

機関番号：32620

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21791647

研究課題名（和文） 難聴モデルマウスにおける聴力獲得の挑戦

研究課題名（英文） The strategy to gain hearing ability of the deaf model mouse

研究代表者

飯塚 崇 (IIZUKA TAKASI)

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号：40372932

研究成果の概要（和文）：

わが国でも数十万人いると推測されている高度感音難聴に対する治療は耳鼻咽喉科領域では最も重要なテーマであるが実際の治療はきわめて困難である。人の内耳を直接生検することや侵襲的な生理学的検査は困難であり、有用な動物モデルを用いての検討は発症機序の解明や根本的治療の確立に極めて重要である。

現在、動物モデルは主にマウスが用いられているが、小動物であるため内耳への薬物投与は困難とされてきた。我々はマウス内耳に侵襲を最低限に抑えて投与できる方法の開発に取り組んできた。また、我々が検討した結果、遺伝性難聴モデルマウスでは出生直後は蝸牛コルチ器の変性は軽度であり、成長に伴い変性が進んでいく。したがって、変性が軽度のうちの治療が効果的である。我々は過去の報告にはない生後24時間以内のマウス蝸牛への遺伝子導入をアデノ随伴ベクターを用いて低侵襲に注入できる外リンパ腔への投与で内リンパ腔への遺伝子発現を認め、これを紙上で学会にて報告した。我々のこの投与方法では十分にしかも聴力を下げることなく低侵襲で内リンパ腔へ導入効率を高く投与できる。これは様々な内耳疾患モデルマウスに応用でき、将来のヒトの内耳への薬物投与・遺伝子導入に貢献するものである。

現在遺伝子欠損マウスにその遺伝子を組み込んだアデノ随伴ウイルスベクターを導入しその検討を行っている。成体の遺伝性難聴モデルマウスに欠失遺伝子を導入し、遺伝子の発現に成功した。今後出生直後のマウスに導入予定である。

研究成果の概要（英文）：

Hereditary deafness affects about 1 in 2,000 children and mutations in the GJB2 gene are the major cause in various ethnic groups. In order to establish the fundamental therapy of congenital deafness, we generated targeted disruption of Gjb2 using Cre recombinase controlled by P0. Using this animal model, we examined the potential of gene therapy in the inner ear, using the homozygous mutant mice and the heterozygous mutant mice. Adeno-associated virus (AAV) vectors carrying the gap junction beta 2 protein (Gjb2) gene were injected into the scala tympani through the round window of the cochlea of the homozygous mutant adult mice. The expression of Cx26 was not seen in the supporting cells and the hearing ability was not improved.

We succeeded in gene introduction to the supporting cells of neonatal mice without hearing loss using adeno-associated virus vectors. We are going to introduce this virus into the Gjb2 knockout mouse in future to cure hereditary deafness.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,000,000円	600,000円	2,600,000円
2010年度	1,200,000円	360,000円	1,560,000円
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000円	960,000円	4,160,000円

研究分野：医歯薬学

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：難聴モデルマウス 遺伝子導入 ウイルスベクター 遺伝子治療

1. 研究開始当初の背景

わが国でも数十万人いると推測されている高度感音難聴に対する治療は耳鼻咽喉科領域では最も重要なテーマであるが実際の治療はきわめて困難である。人の内耳を直接生検することや侵襲的な生理学的検査は困難であり、有用な動物モデルを用いての検討は発症機序の解明や根本的治療の確立に極めて重要である。

2. 研究の目的

現在、動物モデルは主にマウスが用いられているが、小動物であるため内耳への薬物投与は困難とされてきた。我々はマウス内耳に侵襲を最低限に抑えて投与できる方法の開発に取り組んできた。また、我々が検討した結果、遺伝性難聴モデルマウスでは出生直後は蝸牛コルチ器の変性は軽度であり、成長に伴い変性が進んでいく。したがって、変性が軽度のうちの治療が効果的である。我々は過去の報告にはない生後24時間以内のマウス蝸牛への遺伝子導入をアデノ随伴ベクターを用いて低侵襲に注入できる外リンパ腔への投与で内リンパ腔への遺伝子発現を認め、これを報告した。我々のこの投与方法では十分にしかも聴力を下げることなく低侵襲

