

**【目的】**本研究はドコサヘキサエン酸 (DHA) が聴覚の発達や恒常性に果たす役割およびその分子メカニズムを明らかにし、DHA 介入による難聴の予防・治療戦略の可能性に迫ることを目的とした。難聴は様々な原因で生ずる。特に先天的な難聴や加齢性難聴など多くのタイプの難聴においてその発症メカニズムは不明な点が多く、予防法・治療法は確立されていない。DHA は食事からの摂取が必要な必須脂肪酸であり、主に生体膜中のリン脂質に存在する。DHA の中枢神経系における重要性についてはこれまで国内外で精力的に研究が進められてきたのに対し、聴覚領域においてはその重要性はほとんど注目されてこなかった。近年、DHA を含む $\omega$ 3 脂肪酸の高用量摂取により加齢性難聴が予防できる可能性を示唆する疫学調査が報告され、DHA 介入が難治性難聴の予防・治療戦略となりうる可能性が高まってきている。しかしながら、DHA の過不足が実際に聴覚の発達や恒常性に影響するのか、さらにその分子メカニズムについては全くわかっていないのが現状である。本研究では、DHA 含有リン脂質生合成酵素である *AGPAT3* に注目し、時期特異的に DHA 含有リン脂質を操作できるマウスを活用し、聴覚の発達や維持への DHA の関与、およびそのメカニズムを明らかにすることを試みた。

**【方法】**まず DHA 含有リン脂質欠乏の聴覚機能への影響を検討すべく、DHA 含有リン脂質生合成酵素 *AGPAT3* の欠損マウスを用い、その聴覚性驚愕反射および聴性脳幹反射を検討した。次にタモキシフェン投与により特定の時期より *AGPAT3* 発現を欠失および回復させるマウスを樹立し、聴覚の発達や維持に DHA 含有リン脂質が必要となる時期の絞り込みを行った。また、複数の Cre 系統を用いることで *AGPAT3* 欠損マウスにおいて難聴表現型の原因となる責任細胞について検討を行った。最後に免疫染色により、*AGPAT3* 欠損マウス内耳に解剖学的異常がないか検索を行った。

**【結果】**聴覚性驚愕反射および聴性脳幹反射の検討の結果、*AGPAT3* 欠損マウスが難聴の表現型を呈することがわかった。成獣後に *AGPAT3* を欠損させた場合、当該マウスにおいて聴覚性驚愕反射に異常は認められなかったため、成獣後の DHA 含有リン脂質生合成は正常聴覚の維持に必須ではないことが示唆された。さらに、2 週齢より *AGPAT3* 発現を回復させた欠損マウスにおいては正常な聴覚性驚愕反射反応が認められたものの、3 週齢より *AGPAT3* 発現を回復させた欠損マウスにおいては通常の *AGPAT3* 欠損マウスと同様に聴覚性驚愕反射反応が認められなかった。従って、通常飼育時の正常聴覚の発達あるいは維持には少なくとも生後 2 週齢から *AGPAT3* の発現が必要であることがわかった。また複数の Cre 系統を用いた検討により、*AGPAT3* 欠損マウスで認められる難聴の責任細胞として支持細胞、骨組織、血管内皮細胞などが否定された。*AGPAT3* 欠損マウス内耳組織の免疫染色の結果、有毛細胞や支持細胞、聴毛の分布や数、構造等の明らかな異常は観察されなかったため、当該マウスにおいては構造的変容によらない聴覚受容や伝導の異常により難聴となる可能性が考えられた。

DHA 含有リン脂質生合成酵素 *AGPAT3* の遺伝子改変マウスにおける難聴表現型