

氏名	平井美紗都
授与した学位	博士
専攻分野の名称	医学
学位授与番号	博甲第 4897 号
学位授与の日付	平成26年3月25日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科機能再生・再建科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文題目	Expression analysis of microRNAs in murine cochlear explants (マウス蝸牛培養におけるmicroRNA発現について)
論文審査委員	教授 大内淑代 教授 白神史雄 准教授 大橋俊孝

学位論文内容の要旨

固い内耳骨包内に存在する蝸牛では、新規分子による効果検討等に様々な困難を伴う。蝸牛培養はこうした問題を克服し様々な分子による変化を検討する上で重要なツールの一つであると考えられている。microRNA (miRNA) は特定の mRNA に結合し、その翻訳を抑制することで特定のタンパク質の合成を阻害する。miRNA は発生や分化、機能維持に関わるとされ、内耳でも様々な機能を持つと考えられている。今回我々は培養した蝸牛と生体内蝸牛における miRNA 発現を比較し蝸牛培養系の妥当性を検討した。【対象・方法】BALB/c マウス(E15)を使用。胎児蝸牛を剖出し、即時に冷凍処理を行う群と 37 度 5%CO₂ 条件下で 48 時間培養 (DMEM、Knockout serum replacement 5%、PenicilinG 6µg/ml) 後に冷凍処理を行う群に分けた。Total RNA 抽出カラムと PAGE 電気泳動によって miRNA を抽出しプローブを合成、miRNA アレイと反応させた。380 種類の miRNA 網羅的解析が可能となり、発現量を培養前組織と培養後組織の間で比較検討した。また、同実験を 3 回反復しその再現性を検討した。【結果・考察】抽出された miRNA について培養前組織と培養後組織との間で発現量を比較検討したところ非常に高い相関を示した ($r=0.902$)。一部の miRNA 発現量には 2 倍以上もしくは 1/2 以下の変化が見られたが、そのうち 42 種類の miRNA は 3 回の実験で変化がすべて一致し、培養系の再現性が高いことが示された。以上より、蝸牛培養は新規分子等による効果検討を研究するツールとして有用であると示した。

論文審査結果の要旨

本研究は、マウス後期胚蝸牛培養系におけるマイクロ RNA (miRNA) 発現について調べ、新規な難聴治療薬等の作用解明を念頭にその有用性について検討したものである。採取した蝸牛を培養した場合と培養しない場合、各々について miRNA のアレイ解析を行ったところ、ほとんどの miRNA が両者で同程度に発現していた。解析した miRNA の約 1 割については、両者で発現レベルに差があり、低酸素状態の培養環境を反映していると考察した。しかし、突発性難聴の治療に用いられるデキサメタゾン(Dex)の存在下で、発現レベルが変化する miRNA は明らかでなかった。メッセンジャーRNA の発現変化を調べる DNA マイクロアレイ解析では、同様な蝸牛培養系において Dex 存在下で発現レベルが変化する遺伝子群を同定しており、Dex の作用機序の一部を解明することができた。

よって、本研究者は博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。