



Title	Protein profile of mouse endolymph suggests a role in controlling cochlear homeostasis
Author(s)	福田, 雅俊
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/101841
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	福田 雅俊
論文題名 Title	Protein profile of mouse endolymph suggests a role in controlling cochlear homeostasis (マウスにおける内リンパ液のタンパク質プロファイルは蝸牛の恒常性を制御しうる)
論文内容の要旨	
〔目 的(Purpose)〕 我が国では、一千万人が難聴に罹患しており、その原因の解明や治療法の開発は急務である。難聴の多くは内耳蝸牛の障害に依る。蝸牛には、外リンパ液と内リンパ液という 2 つの細胞外液が含まれている。感覚細胞の興奮に重要な内リンパ液は、細胞外液であるにもかかわらず、高K、低Naイオン濃度を有していることが知られている。加えて、この内リンパ液は、外リンパ液に比して+100mVの高電位を有することが特徴として挙げられる。しかし、げっ歯類の蝸牛内においてこの特殊な細胞外液はごく少量であるため、その特性の多くは不明である。そこで本研究では、生きたマウスの蝸牛から高純度の内リンパ液を収集し、プロテオーム解析を加え、内リンパ液に含まれるタンパク質を明らかにすること、またそのプロファイルを外リンパ液と比較する事を目的とした。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 方法：生きたマウスに麻酔を施し、マウスの蝸牛を剖出した。 まず、外リンパ液は既報に従い、ガラスピペットを用いることにより採取された。 その一方でマウスの蝸牛内リンパ液の採取は、内リンパ液が極めて少量であることからこれまでに報告がなかった。そこで本研究では特別な“電極 - ピペット”が用いられた。この“電極 - ピペット”では熱を加え先端を針状にしたガラス管の内部に、導電性の有機溶媒であるTDATPBCL(Tetradodecylammonium tetrakis 4-chlorophenyl borate)を一定の濃度で充填した。この物質は疎水性であると同時にカチオンとアニオンを有しており、電気を通すことが知られている。この“電極 - ピペット”を用いることにより、電気を通す電極としての役割、内容物を吸引するピペットとしての役割を同時に一本のガラス管において可能とした。 具体的には蝸牛の側壁を削り内リンパ液に満たされた空間へと続く小さな穴を作成し、この“電極 - ピペット”をセットした。そして、その電位をリアルタイムに測定しながら内リンパ液に独特の高電位たる+100mVを観測できるまで“電極 - ピペット”を刺入した。その後にはわずかな陰圧をかけ、その内容物たる内リンパ液を採取した。このようにして生きたマウスの蝸牛から高純度の内リンパ液を採取することに成功した。 成績：内リンパ液でのプロテオーム解析において、免疫とタンパク質恒常性に関わる分子を豊富に含む 301 個のタンパク質を特定した。また外リンパ液との比較において、そのタンパク質濃度が内リンパ液は半分程度の0.5mg/mLであることが分かった。そして内リンパ液にて検出されたタンパク質の約30% は、外リンパ液では検出されなかった。また、内リンパ液には α2-マクログロブリン、オステオポンチン、アポリポタンパク質D, E, Jが豊富に含まれていた。他の細胞や組織では、α2-マクログロブリン、アポリポタンパク質E, J は、細胞外の変性タンパク質を除去することに寄与しており、またオステオポンチンでは炎症における好中球の遊走に関わり免疫を活性化させることが知られている。そしてアポリポタンパク質は脂質の輸送マーカであり、脂質は細胞膜の維持に関わっている。そのため、本研究で見出したタンパク質を介して、内リンパ液は蝸牛の恒常性を維持する役割を果たしていることが想定された。	
〔総 括(Conclusion)〕 独自に開発した“電極 - ピペット”を用いることにより、生きたマウスの蝸牛内リンパ液を採取することに初めて成功した。 このサンプルから得られた知見は難聴の克服に向けて新たな視点を加えるものと期待される。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)				福田 雅俊	
論文審査担当者		(職)	氏	名	
	主査	大阪大学教授	猪俣	孝典	オシノ
	副査	大阪大学教授	岡村	康司	オシノ
	副査	大阪大学教授	島田	昌一	オシノ

論文審査の結果の要旨

本審査にて発表された論文は、社会問題となっている難聴に対して新たな切り口を示すものであった。

難聴の大きな要因の一つである内耳蝸牛、中でも感覚細胞の興奮に重要ではあるが、ごく少量しか存在しないため多くの特性が不明である内リンパ液に着目していた。

本論文では、この内リンパ液を採取するため、独自の針状ピペット“electrode-micropipette”を開発し、マウスの蝸牛から高純度の内リンパ液を収集するに至っていた。これまでにこの手法により生きた状態で生物の体液を採取した例はなく、新規性が非常に高いと言えた。

また採取した内リンパ液のタンパク質解析を行うことで、免疫とタンパク質恒常性に関わる分子を含む 301 個のタンパク質を特定していた。これはこれまで詳細が不明であった分野であり、これから研究が進むにつれ、難聴の原因の同定の助けとなり、将来的に難聴の原因に根差した治療にも繋がることが期待された。

これら新たな技術、それによる未知の体液のタンパク質組成を報告する本論文は、学位に値するものと認める。