

## 学位論文審査の要旨

強大音響誘発性難聴の発症に蝸牛内での酸化ストレス誘導物質の過剰産生および蝸牛外側壁のギャップ結合 (GJ) の機能破綻が深く関与していることが報告されている。申請者は、これらの感音難聴発症メカニズムに関する先行研究から、酸化ストレス誘導物質および GJ 機能破綻の有毛細胞死への関与について研究を進めた。その結果、少なくとも酸化ストレス誘導物質単独では有毛細胞死を起こさないが、蝸牛内側壁の GJ 機能破綻が著しい有毛細胞死を起こすことを見出し、感音難聴における有毛細胞死に蝸牛外側壁の GJ 機能破綻が深く関与することを示唆した。以下に本学位論文の審査結果を示す。

難聴は、外耳、中耳の障害による伝音難聴と聴覚伝導路の内耳以降の障害による感音難聴とに分類される。中でも、感音難聴の薬物治療はきわめて難しく、その治療薬の開発のために感音難聴の発症メカニズムの解明が急務である。感音難聴の要因には内耳蝸牛コルチ器の有毛細胞の障害が関与している。したがって、有毛細胞の障害メカニズムの解明が感音難聴予防・治療に重要である。

先行研究で、強大音響曝露後に蝸牛内において脂質過酸化産物である 4-hydroxynonenal (4-HNE) や peroxynitrite 産生の指標である nitrotyrosine の発現増加と共に外有毛細胞死を引き起こすこと、および強大音響曝露による聴覚機能障害が外側壁ラセン靱帯の細胞間コミュニケーション (GJIC) の破綻によることが報告されている。

以上のことから、申請者は、感音難聴における内耳蝸牛有毛細胞障害のメカニズムを解明する一環として、強大音響曝露後での蝸牛内変化に着目し、酸化ストレス誘導物質および GJ 阻害薬の有毛細胞死への関与について解析を行った。

申請者は、コルチ器器官培養法 (インビトロ実験) および内耳内投与法 (インビボ実験) の両実験系において、4-HNE、peroxynitrite 発生剤の SIN-1、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の外有毛細胞への影響について解析した。培養コルチ器に 4-HNE、SIN-1、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を直接暴露し、いずれの化合物も有毛細胞の脱落を誘発しないことを明らかにした。また、4-HNE、SIN-1 の内耳内投与においても有毛細胞の脱落を認めないことも示した。以上の実験成果より、感音難聴の主要因となる酸化ストレス誘導物質は少なくとも単独では有毛細胞死に関与しないことが示唆された。

申請者は、次に GJ 機能破綻の蝸牛有毛細胞死への関与を解析する目的で、GJ 阻害薬カルベノキソロン (CBX) の培養コルチ器への直接暴露および内耳内投与を行った。その結果、培養コルチ器への CBX の直接暴露は有毛細胞の脱落を引

き起こさないことが明らかとなった。一方、CBX の内耳内投与は、蝸牛外側壁ラセン靱帯の GJIC を著しく破綻させるとともに、長期的な聴覚障害を引き起こすことおよび外有毛細胞の著しい脱落を起こすことが明らかとなった。これらの実験成果から、CBX による蝸牛外側壁ラセン靱帯の GJIC の破綻は、外有毛細胞死が関与した不可逆的聴覚障害を起こすことが示唆された。

以上、本申請者は、酸化ストレス誘導物質単独では蝸牛有毛細胞死を起こさず、蝸牛外側壁の GJIC の破綻が著しい外有毛細胞死を起こすという実験事実から、「蝸牛外側壁ラセン靱帯における GJIC の破綻が外有毛細胞の脱落を引き起こす」という有毛細胞障害の新たなメカニズムを提唱している。また、本研究は聴覚障害の予防・治療において蝸牛外側壁の GJIC が新たな治療標的となりうる可能性を示すものであり、GJIC を標的とした医薬品の開発への貢献が期待される。

以上の観点から、本論文は博士（薬学）の学位論文としてふさわしいものであると判断された。