

様式3

神戸大学バイオシグナル総合研究センター共同利用研究報告書

2020年 5月 11日

神戸大学バイオシグナル総合研究センター長 殿

所属機関・部局名 京都府立医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科
 職 名 助 教
 研究代表者名 二之湯 弦

下記のとおり2019年度の共同利用研究成果を報告します。

記

(課題番号: 192003)

1. 共同利用研究 課題名	感音難聴発症メカニズムの解明と新規難聴治療法および治療薬の開発			
2. 共同利用研究 目的	モデル動物および分子機能解析のための技術・設備の共同利用			
3. 共同利用研究 期間	2019年7月1日 ～ 2020年3月31日			
4. 共同利用研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役 割 分 担	
(研究代表者) 二之湯 弦	耳鼻咽喉科・頭頸部外科	助 教	研究総括、研究遂行	
(分担研究者) 坂口博史 森岡繁文 毛利宏明	耳鼻咽喉科・頭頸部外科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科	准教授 研究生 大学院生	研究指導 研究遂行 研究遂行	
5. センター内受入研究者	研究部門・ 分野名	シグナル機能制御研究部 門・分子薬理研究分野	氏 名	上山健彦

※ 次の6～9の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6～9の項目全体では1頁に収めて下さい。

6. 共同利用研究計画

これまでに樹立した新規 DFNA1 疾患モデルマウス(DIA1-TG)に加え、蛍光標識した DIA1 変異体を安定発現するノックインマウス(DIA1-KI)を新たに作製し、内耳における野生型および DIA1 分子の発現部位・細胞内局在について、主に免疫組織学的手法を用いて明らかにする。これまでの知見からは、DIA1 は有毛細胞および支持細胞におけるアクチン骨格制御に関わるとされているが、モデルマウスでは DIA1 分子の局在部位において、これが何らかの機序により破綻していることが予測される。そこで音響暴露により意図的にアクチン骨格に軽度の障害を引き起こし、野生型およびモデルマウスとの間で形態および機能の比較を行う。検討項目としては、有毛細胞の脱落数、走査型および透過型電子顕微鏡を用いた聴毛および頂側面結合の形態評価、リボンシナプス数、聴性脳幹反応(ABR)による聴覚閾値測定などを想定している。これにより DFNA1 における進行性感音難聴の病態メカニズムにさらに迫り、難聴を抑止・制御する新規治療薬の開発への足がかりにすることを目的とする。

7. 共同利用研究の成果

本研究により、長らく不明であったマウス蝸牛における mDia1 の発現細胞種および細胞内局在を明らかにすることができた。またモデルマウス(DIA1-TG)において、音響暴露によるリボンシナプスの優位な減少や、有毛細胞頂側面結合の形態異常が引き起こされることを明らかにし、新規 DIA1 変異により潜在的に有毛細胞の脆弱性が亢進していることを証明した。これにより、新規 DFNA1 の進行性感音難聴は、DIA1 分子が恒常的活性型に変異することにより、主に有毛細胞における頂側面結合および聴毛でのアクチン骨格の破綻が引き起こされ、細胞の脆弱性が亢進、進行性に脱落することにより引き起こされることが明らかになった。

8. 共同利用研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本センターの担当教員の氏名の記載、又はこの共同利用研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

<学会発表>

- 1) 二之湯弦, 坂口博史, 陳林, 毛利宏明, 斎藤尚亮, 上山健彦. DFNA1 疾患マウスモデルを用いた DIA1 分子の局在と病態メカニズムの解明. 第 60 回日本組織細胞化学会総会・学術集会(ポスター発表). 2019 年 9 月 19 日; 神戸.
- 2) 二之湯弦. DFNA1 疾患マウスモデルを用いた DIA1 分子の局在と病態メカニズムの解明. 第 29 回日本耳科学会総会・学術講演会 Young Award Session(口頭発表). 2019 年 10 月 10 日; 山形.
- 3) Ninoyu Y, Sakaguchi H, Chen L, Mohri H, Saito N, Ueyama T. Constitutive activation of Dia1 induces hair cell vulnerability via attenuated integrity of apical junctional complexes and stereocilia. 43rd ARO Annual MidWinter Meeting (poster session). 2020 Jan 28; San Jose, USA.

<研究論文>

Ninoyu Y, Sakaguchi H, Chen L, Hirano S, Hisa Y, Saito N, Ueyama T. The integrity of cochlear hair cells is established and maintained through the localization of Dia1 at apical junctional complexes and stereocilia. *Cell Death Dis.* (In minor revision).

9. 共同利用研究に関連した受賞, 博士学位論文の取得, 大型研究プロジェクトや競争的資金の獲得等がありましたらご記入ください。