

【別紙 2】

審査の結果の要旨

氏名 井上 亜希

本研究では、耳毒性物質投与による末梢前庭障害に対する外因性神経栄養因子の神経保護効果を明らかにするため、発達時期の異なるラットの培養前庭神経節細胞を用い、耳毒性からの外因性神経栄養因子の神経保護効果の発達時期による変化とそのメカニズムについて解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 外因性神経栄養因子として BDNF と NT-3 を用い、ラットの培養前庭神経節細胞 (VGN) に対する作用の生後発達時期による変化を、細胞生存と樹状突起の形成、樹状突起の伸長作用の 3 つの作用について検討した。細胞生存と樹状突起の形成に対する作用は主に生後早期 (P1 と P3 ラット) に限定されていた。一方 BDNF の樹状突起の伸長作用はすべての発達時期で認められ、NT-3 は VGN に対して樹状突起の形成や伸長作用はほとんど認めなかった。外因性神経栄養因子の VGN に対する作用は生後発達時期により変化し、その作用毎に異なる発達時期による変化を認めることが示された。
2. 耳毒性物質としてゲンタマイシンとシスプラチンを用い、神経栄養因子と耳毒性物質を培養液に投与し、外因性神経栄養因子の耳毒性物質投与に対する VGN の保護効果について検討した。神経栄養因子単独での投与と同様、耳毒性物質に対する保護効果も生後発達時期に依存して変化しており、BDNF が NT-3 に比べ強い保護効果を持つことが示された。
3. 外因性神経栄養因子の細胞生存や樹状突起の形成に対する効果の発達時期による変化の機序を明らかとするため、BDNF と NT-3 の受容体である TrkB と TrkC、p75^{NTR} の蛋白と mRNA の発現量の変化について Western blot 法と quantitative reverse transcriptase - polymerase chain reaction (RT-PCR) を用い検討した。高親和性受容体である TrkB と TrkC の蛋白と mRNA の発現量は発達時期で変化していなかったが、低親和性受容体である p75^{NTR} の蛋白と mRNA の発現量は発達時期に伴い減少し、この発達時期による変化は BDNF と NT-3 の細胞生存や樹状突起の形成に対する作用の発達時期による変化と同様の傾向を示していることを明らかとした。
4. 以上の結果より、神経栄養因子の VGN に対する細胞生存や樹状突起形成に対する作用は生後発達時期により変化し、この神経栄養因子の神経保護効果の発達時期による変化は、高親和性受容体である Trk 受容体の発現量の変化によるものではなく、p75^{NTR} の発現量の減少による可能性が示唆された。一方 BDNF の樹状突起の伸長効果は発達時期で変化しておらず、神経栄養因子の受容体を介した各細胞内シグナル伝達経路はそれぞれ異なる作用をもち、個別に制御されている可能性が示唆された。耳毒性物質による末梢前庭神経障害に対する治療への神経栄養因子の臨床応用には、Trk 受容体と

p75^{NTR}の細胞内シグナル伝達経路とその下流に連なる伝達経路の発達時期による変化も明らかにする必要があると考えられた。また、BDNFがNT-3に比べ強い保護効果を持ち、臨床応用に際し有力な因子であることが示された。

以上、本論文はラットの培養前庭神経節細胞における耳毒性物質投与による前庭障害に対する外因性神経栄養因子の神経保護効果の生後発達時期による変化を検討し、今まで未知であった神経栄養因子の受容体の発現量の発達時期による変化を解析した。VGNに対する神経栄養因子の作用が生後発達時期により変化し、p75^{NTR}の発現量が発達時期で変化していることを明らかとした。これまで未開拓であった耳毒性物質による内耳障害からの保護についての治療の開発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。