

## 論文の内容の要旨

氏名：河野 航

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：マウス由来卵形嚢上皮培養細胞における小胞体ストレス誘導性細胞死とエクソソームの関係性  
についての検討

【背景】卵形嚢は内耳における平衡系末梢受容器の一つであり、その機能が障害されると平衡機能障害によるめまいを引き起こす。我が国では高齢化社会の進行に伴いめまいの有訴者数が増加する一方で、原因不明の平衡機能障害も一定数存在しており、その正確な病態メカニズムの解明や新規診断法および治療法の開発を行う上で既存方法以外での新たな知見が求められている。そこで本研究では、小胞体ストレス誘導性細胞死と細胞間メッセンジャーの機能を持つエクソソームの関係性に着目し、内耳前庭における細胞間情報伝達機構の存在有無について *in vitro* モデルでの検討を行った。

【方法】マウス由来卵形嚢上皮培養細胞の UB/UE-1 細胞を小胞体ストレス誘導剤ツニカマイシンで処理し、細胞生存率測定と光学顕微鏡による細胞形態の確認およびウエスタンブロット解析で細胞死誘導の評価を行った。その後、ツニカマイシン処理 UB/UE-1 細胞の培養上清から ExoQuick-TC を用いてエクソソームを含む細胞外小胞を抽出して電子顕微鏡による形態観察、ナノサイト解析、ウエスタンブロット解析によるエクソソーム特異的表面マーカーの確認を行い、未処理の UB/UE-1 細胞に抽出した細胞外小胞を曝露して細胞死誘導の評価を行った。

【結果】UB/UE-1 細胞はツニカマイシン 80 $\mu$ g/mL 48 時間処理で経時的な細胞生存率の低下を認め、処理後 12 時間で小胞体ストレスマーカーの CHOP、24 時間でアポトーシスマーカーの cleaved caspase-3 と cleaved PARP、オートファジーマーカーの LC3-II の発現増加を認めた。ツニカマイシン 80 $\mu$ g/mL 24 時間処理 UB/UE-1 細胞の培養上清から抽出した細胞外小胞は、電子顕微鏡およびナノサイト解析で二重膜様構造を持つ 100-200nm 程の小胞として観察され、エクソソーム特異的表面マーカーの CD-9 と CD-81 の発現を認めていた。また、網羅的 microRNA 解析で UB/UE-1 細胞由来の細胞外小胞はツニカマイシン処理で複数の microRNA の発現変動を認めており、それに曝露した未処理の UB/UE-1 細胞も 48 時間後に細胞生存率の低下と小胞体ストレスマーカーの CHOP、アポトーシスマーカーの cleaved caspase-3 と cleaved PARP、オートファジーマーカーの LC3-II の発現増加を認めた。

【考察】小胞体ストレス下のマウス由来卵形嚢上皮培養細胞が分泌するエクソソームは細胞間の情報伝達を行い、細胞死の連鎖誘導に関与している可能性がある。本研究の結果は、これまで不明であった内耳前庭におけるエクソソームの役割の一端を示すものであり、今後内耳障害の新規病態メカニズムの解明、診断法、治療法の開発に大きく貢献し得る。