

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：14501

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22472

研究課題名(和文)視・聴覚受容の【左右差】を基盤とした疾患概念の確立を目指して

研究課題名(英文)Challenge for establishing the criteria of laterality-based diseases in hearing and vision

研究代表者

上山 健彦(Ueyama, Takehiko)

神戸大学・バイオシグナル総合研究センター・教授

研究者番号：80346254

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：蝸牛及び網膜での活性酸素産生能力を経時的に(生後2週間から1年まで)観察した。蝸牛及び網膜での活性酸素産生能力は2～6か月齢で最大となり、その後はプラトーになることを発見した。更に、蝸牛及び網膜での活性酸素産生能力は、加齢や聴力及び視力に対して毒性を有する抗癌剤であるシスプラチンによって増強されることを明らかにした。この際に、蝸牛では外有毛細胞が、網膜では視神経節細胞が脱落することを突きとめた。これらの発見は、活性酸素により起こる疾患が、ヒトでは壮年期に最も起こり易いのではないかということを示唆するものであった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

感覚疾患は、近年増加傾向であり、この増加は今後も続くことが予測されている。しかしながら、有効な治療法が存在しない疾患が多いのが現状であり、その病因解明及び治療法開発が求められている。本研究は、活性酸素によって起こることが示唆されている疾患(特に、視聴覚疾患)の発症時期及び発症機序の解明に大きなブレークスルーを起こす可能性があり、更には、原因不明の視聴覚疾患の新規治療法開発に繋がって行くものである。

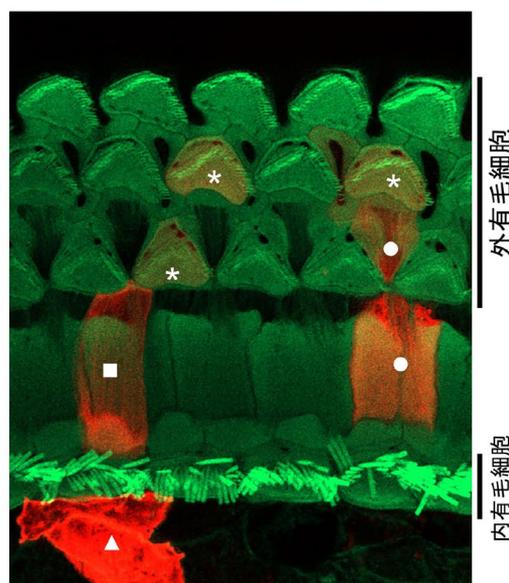
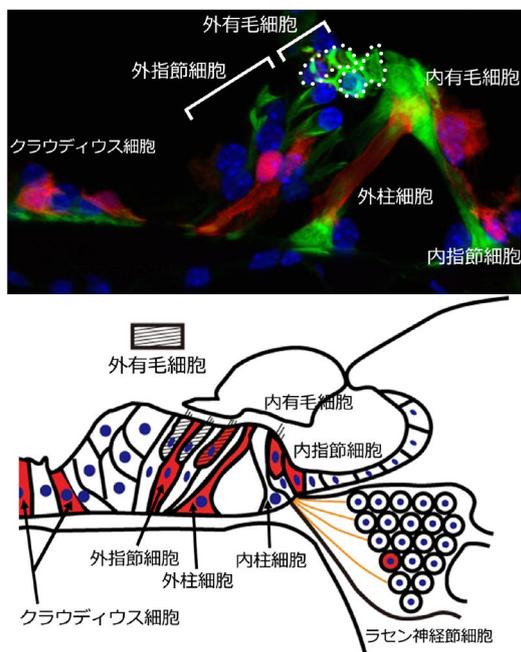
研究成果の概要(英文)：We examined superoxide-producing capabilities in the cochlea and the retina from the age of 14 days after birth to 1-year-old. It was maximum from 2-month-old to 6-month-old, and then reached the plateau (from 6-month-old to 12-month-old). Moreover, it was enhanced/increased by aging and cisplatin, which is a famous anti-cancer drug exhibiting toxicity to hearing and vision. We also found that aging and cisplatin cause loss of outer hair cells in the cochlea and optic ganglion cells in the retina. These new findings suggest that diseases caused by superoxide may most frequently occur in the middle ages in humans.

