

甲 第 号

尾崎 大輔 学位請求論文

審 査 要 旨

奈 良 県 立 医 科 大 学

論文審査の要旨及び担当者

	委員長	教授	和中 明生
論文審査担当者	委員	教授	齋藤 康彦
	委員(指導教員)	教授	北原 紘

主論文

Culture of organoids with vestibular cell-derived factors promotes differentiation of embryonic stem cells into inner ear vestibular hair cells

内耳前庭細胞由来因子とオルガノイド培養を組み合わせた ES 細胞から内耳前庭有毛細胞への 分化誘導

Daisuke Osaki, Yukiteru Ouji, Masaharu Sakagami, Tomotaka Kitamura, Masayasu Misu,

Tadashi Kitahara, Masahide Yoshikawa

Journal of Bioscience and Bioengineering 135(2):143-150, 2023.

論文審査の要旨

内耳前庭有毛細胞は体平衡において重要な役割を果たしているが、再生メカニズムは不明である。申請者は内耳前庭細胞に由来する液性因子が幹細胞を有毛細胞へと分化誘導するという仮説を検証した。液性因子源には、マウス前庭組織より単離した細胞を培養することで得られた培養上清（V-CM）を使用した。幹細胞としてはES細胞をオルガノイド培養したものを用い、ES細胞分化培地あるいはV-CM添加培地により15日間培養し、有毛細胞マーカーの発現をreal time RT-PCRおよび免疫組織染色により精査し、さらには分化因子候補として前庭細胞特異的遺伝子の網羅解析を試みた。遺伝子発現解析では、V-CMによりMath1、Myosin6、Brn3cの内耳有毛細胞マーカーに加え、前庭有毛細胞特異的遺伝子Dnah5の有意な発現亢進を認めた。また形態解析ではV-CMを用いた場合多数の嚢胞形成が認められ、免疫染色によりMyosin6、Brn3c、Dnah5の発現が確認され、遺伝子解析との相関性を認めた。前庭細胞の遺伝子網羅解析ではコラーゲンファミリーを含む細胞外基質群の優位な発現亢進を認めた。本研究は、V-CMとオルガノイド培養系を組み合わせることにより、特異的にV-HCへの分化を制御する新規誘導法を開発したものであり、分化誘導に細胞外気質分子群が関与していること示唆した。この新知見は、前庭有毛細胞の分化・再生メカニズムを解明する上で重要と考えられる。

公聴会では、前庭と蝸牛有毛細胞の機能的な差異について電気生理学的な特性に加え、動毛の有無も異なることを回答した。また嚢胞形成の意味については内耳発生過程の耳胞形成を摸している可能性があることを示した。前庭有毛細胞の障害と機能障害の関連についての問いに対しては、メニエール病、前庭神経炎、薬剤障害などで平衡機能障害を起こした症例で病的に前庭有毛細胞の減少が報告されていることを回答した。卵形嚢を舞台としたV-CM使用の結果が球形嚢、三半規管に対しても応用できるのか、また感覚上皮のさらに中枢にある前庭神経-前庭神経核の環境整備、in vivoについての質問に対し、形態的な特徴として前庭感覚上皮は近似しており近い結果が得られるのではないかと、平衡覚の正常化という最終目標に向かうに当たり神経-神経核についての知見も増やす必要がある、内耳再生医療においてin vivoでの投与方法は克服すべきプロセスだが鼓膜-中耳-蝸牛窓経由は十分可能であると、各質問に対して適切に回答した。以上、研究成果及び公聴会の質疑応答を含めて申請者は医学博士の学位に充分値する能力を有すると評価する。

参 考 論 文

1. Behavioral and Immunohistochemical Evidence for Suppressive Effects of Goshajinkigan on Salicylate-Induced Tinnitus in Rats
Koichi Kitano, Akinori Yamashita, Taketoshi Sugimura, Tadao Okayasu, Masaharu Sakagami, Daisuke Osaki, Tadashi Kitahara, Yasuhiko Saito
Brain Science 2022 May; 12(5): 587
2. 甲状腺癌術後の気管欠損に対する耳介軟骨と頸部局所皮弁を用いた再建方法
木村 隆浩、足立 詩織、尾崎 大輔、清水 直樹、家根 旦有
日本内分泌外科学会雑誌 (2434-6535) 37 卷 4 号 Page322-326 (2020. 12)
3. 小児の耳下腺に発生した castleman 病例
三上 慎司、尾崎 大輔、岡本 英之、山中 敏彰、細井 裕司
耳鼻咽喉科臨床 (0032-6313) 107 卷 8 号 Page623-629 (2014. 08)

以上、主論文に報告された研究成績は、参考論文とともに耳鼻咽喉・頭頸部機能制御医学の進歩に寄与するところが大きいと認める。

令和5年3月7日

学位審査委員長

機能形態学

教授 和中 明生

学位審査委員

脳神経生理学

教授 齋藤 康彦

学位審査委員(指導教員)

耳鼻咽喉・頭頸部機能制御医学

教授 北原 糺