で内リンパ腔へ導入効率を高く投与できる。これは様々な内耳疾患モデルマウスに応用でき、将来のヒトの内耳への薬物投与・遺伝子導入に貢献するものである。

3. 研究の方法

遺伝子欠損マウスにその遺伝子を組み込んだアデノ随伴ウイルスベクターを導入する。

4. 研究成果

成体の遺伝性難聴モデルマウスに欠失遺伝子を導入し、遺伝子の発現に成功した。今後出生直後のマウスに導入予定である。

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11件)

1. Kasai M, Hayashi C, Iizuka T, Inoshita A, Kamiya K, Okada H, Nakajima Y, Kaga K, Ikeda K.
Vestibular function of patients with profound deafness related to GJB2 mutation.

- Acta Otolaryngol.
査読有、2010、 130(9)、990-5.
2. 真珠腫性中耳炎症例における乳突洞の細菌学的検討. 飯塚崇, 古川正幸, 笠井美里, 池田勝久. 日本耳鼻咽喉科感染症研究会会誌. 28(1) : 55-57, 2010.
 3. 幼弱期の Gjb2 変異マウスの歪耳音響放射 (DPOAE) の測定及び外有毛細胞の機能評価. 峯川明, 成井裕弥, 井下綾子, 飯塚崇, 安部尚央, 欠畑誠治, 木谷令, 新川秀一, 小池卓二, 池田勝久. 頭頸部自律神経. 24. 10-14, 2010.
 4. 深頸部膿瘍より降下性壊死性縦隔炎に至った2例. 藤巻充寿, 伊藤伸, 大峽慎一, 飯塚崇, 楠威志, 池田勝久. 耳鼻咽喉科臨床. 補 126. 73-79, 2010.
 5. 咽喉頭異常感症に対する PPI (Proton Pump Inhibitor) の臨床的評価. 林千江里, 横井秀格, 一針幸子, 横井尚子, 飯塚崇, 古川正幸, 池田勝久. 耳鼻咽喉科臨床. 補 126. 30-32, 2010.
 6. Lipo-PGE1 の突発性難聴に対する有効性. 飯塚崇, 笠井美里, 春山琢男, 峯川明, 齊藤達矢, 林千江里, 八尾亨, 酒井陽子, 一針幸子, 横井尚子, 横井秀格, 古川正幸, 関真規子, 楠威志, 池田勝久. 耳鼻咽喉科臨床. 補 126. 10-14, 2010.
 7. 栄養血管が同定できなかった鼓室型グロームス腫瘍例. 古川正幸, 春山琢男, 林千江里, 奈良林修, 杉田玄, 飯塚崇, 笠井美里, 池田勝久. 耳鼻咽喉科臨床. 補 126. 6-9, 2010.
 8. 中耳奇形症例の顔面神経走行異常の検討. 飯塚崇, 古川正幸, 岡田弘子, 池田勝久. Facial Nerve Research. 29 巻 : 34-36, 2010.
 9. 味覚障害と中耳真珠腫の進展度分類についての検討. 岡田弘子, 古川正幸, 飯塚崇, 池田勝久. Facial Nerve Research. 29 巻 : 151-152, 2010.
 10. Minekawa A, Abe T, Inoshita A, Iizuka T, Kakehata S, Narui Y, Koike T, Kamiya K, Okamura H, Shinkawa H, Ikeda K. Cochlear outer hair cells in a dominant-negative connexin26 mutant mouse preserve non-linear capacitance in spite of impaired distortion product otoacoustic emission. Neuroscience. 査読あり. 164(3) : 1312-9, 2009.
 11. Narui Y, Minekawa A, Iizuka T, Furukawa M, Kusunoki T, Koike T, Ikeda K: Development of distortion product otoacoustic emissions in C57Bl/6J mice. Int J Audiol. 査読あり. 48(8) : 576-81, 2009.
- [学会発表] (計 1 件)
飯塚崇
Inner ear biology
Intracochlear injection of adeno-associate virus vector carrying Gjb2 gene to a mouse model created by a conditional knockout of Gjb2 gene
2010/3/31
チェコ・プラハ
- [図書] (計 0 件)

〔産業財産権〕なし

○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

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

飯塚 崇 (IIZUKA TAKASHI)

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号：40372932