研究分野：神経科学、薬理学、生化学

キーワード：視聴覚 活性酸素

1. 研究開始当初の背景

我々は、これまで活性酸素産生酵素である **NADPH oxidase (Nox)** の活性化機構解明に取り組んできた。7種存在するヒト **Nox** の中で、内耳特異的 **Nox** として同定されていた **Nox3** の遺伝子変異が、耳石欠損により平衡覚障害を来す自然発症マウス (**Head tilt mice**) の原因であることが、2004年に報告された (**Paffenholz R et al. Genes Dev.**)。我々は、すぐさま **Nox3** の活性化機構解明に取り組み、**Nox3** の活性化に **Rac** が必須との報告を世界に先駆けて行った (**Ueyama T et al. Mol. Cell. Biol. 2006**)。以来、平衡覚・聴覚の確立・維持及びその破綻により生じる疾患に焦点を当てた研究を行って来た。この研究の過程で、内耳での機能以外、内耳においての発現細胞さえも不明である **Nox3** の全身における発現細胞・部位・機能を明らかにしようとの発想に至り、**Nox3** の promoter の下流に **Nox3** に代わり **Cre recombinase** を発現するノックインマウス (**Nox3-Cre^{KI}**) を数度の失敗を乗り越えて作製に成功し、レポーターマウス **CAG-STOP^{fllox}-tdTomato** との交配により、**Nox3** 発現細胞が赤色蛍光蛋白 **tdTomato** で標識されるマウス (**Nox3-Cre^{KI};tdTomato**) を漸く得ることが出来た。この独自に開発したマウスを用い、**Nox3** が、内耳蝸牛コルチ器内の有毛細胞と種々の支持細胞に発現することを明らかにした (図)。また、**Nox3** が、加齢、騒音、聴毒性を有する薬剤によって外有毛細胞に発現誘導され、外有毛細胞が誘発されることにより難聴 (後天性難聴) を呈することを明らかにし、**Nox3** がこれら後天性難聴の治療法開発の有力標的分子になり得る事を報告した。



2. 研究の目的

機能の局在は、系統発生と個体発生の両面から獲得された仕組みと考えられるが、その成立機序には謎が多い。脳は解剖学的には左右対称であるのに、「優位・劣位半球」という機能

的極性が存在する。この 極性を獲得する機序として、脳への情報のインプット機構、即ち、感覚受容器（感覚センサー）には元来【左右差】が備わっており、結果として脳機能極性に導く・作り出す可能性がある。また、感覚インプットの【左右差】やバランス・恒常性崩壊が、疾患の発症原因を考える上で、重要な「基盤」となっている可能性がある。本研究では、視・聴覚での活性酸素産生能に注目して、その存在と疾患における役割を実証し、種々の疾患の発症・進行機序を解明する上での新たな基盤・概念の確立を目指す。

3. 研究の方法

- ①網膜における注目分子発現の【左右差】とその機能的意義や機能的【左右差】の解明、
- ②網膜の機能障害における注目分子の役割および加齢などの種々の負荷による機能的【左右差】や障害性【左右差】の存在と意義解明、
- ③蝸牛における注目分子発現の【左右差】とその機能的意義の解明、
- ④蝸牛の機能障害における注目分子の役割および加齢などの種々の負荷による機能的【左右差】や障害性【左右差】の存在と意義解明を行う。

