

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 石本 晋一

本研究はラットを用いて、実験的鼓膜穿孔を作成して穿孔治癒過程に対しての各増殖因子 (KGF、basic FGF、TGF- α) およびグルココルチコイドの影響について分子生物学的手法を用いて検討したものであり、下記の結果を得ている。

1: 実験的鼓膜穿孔を作成することで鼓膜穿孔縁に多くの細胞増殖が誘導されることを抗 BrdU 抗体を用いた免疫染色により同定した。さらに穿孔縁に増殖因子を添付した群においては KGF 添付群では上皮層に、basic FGF 添付群では固有層に細胞増殖が誘導された。鼓膜において KGF は主に上皮層に、basic FGF は主に固有層の細胞増殖に関与することが示された。

2: 鼓膜穿孔治癒過程で KGF、basic FGF、TGF- α の mRNA の発現を測定したところ、KGF および TGF- α の mRNA の発現は穿孔作成後、1 日目から 3 日目まで急激な増加を示し、その後減少した。一方、basic FGF の mRNA の発現は 1 日目から緩やかに増加し 7 日まで増加を続けた。KGF、TGF- α が上皮層、basic FGF が固有層の細胞増殖を強く誘導することから上皮層の増殖が、固有層の増殖よりも先行することが示唆された。

3: 一方、グルココルチコイドの全身投与 (1mg/kg) により鼓膜穿孔縮小率及び鼓膜 0.5mm 当りの BrdU 陽性細胞数はコントロール群と比較して有意に低下した。鼓膜穿孔においてもグルココルチコイドは治癒を抑制することが明らかになった。鼓膜穿孔治癒を誘導する KGF、basic FGF、TGF- α の mRNA 発現を測定したところグルココルチコイド投与群で各 mRNA の発現が低下していたことより穿孔治癒の遅延はグルココルチコイドの増殖因子の発現抑制によることが示唆された。

4: グルココルチコイド投与の鼓膜穿孔縁に KGF、basic FGF、TGF- α の添付をおこなったところ、いずれの増殖因子添付群でもコントロール (グルココルチコイド治療、増殖因子添付なし) と比較して有意に BrdU 陽性細胞が増加し、細胞増殖が回復された。

5: グルココルチコイド投与ラットの鼓膜に増殖因子を添付した各群で、BrdU 陽性細胞数に有意差を認めず、3 種類の増殖因子間で、どの増殖因子が最も有効で

あるかということはいえなかった。しかし KGF 添付群で migration が促進され、一部に上皮層の角化を認めた。

以上、本論文はラットを用いて、鼓膜穿孔治癒において KGF、basic FGF、TGF- α が鼓膜穿孔治癒に強く関与することを明らかにした。一方、グルココルチコイドの投与により鼓膜穿孔治癒が抑制され、その原因としては治癒を促進する増殖因子の発現を抑制するためであることが証明された。そのような治癒が抑制された条件でも外因性の増殖因子の投与により、穿孔治癒が回復することを明らかにした。本研究は鼓膜穿孔治癒の病態生理の解明および臨床的応用に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。