

## 審査の結果の要旨

氏名 坂本 幸士

本研究は代表的な薬剤性嗅細胞障害モデルにおいて細胞障害の機序を明らかにするため、ラットに抗甲状腺剤メチマゾールを腹腔内投与する系にて嗅細胞障害がアポトーシス優位かネクローシス優位であるかの解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. ラットにメチマゾール 300 mg/kg を腹腔内投与することにより、投与1日後に、嗅上皮に顕著な細胞障害を誘発することができた。障害を受ける細胞成分は嗅細胞と支持細胞の両方であった。形態学的・免疫組織化学的評価では、細胞障害はアポトーシス優位である事が示唆された。投与7日後の時点でも、嗅細胞に関しては、完全には代償されておらず、細胞障害の急性期にあると考えられた。
2. メチマゾール 300 mg/kg 投与1日後に、免疫染色で活性化カスパーゼ-3、活性化カスパーゼ-9、cleaved PARP の嗅細胞における発現亢進を認め、核染色型の TUNEL 染色性を有する陽性細胞数の増加を認めた。また、カスパーゼ-3、カスパーゼ-9 活性の増加を認め、細胞質分画のチトクローム c の増加も認められた。これらのことから、メチマゾールによる嗅細胞障害はカスパーゼ-9、カスパーゼ-3 の活性化経路で媒介されるアポトーシス優位に生じている事が示唆された。
3. 前述の変化はメチマゾール投与7日後にはコントロールレベルに回帰しており、アポトーシスは終焉していると考えられた。
4. メチマゾール 300 mg/kg を腹腔内投与するに先立って、カスパーゼ-3 阻害剤、カスパーゼ-9 阻害剤を投与することにより投与1日後だけでなく投与7日後においても、形態的な細胞障害は抑制された。免疫染色での活性化カスパーゼ-3・活性化カスパーゼ-9・cleaved PARP の発現亢進、TUNEL 染色陽性細胞数の増加、カスパーゼ-3・カスパーゼ-9 活性の増加も抑制された。また、機能的にも嗅覚障害は抑制された。これらの事実も、メチマゾールによる嗅細胞障害はアポトーシス優位であることを示唆した。

以上、本論文はメチマゾールによって誘発される嗅細胞障害がカスパーゼ-9、カスパーゼ-3 の活性化経路によるアポトーシスであることを明らかにした。本

研究はこれまで未知に等しかった薬剤性嗅細胞障害の障害機序の解明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。