4. 研究成果

①に関しては、注目分子の発現が経時的に増加する事、雌雄差のない事を発見した。②に関しては、加齢や種々の負荷により注目分子の発現が上昇する事、網膜機能に【左右差】があり得る事を電気生理学的に、Nox ノックアウトマウスでは視覚毒性がある薬剤投与による網膜障害が軽減する事を明らかにした。③に関しては、注目分子の発現が経時的に増加する事、雌雄差のない事を発見した。④に関しては、加齢や種々の負荷により注目分子の発現の程度が聴力悪化に相関する事を、野生型とノックマウスの比較により明らかにした。また、発現及び機能的【左右差】は、4～6 か月齢でもっとも顕著であるとの所見を得た。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Ninoyu Yuzuru, Sakaguchi Hirofumi, Lin Chen, Suzuki Toshiaki, Hirano Shigeru, Hisa Yasuo, Saito Naoaki, Ueyama Takehiko	4. 巻 11
2. 論文標題 The integrity of cochlear hair cells is established and maintained through the localization of Dia1 at apical junctional complexes and stereocilia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Death & Disease	6. 最初と最後の頁 1-15
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41419-020-02743-z	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 -
1. 著者名 Morioka Shigefumi, Sakaguchi Hirofumi, Mohri Hiroaki, Taniguchi-Ikeda Mariko, Kanagawa Motoi, Suzuki Toshiaki, Miyagoe-Suzuki Yuko, Toda Tatsushi, Saito Naoaki, Ueyama Takehiko	4. 巻 16
2. 論文標題 Congenital hearing impairment associated with peripheral cochlear nerve dysmyelination in glycosylation-deficient muscular dystrophy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS Genetics	6. 最初と最後の頁 1-28
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pgen.1008826	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 -
1. 著者名 Ueyama Takehiko, Sakuma Megumi, Nakatsuji Mio, Uebi Tatsuya, Hamada Takeshi, Aiba Atsu, Saito Naoaki	4. 巻 140
2. 論文標題 Rac-Dependent Signaling from Keratinocytes Promotes Differentiation of Intradermal White Adipocytes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 75 ~ 84.e6
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jid.2019.06.140	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 Kim Bong Jik, Ueyama Takehiko, Miyoshi Takushi, Lee Seungmin, Han Jin Hee, Park Hye-Rim, Kim Ah Reum, Oh Jayoung, Kim Min Young, Kang Yong Seok, Oh Doo Yi, Yun Jiwon, Hwang Sang Mee, Kim Nayoung K D, Park Woong-Yang, Kitajiri Shin-ichiro, Choi Byung Yoon	4. 巻 56
2. 論文標題 Differential disruption of autoinhibition and defect in assembly of cytoskeleton during cell division decide the fate of human DIAPH1-related cytoskeletopathy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Medical Genetics	6. 最初と最後の頁 818 ~ 827
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1136/jmedgenet-2019-106282	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 該当する

1. 著者名 Shirafuji Toshihiko, Shimazaki Haruo, Miyagi Tatsuhiro, Ueyama Takehiko, Adachi Naoko, Tanaka Shigeru, Hide Izumi, Saito Naoaki, Sakai Norio	4. 巻 98
2. 論文標題 Spinocerebellar ataxia type 14 caused by a nonsense mutation in the PRKCG gene	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular and Cellular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 46 ~ 53
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mcn.2019.05.005	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 Mohri Hiroaki, Ninoyu Yuzuru, Sakaguchi Hirofumi, Hirano Shigeru, Saito Naoaki, Ueyama Takehiko	4. 巻 41
2. 論文標題 Nox3-Derived Superoxide in Cochleae Induces Sensorineural Hearing Loss	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 4716 ~ 4731
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.2672-20.2021	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 -

1. 著者名 Ueyama Takehiko	4. 巻 8
2. 論文標題 Rho-Family Small GTPases: From Highly Polarized Sensory Neurons to Cancer Cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 92 ~ 92
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells8020092	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 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 上山健彦
2. 発表標題 細胞骨格異常に起因する新規の症候群性遺伝性感音難聴：糖鎖修飾欠損型筋ジストロフィーに合併する末梢蝸牛神経の髄鞘化障害による聴覚異常
3. 学会等名 第30回日本耳科学会総会・学術講演会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 上山 健彦
2. 発表標題 遺伝子改変マウスからの疾患病態解明と治療法開発戦略へのフィードバック
3. 学会等名 第60回日本組織細胞化学会総会・学術集会および第13回日中合同組織細胞化学セミナー（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上山 健彦
2. 発表標題 Sensorineural hearing loss: challenges for therapy development based on its mechanisms
3. 学会等名 第8回ニューロサイエンスネットワークシンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 上山 健彦
2. 発表標題 Acquired hearing loss induced by ROS and challenges for therapy development based on its mechanism
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2022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	坂口 博史 (Sakaguchi Hirofumi) (00515223)	神戸大学・バイオシグナル総合研究センター・研究員 (14501)	

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			
韓国	Soeul University			