉本寿史
2. 発表標題 先天性卵円窓欠損症に対しTEES にて内耳開窓術を行った 1 例
3. 学会等名 第122回日本耳鼻咽喉科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杉本寿史
2. 発表標題 外耳道腫瘍の生検にて診断に至った多臓器型ランゲルハンス組織球症の2例
3. 学会等名 第16回日本小児耳鼻咽喉科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杉本寿史
2. 発表標題 頭皮内皮膚切開による人工内耳埋め込み術
3. 学会等名 第31回日本耳科学会総会・学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杉本寿史
2. 発表標題 頭皮内皮膚切開による人工内耳埋め込み術
3. 学会等名 第121回日本耳鼻咽喉科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 杉本寿史
2. 発表標題 当科における鼓膜閉鎖手術の検討
3. 学会等名 第30回日本耳科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 杉本寿史、波多野都、吉崎智一
2. 発表標題 「いしかわ赤ちゃんきこえの相談支援センター」に対するアンケート調査
3. 学会等名 第15回日本小児耳鼻咽喉科学会
4. 発表年 2020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
--	---------------------------	-----------------------	----

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