

[課程－2]

審査の結果の要旨

氏名 水嶋 優

本研究は騒音性難聴の病態において強大音曝露後に蝸牛に侵入するマクロファージ群やサイトカインが聴覚障害にどの程度寄与するかを明らかにするために、C57BL6/J マウスにクロドロン酸抱合リポソームを静脈内投与し強大音を負荷する系および IL-18 欠損マウスに強大音を負荷する系にて、マウス聴覚機能の強大音に対する感受性の変化の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. クロドロン酸抱合リポソーム投与群も対照群も強大音負荷直後に、聴覚閾値上昇の極大値を認め、その後 14 日の間に聴覚閾値は低下するが、最終的には強大音負荷前と比較し、聴覚閾値上昇が残存した。両群ともに同程度の一過性聴覚閾値上昇を示す一方で、クロドロン酸抱合リポソーム投与群は対照群と比較し、恒久的聴覚閾値の上昇を 4 kHz と 8 kHz で有意に抑制することが示された。
2. 薄切切片で外有毛細胞の喪失率を確認したところ、頂回転下方においては対照群では  $8.43 \pm 3.34\%$  喪失していたが、クロドロン酸抱合リポソーム投与群では  $3.35 \pm 1.37\%$  喪失しており、外有毛細胞の脱落を有意に防ぐことが示された。
3. 強大音負荷により、血管条の F4/80 陽性細胞数は蝸牛全体で有意に増加したが、クロドロン酸抱合リポソーム投与群では血管条の F4/80 細胞数は有意に少なく、強大音を負荷しない場合は血管条の F4/80 細胞数に両群で有意差は認めないことが示された。クロドロン酸抱合リポソーム投与群の頂回転下方および基底回転上方では、血管条あたりの F4/80 陽性細胞数は有意に減少することが示された。
4. クロドロン酸抱合リポソーム投与の有無にかかわらず、強大音負荷前と負荷後 3 時間の時点とを比較すると、炎症性サイトカイン *Il6* とケモカイン *Ccl17* は強大音負荷後に有意な発現上昇を認めたが、いずれの分子もクロドロン酸抱合リポソーム投与による有意な発現量の変化は認めないことが示された。
5. 強大音を負荷した野生型マウスでは、IL-18 と F4/80 をともに発現する細胞を血管条に認め、野生型マウスに強大音を負荷すると負荷直後より pro IL-18 および cleaved IL-18 の発現が上昇することが示された。
6. 若齢 (6-10 週齢) の IL-18 欠損マウスは対照群である野生型と比較し、正常な蝸牛の構造および同等の聴覚閾値を呈することが示された。
7. IL-18 欠損マウスも野生型マウスも強大音負荷直後に、聴覚閾値上昇の極大値を認め、その後 14 日間の間に聴覚閾値は低下するが、最終的には強大音負荷前と比較し、聴覚閾値上昇が

残存した。両群ともに同程度の一過性聴覚閾値上昇を示す一方で、強大音負荷後 14 日の ABR 測定においては IL-18 欠損マウスは野生型と比較して測定したいずれの周波数においても有意な差は認めないことが示された。

以上、本論文はクロドロン酸抱合リボソームの静脈内投与および IL-18 欠損マウスを用いた聴覚解析から、音響障害後期相において蝸牛に侵入するマクロファージ群を除去すると聴覚が保たれ組織学的な障害が軽減されること、強大音負荷後には蝸牛マクロファージが IL-18 を強く発現し同分子の活性化が生じるが、IL-18 欠損マウスは野生型と同等の強大音に対する障害を呈することを明らかにした。本研究は炎症反応やその細胞性応答を切り口とした騒音性難聴の病態解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。