

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	堀 龍 介
論文題目	PROSTAGLANDIN E RECEPTOR SUBTYPE EP4 AGONIST PROTECTS COCHLEAE AGAINST NOISE-INDUCED TRAUMA (プロスタグランディンE受容体サブタイプE P 4 作動薬は音響外傷に対し蝸牛を保護する)		
(論文内容の要旨)			
音響外傷や突発性難聴などの急性感音難聴は臨床ではたびたび遭遇する疾患であるが、その治療法は限られている。プロスタグランジンE1（PGE1）全身投与は急性感音難聴の治療法としてあげられるが、その効果については議論がわかれており、さらに PGE1 の急性感音難聴に対する詳細な作用機序は十分に解明されていない。また内耳への血流量がきわめて少ないこと、内耳には脳脊髄液関門と同様に血液内耳関門が存在することから、薬物全身投与では有効な濃度を確実に内耳へ到達させることは困難であるため、内耳薬物投与方法も課題としてあげられる。 PGE1 の受容体としてプロスタグランジンE受容体サブタイプEP1、EP2、EP3、EP4などが同定されており、各受容体の選択的作動薬も精製されている。近年EP4作動薬には神経保護作用、抗アポトーシス作用、抗神経興奮毒性作用を有するという報告がある。また、急性感音難聴では蝸牛有毛細胞・ラセン神経節などの内耳組織が障害され、その程度が強いと有毛細胞や神経が消失する。以上の知見からPGE1の急性感音難聴に対する治療効果はEP4が関与している可能性が示唆される。本研究では急性感音難聴の動物モデルとして音響外傷モデルを用い、EP4作動薬の音響外傷に対する蝸牛保護・治療効果の可能性について検討することを目的とした。 最初に8週齢C57BL/6マウスの内耳を用い、RT-PCR法にてEP4 mRNAの発現を、凍結切片作製し免疫染色法にてEP4の内耳での局在を調べた。RT-PCR法の結果は内耳ではEP4 mRNAが発現しており、免疫染色法の結果はラセン神経節、有毛細胞、支持細胞、ラセン靱帯、血管条にEP4が発現していた。 次に4—6週齢モルモットを用い、EP4作動薬の音響外傷に対する蝸牛保護・治療効果を調べた。内耳薬物投与方法として手術操作による内耳局所投与法を選択した。局所投与であれば、内耳に十分な量の薬物を投与することが容易であり、全身的な副作用の危険を減じることができる。内耳局所投与はEP4作動薬含浸ゼラチンを蝸牛正円窓膜上に留置し、コントロール群としてEP4作動薬の溶媒液含浸ゼラチンを留置した。局所投与後に強大音での音響曝露、もしくは音響曝露後に局所投与をおこなった。音響曝露後3, 7, 14, 21日目に聴性脳幹反応（ABR）にて聴力を経時的に測定し、21日目に内耳採取した。組織評価はホールマウント法で行い、有毛細胞をMyosin VIIaで免疫染色後、蝸牛を3領域に分け残存有毛細胞数をカウントした。ABRの結果は、局所投与後音響曝露ではEP4作動薬投与群がコントロール群に比べ4, 8, 16 kHzで有意に閾値上昇が抑えられた(two-way factorial ANOVA)。音響曝露後局所投与では8, 16 kHzでEP4作動薬投与群の閾値上昇が有意に抑えられた。残存有毛細胞数の結果は、局所投与後音響曝露でのコントロール群において蝸牛3領域とも外有毛細胞数の著名な減少が認められたが、EP4作動薬投与群では蝸牛3領域とも減少が有			

意に抑制された。音響曝露後局所投与での EP4 作動薬投与群では蝸牛 3 領域とも外有毛細胞数減少は軽度であったが、コントロール群での減少と比べて有意差は認められなかった。残存内有毛細胞数は局所投与後音響曝露・音響曝露後局所投与とも減少は認められなかった。

本実験の結果はEP4作動薬内耳局所投与が音響外傷に対して蝸牛を保護・治療する効果があることを示した。このことはPGE1の急性感音難聴に対する治療効果のメカニズムの解明に寄与する。急性感音難聴の治療法が限られているなか、本研究結果よりEP4作動薬内耳局所投与が急性感音難聴に対しての新しい治療法の候補であることが示された。今後臨床応用に向けて、EP4作動薬の有毛細胞保護・治療効果についての詳細なメカニズムを解明するとともに、内耳局所投与法のさらなる検討をしていく必要がある。

(論文審査の結果の要旨)

急性感音難聴は臨床上頻回に遭遇する疾患であるが、その治療法は限られている。プロスタグランジン E1（PGE1）製剤全身投与は急性感音難聴の治療法であるが、その効果については議論がわかれており、PGE1 の急性感音難聴に対する詳細な作用機序は十分に解明されていない。PGE1 の受容体として EP 受容体 EP1、EP2、EP3、EP4 が同定されており、各受容体の選択的作動薬も精製されている。この EP 受容体が PGE1 製剤の急性感音難聴治療効果の作用機序に関わっていると考え、特に EP4 作動薬の急性感音難聴に対する蝸牛保護・治療効果について検討することを目的とし、研究を行った。急性感音難聴の動物モデルとして音響外傷モデルを用いた。

最初にマウスの内耳を用い EP4 の発現と局在を調べたところ、EP4 はマウス蝸牛内の特に聴力に関係する組織に発現していた。次にモルモットを用い、音響曝露前後に蝸牛正円窓膜上投与による EP4 作動薬内耳局所投与を行い、EP4 作動薬の蝸牛保護・治療効果を調べた。結果は局所投与後音響曝露群では機能的・組織学的に蝸牛は保護された。また音響曝露後局所投与群では音響外傷で悪化した聴覚は回復した。これらの所見は、EP4 作動薬は急性感音難聴の治療に応用できる可能性があり、PGE1 の急性感音難聴に対する治療効果の作用機序には EP4 が関与していることを示唆する。

以上の研究は、急性感音難聴治療の作用機序の解明に貢献し、急性感音難聴の新たな治療法の開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものとみとめる。

なお、本学位授与申請者は、平成21年10月28日実施の論文内容とそれに関連した試問をうけ、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日 以降