



Title	Daple deficiency causes hearing loss in adult mice by inducing defects in cochlear stereocilia and apical microtubules
Author(s)	大藺, 芳之
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/87737
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	大 菌 芳之
論文題名 Title	Daple deficiency causes hearing loss in adult mice by inducing defects in cochlear stereocilia and apical microtubules (Dapleの欠乏は、蝸牛のステレオシリアとアピカル微小管構築の異常をもたらし、成体マウスの難聴を惹起する)
論文内容の要旨 〔目 的(Purpose)〕 胚の発生には、細胞内、細胞間の極性を正しく決めるメカニズムが重要である（平面内細胞極性planar cell polarity :PCP）。蝸牛の発生においても、感覚細胞である有毛細胞と支持細胞の適切なモザイク状の整列とそれに伴う蝸牛管の伸展は機能発現のために不可欠な要素である。しかしながら内耳PCP形成について、十分に解明されていない。 DapleはPCP構築を担う主な蛋白質の一つであるとされるDishevelledに結合する蛋白質として同定され、生体の発生、組織の調整、また腫瘍形成、癌浸潤能にも関連する蛋白質として報告されている。またDapleのノックアウトマウスは脳室上衣細胞のPCP異常により水頭症の発症が報告されている。 本研究は蝸牛PCPにおけるDapleの役割を明らかにし、PCP調整のメカニズムの解明を目的とした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 Dapleノックアウトマウスを購入し聴性脳幹反応を用いた聴力検査を施行したところ、成体マウスにおいて難聴が示された。また、内耳の形態、蝸牛有毛細胞について走査電子顕微鏡や蛍光顕微鏡を用いた観察を行ったところ、内耳形態としては大きな異常を認めなかったが、蝸牛有毛細胞にあるstereociliaのV字型配列の乱れが、様々な程度で観察されることが示された。この配列の乱れは特に蝸牛管の基底回転側に強く認められた。また、Dapleノックアウトマウスの新生仔マウスにおいてstereociliaの整列に寄与すると考えられている、一次繊毛であるkinociliaの位置にも異常が認められ、この異常もstereociliaの配列異常に一部関与していると考えられた。先行する脳室上衣細胞のPCP異常の報告で、Dapleと微小管動態制御の関係が示されており、kinociliaの細胞アピカル面移動にはアピカル微小管の構築が重要になることが知られているため、アピカル面の微小管を確認したところ、ノックアウトマウスでは野生型マウスに比べ、異所的な凝集など、構築に大きな異常が認められた。このことから、微小管構築の異常が、kinocilia、stereociliaの位置、配列の異常に関与していると考えられた。この考えを補強検証、微小管の構築の変化がkinociliaの位置の異常、stereociliaの配列の異常に問題を生じうのかを検証するため、微小管重合阻害薬である、ノコダゾール添加下で正常マウス胎児の胎児蝸牛器官培養を行い、蝸牛有毛細胞の発生過程の観察を行った。2日間培養後に観察すると、Dapleノックアウトマウスで観察されるkinocilia、stereociliaに近い異常が観察された。 〔総 括(Conclusion)〕 本研究では、成体Dapleノックアウトマウスの聴覚を測定し、難聴を認めること、また有毛細胞感覚突起stereocilia、の配列が著しく乱れること、を確認した。更に、このstereociliaの配列形成に重要な一次繊毛、kinociliaの位置にも異常があることを示した。原因として、Dapleノックアウトマウスの蝸牛有毛細胞において、アピカル細胞骨格の1種である微小管の動態制御に異常があることを示した。本点は、微小管重合阻害剤培養下での胎児蝸牛器官培養の結果、stereocilia、kinociliaにDapleノックアウトマウスと同様な異常が観察されたことから明らかであった。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 大藪 芳之			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	猪 原 孝 典
	副 査	大阪大学教授	鳥 田 昌 一
	副 査	大阪大学教授	岡 村 康 司

論文審査の結果の要旨

平面細胞極性 (planar cell polarity 以下PCP) は本論文で研究対象となっている蝸牛有毛細胞の整列のみならず、生体の発生や組織構築、生体恒常性維持に必要な要素である。この調整のメカニズムを解明することは、蝸牛が担う聴覚のみならず、その他の臓器に関しても重大な成果につながると期待される研究である。

本論文はPCP関連蛋白質のDapleをノックアウトしたマウスを用い、Dapleノックアウトマウスが蝸牛有毛細胞のアピカル面に生えるkinocilia、stereociliaの配列に異常を認めることを示し、細胞骨格の微小管に異常が認められることを観察した。また、微小管異常で、同様の異常が観察されるかを検証するために、正常なマウスの胎児蝸牛器官培養環境下で、微小管重合阻害薬ノコダゾールを添加して観察を行い、Dapleノックアウトマウスの異常に近い状態が観察されることを確認した。これらから、Dapleが微小管を通してPCP制御を担っていることが示され、本論文は学位に値すると思われる。