

# 論文内容要旨

論文題目

蝸牛における $\zeta$ 型ジアシルグリセロールキナーゼの局在と音響障害による影響

責任講座：耳鼻咽喉・頭頸部外科学 講座  
氏名：新川 智佳子

## 【内容要旨】(1,200字以内)

ジアシルグリセロールキナーゼ(DGK)はジアシルグリセロール(DG)をリン酸化してホスファチジン酸(PA)に変換する酵素であり、DGやPAの量を変化させることで、様々な細胞内シグナル伝達系を調節している。しかし、これまで内耳におけるDGKについて検討した報告はなく、今回、内耳蝸牛でのDGKアイソザイムの発現とその局在、さらには音響障害による影響を検討した。

はじめに、聴力正常のモルモット蝸牛からRNAを採取し、RT-PCRにてDGKアイソザイムの発現を検討したところ、DGK $\alpha$ 、DGK $\varepsilon$ 、DGK $\zeta$ が強く発現していることがわかった。そこで、細胞のストレス障害に関与するアイソザイムとして報告されているDGK $\zeta$ に着目し、免疫組織染色を行った。正常蝸牛においてDGK $\zeta$ は内有毛細胞、支持細胞に強く発現し、外有毛細胞にも中等度の発現がみられた。いずれもDGK $\zeta$ の細胞内局在は核であった。また、らせん神経節細胞の核にも局在していたが、その周囲のグリア細胞には発現していなかった。

次にDGK $\zeta$ の音響障害による影響を検討するために適切な音響障害モデルの音響暴露条件を検討した。音は4-8kHzのバンドノイズを用い、125dB・2時間(mild)、125dB・3時間(moderate)、130dB・2時間(severe)の3条件で音響暴露を行い、その聴力の変化と外有毛細胞の消失率を免疫組織学的に検討した。すべての条件において、暴露後一日目には重度難聴を示すが、徐々に回復し、音響暴露後2週間でmildでは中等度難聴、moderate、severeでは高度難聴にまで回復した。組織学的には暴露後2週間での外有毛細胞消失率が、mildでは約2割、moderateでは約8割、severeでは約9割であり、今回は聴力の回復程度と外有毛細胞の消失率より、moderateの音響暴露が適当であると考えた。さらにこのmoderateの条件では音響暴露後24時間では外有毛細胞消失率は約6割であることを確認した。

moderateの音響障害モデルにおいて、音響暴露後24時間、1週、2週におけるDGK $\zeta$ の発現を組織学的に検討した。暴露後24時間では、正常と同様に外有毛細胞の核にDGK $\zeta$ は局在していたが、音響暴露後1週間、2週間では外有毛細胞のDGK $\zeta$ の発現は低下していた。

今回著者はDGK $\zeta$ が聴覚伝導路において重要な内有毛細胞、らせん神経節細胞、支持細胞の核に強く発現し、外有毛細胞の核にも中等度発現していることを確認した。これまで他臓器において、ストレス障害を受けた細胞ではDGK $\zeta$ の発現が低下しアポトーシスが起ることが報告されており、蝸牛においても同様の現象が起きていることが推測された。

平成 29 年 1 月 17 日


山形大学大学院医学系研究科長 殿

## 学位論文審査結果報告書


申請者氏名： 新川 智佳子

論文題目： 蝸牛における $\zeta$ 型ジアシルグリセロールキナーゼ  
の局在と音響障害による影響


審査委員： 主審査委員

藤井 聡 

： 副審査委員

内藤 輝 

： 副審査委員

カノ 麻 丈 夫 

審査終了日：平成 29 年 1 月 17 日

### 【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

ジアシルグリセロールキナーゼ (DGK) はジアシルグリセロール (DG) の代謝を介して細胞内情報伝達を調節し、細胞分化、増殖および神経細胞死(アポトーシス)に関与する。本論文は、モルモット蝸牛の内側有毛細胞 (IHC) および外側有毛細胞 (OHC) の核内に DGK アイソザイムの一つである DGK $\zeta$  が存在することを明らかにした。そして、音響暴露したモルモット内耳 OHC ではアポトーシスが生じ、DGK $\zeta$  が核内から細胞質へ移行することを免疫組織化学的手法で明らかにした。本論文では、4-8kHz、125-130 デシベル 2-3 時間の音響暴露を行った 1 日後、1 週間後、2 週間後に聴性脳幹反応を行い聴力障害を同定した。暴露 1 日後、1 週間後および 2 週間後に蝸牛を取り出し切片標本を免疫組織染色して IHC および OHC の細胞障害を検討した。本論文における実験計画および手法は、ヒトおよび動物の音響暴露と内耳 OHC 障害を報告した既報告と矛盾がなく適切である。

実験結果で、4-8kHz、125 デシベル 3 時間の音響を暴露した後 1 週間を経たモルモット蝸牛切片標本において、有毛細胞のマーカーであるカルモデュリンで免疫染色すると、OHC が 8 割消失する一方で IHC は保たれ、OHC に限局してアポトーシスが生じたことを明らかにした。さらに、同標本で DGK $\zeta$  の細胞内局在を免疫組織化学的手法で検討した。障害された OHC では DGK $\zeta$  が核から脱出して細胞質に拡散している一方で、障害を免れた OHC および IHC では DGK $\zeta$  は核内に保たれていた。以上の実験結果から申請者は、OHC が音響ストレスにより細胞死するメカニズムとして、DGK $\zeta$  が核内から脱出することにより賦活される細胞内情報伝達が関与すること、を明らかにした。本論文において実験結果の画像はいずれも適切で、各数値は統計学的処理が適切になされており、得られた結論は妥当なものである。

本研究の独創的な点は、蝸牛の有毛細胞に DGK $\zeta$  が存在し、ストレス障害により細胞死する際に DGK $\zeta$  が関与することを明らかにした点である。OHC は蝸牛においてモータータンパク質を用いて細胞伸縮し、IHC で得た音響情報を修飾する点で機能的特異性を有する。本研究論文 OHC 神経細胞死のメカニズム発生の解明とその治療法の開発に寄与するものと思われ、その学問的意義が大きい。さらに、ヒトの騒音障害による難聴の解明に大いに資するものとして社会的意義が大きい。本審査会は当研究が学位(医学)の授与に値するものと判定する。