

主 論 文 要 旨

報告番号	甲 ㊦ 第	号	氏 名	西 山 崇 経
主 論 文 題 名				
Deficiency of large tumor suppressor kinase 1 causes congenital hearing loss associated with cochlear abnormalities in mice (Large tumor suppressor kinase 1欠損マウスは蝸牛奇形を伴う先天性難聴を呈す)				
(内容の要旨)				
<p>哺乳類の聴覚機能は、蝸牛に存在する有毛細胞が適正な細胞数と整然とした配列を維持することで保たれており、有毛細胞に再生能力は存在しないとされている。正常な細胞数や細胞の配列を形成する上で、細胞周期調節経路が適正に働くことは重要であり、細胞周期調節経路の破綻が内耳有毛細胞の細胞死を誘導し、聴力障害を招くことが既に報告されている。Hippo経路は細胞周期調節経路の一つであり、細胞の増殖や分化に関わる重要な経路であり、腫瘍領域で最も注視されている経路の一つである。近年、その中心的キナーゼであるYes-associated protein (YAP)/ PDZ-binding motif protein (TAZ)の活性化によって、前庭細胞の<i>in vitro</i>での細胞増殖効果が示されるなど、内耳再生領域での報告も存在するが、Hippo経路と蝸牛との関係性については、未だにほとんど解明されていない。Large Tumor Suppressor Kinase 1 (LATS1)はHippo経路においてYAP/TAZの上流に位置しており、LATS2と共にYAPをリン酸化し抑制的に調節しているキナーゼである。LATS1の内耳における<i>in vivo</i>での働きを調べるため、LATS1ノックアウト (KO)マウスを用いて、微細構造や機能の解析を行なった。</p> <p>LATS1 KOマウスは同腹の対照群と比較して、出生時より体重が軽く、聴性脳幹反応 (ABR) や歪成分耳音響放射 (DPOAE) において聴覚閾値の上昇を認めた。これらの所見は、KOマウスが先天性内耳障害を伴うことを示唆する所見であった。免疫染色による内耳コルチ器内でのLATS1の局在は、内外有毛細胞および支持細胞に分布しており、特に有毛細胞上部のクチクラ板に強い信号を認めた。またKOマウスのコルチ器は対照群と比し、有毛細胞の配列不整、ステレオシリア (聴毛) の配列不整・脱落、わずかながらも有意に有毛細胞数が少ないことを、共焦点顕微鏡や走査型電子顕微鏡によって確認した。KOマウスにおけるこれらの表現系は生直後から認められ、蝸牛長には変化を認めなかった。このことから、LATS1は蝸牛有毛細胞の正常な発生に重要であり、細胞配列の乱れや聴毛の不整の表現系からはPlanar Cell Polarity (PCP) への関与を疑う所見であった。</p> <p>聴毛は発生段階において、有毛細胞クチクラ板上のキノシリアに誘導されて正常な位置に固定されるが、KOマウスは対照群と比較しキノシリアの分布異常を認めていた。また、過去に前立腺においてLATS1はPCP関連タンパク質であるPar3、Gaiと共に細胞の配列を規定しているという報告もある。そこで、PCPへの影響を調べるためKOマウスでのPar3とGaiの局在の変化を観察したが、対照群と同様であった。またLATS1は、Hippo経路においてLATS2と共にYAPのリン酸化に働くことから、LATS1 KOに伴うコルチ器での、LATS2やリン酸化YAP (pYAP) の局在の変化について検討したが、LATS2、pYAP共にKOマウスと対照群で差を認めなかった。これらのことから、LATS1はクチクラ板においてキノシリアの正常な配置に関わっているが、既知のPCP関連タンパク質やHippo経路とは独立的に、蝸牛有毛細胞と聴毛の正常な発生に必要なキナーゼであり、LATS1キナーゼの内耳特有な機能の存在が示唆された。</p>				