

氏名	ねもとみか 根本美歌
学位	博士(医学)
学位記番号	新大院博(医)第51号
学位授与の日付	平成17年 3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	<i>Ahl3</i> , a third locus on mouse chromosome 17 affecting age-related hearing loss (<i>Ahl3</i> 、マウス第17番染色体上の加齢性難聴原因遺伝子座)
論文審査委員	主査 教授 五十嵐 道弘 副査 教授 高橋 姿 副査 教授 木南 凌

博士論文の要旨

老人性難聴、加齢性難聴(AHL:age related hearing loss)は人類に最も多い慢性疾患の一つであり、全人口の約半数が80歳までに発症する。音響や薬剤のような環境因子に対する聴覚器官の感受性には個体差があり、これは人類の遺伝子の多様性に依るものと考えられる。これまでAHLの原因遺伝子の解析は、後天性に発症し進行する難聴を呈するマウス系統を用いて行なわれてきた。

C57BL/6J(B6)系統マウスは、成人発症の加齢性難聴のモデル動物として長く用いられてきた。このB6系統は10ヶ月齢で難聴を呈するのに対し、CAST/Ei系統は18ヶ月齢まで正常聴力を保持する。この2系統の戻し交配マウスを用いた連鎖解析により、10番染色体上の遺伝子座*Ahl*がD10Mit112にマッピングされた。またその後の研究により、この遺伝子座が少なくとも10系統のマウスにおいてAHLの大きな要因となっていることが判明した。一方、DBA/2JやNOD/LtJ系統は10ヶ月齢以前の早期に難聴を呈することが判っており、5番染色体上の別の遺伝子(*Ahl2*)の関与が示唆されている。

近年、新しいQTL(quantitative trait loci)解析の手法としてコンソミックマウスを利用する方法が開発された。コンソミックマウスとは、基になる2つの系統間で1本の染色体のみを他方と置換したもので、2系統間の遺伝的相違を分析するのに有用である。我々は開発途中のコンソミックマウス系統を用い、AHL原因遺伝子の探索を行なった。

今回用いたコンソミック系統は、各々B6の遺伝子背景の中に1組のMSM由来の染色体をもつもので、12系統が利用可能であった(1,2,3,5,6,8,10,11,13,15,17,19番染色体)。我々は、各コンソミック系統の聴力を、8から18ヶ月齢まで2ヶ月毎にABRを用いて測定した。すると、MSM由来の17番染色体を持つ系統(17番コンソミック)のみが、18ヶ月齢まで正常聴力を示すことが判った。またこれはホモ、ヘテロの17番コンソミックマウスともに同様の結果であった。次に、ヘテロの17番コンソミックマウスとB6を交配し、これらの個体について、17番染色体上の遺伝子型を9つのマーカーを用いて決定した。すると、21頭のB6由来の17番染色体(B/B)を持つ個体、25頭のMSM由来(B/M)の17番染色体を持つ個体、43頭の17番染色体上の組み換え体が得られた。組み換え

体のみ、6ヶ月齢と12ヶ月齢でABR(auditory brainstem response)で聴力を測定したところ、12ヶ月齢で各個体の聴力に明らかな相違がみられた。そこで、この時点での聴力閾値が45dB以下のAHL-negative群(n=29)と50dB以上のAHL-positive群(n=14)にわけ、MapManagerを用いたQTLマッピングを行なった。その結果、D17Mit119にピークを示した。これはD17Mit119近傍にAHLに抵抗する遺伝子の存在を示唆するものである。

また、走査電子顕微鏡で17番コンソミックマウスの内耳の形態を観察し、MSM、B6、13番コンソミックマウスを比較したところ、12ヶ月齢のB6と16ヶ月齢の13番コンソミックマウスでは聴毛の変形と有毛細胞の部分的脱落が観察されたが、16ヶ月齢のMSMと17番コンソミックマウスではこのような変化は観察されなかった。内耳有毛細胞の形態が維持されていたことと、MSM、17番コンソミックマウスの優れた聴力は関連するものと考えられた。

以上より、17番染色体上の加齢性難聴原因遺伝子(Ahl3)が内耳有毛細胞の形態を維持し、難聴の進行を抑制しているものと考えられ、D17Mit119近傍にこの遺伝子の存在が示唆された。

審査結果の要旨

ヒト加齢性（老人性）難聴には、遺伝子の多様性による個体差が関与する。難聴発症時期に差のあるC57BL/6Jマウスの種々の系統は、ヒト加齢性難聴のモデル動物として、これまで2種の加齢性難聴関連遺伝子が同定されている。

申請者は、2系統間の遺伝的相違の分析に有用なコンソミックマウス（2系統間で1染色体のみを他方と置換したもの）を用いて新規の加齢性難聴原因遺伝子座を探索し、正常聴力の保持がマウス17番染色体に関連することを証明した。次いでヘテロの17番コンソミックマウスと早期難聴発症マウスB6の組換え体で、12ヶ月齢時の聴力差に基づいた加齢性難聴群と正常聴力群を得た。両者の差をもたらす遺伝子座の位置決定を行い、17番染色体上のD17Mit119近傍に加齢性難聴抵抗性遺伝子の存在を明らかにした。また走査電子顕微鏡的観察から、両群の内耳有毛細胞の形態的差異を確認した。

上記の結果は、内耳有毛細胞の形態を維持して難聴の進行を抑制する遺伝子座を、第三のマウス加齢性難聴原因遺伝子*Ahl3*として17番染色体上で同定したもので、ヒト加齢性難聴の発症機構を解明する上で重要な知見と考えられる。よって本論文は博士の学位授与に値すると判定された。