

(第7号様式)

## 学位論文審査結果の要旨

氏名	西原 江里子
審査委員	主査 浅野 水辺 副査 小林 直人 副査 今井 浩 副査 城戸 輝仁 副査 三浦 史郎

論文名  $\mu$ CTによる耳石層の形態的評価

審査結果の要旨

### 【背景と目的】

良性発作性頭位めまい症 (Benign paroxysmal positional vertigo、以下 BPPV という) は、中年以降の女性に好発する末梢性めまい疾患である。先行研究から、閉経に伴う血中エストロゲン低下や骨粗鬆症が発症に関与することが示唆されている。例えば、両側卵巣摘出術 (bilateral ovariectomy、以下 OVX という) による骨粗鬆症の動物モデルでは、耳石の大きさが増大することが電子顕微鏡学的検討により示されている。しかし、電子顕微鏡や脱灰組織の光学顕微鏡による検討は、アーチファクトが大きく観察手技が困難であることが欠点である。そこで  $\mu$ CT を用いて OVX 後の耳石の形態的評価を行い、その有用性を検討した。

### 【方法】

8 週齢の C57 雌マウスに OVX を行い、その 2 週後及び 4 週後、8 週後に両側内耳骨包を摘出し  $\mu$ CT で内耳を撮影した。対照は偽手術を施行したマウスとした。 $\mu$ CT 撮影後に内耳骨包を脱灰、パラフィン包埋後に組織連続切片を作成し HE 染色を施し、1 個体の球形囊の連続切片から一定間隔に 10 枚の薄切切片を選んで検鏡し、Image J を用いて耳石層の断面積の和を算出した。また、 $\mu$ CT の画像から耳石層の体積を voxel 数で算出し、組織切片 10 枚から算出した耳石層の断面積の和との相関を調べた。さらに、OVX の効果を確認するため、子宮重量ならびに大腿骨骨密度を計測した。統計学的検討は Mann-Whitney U 検定或いは Pearson 相関係数で行い、 $P < 0.05$  を有意差有りとした。

## 【結果】

子宮重量ならびに大腿骨骨密度は、OVX 4 週後及び 8 週後で偽手術群と比較し有意に低下した。組織学的検討による耳石層の断面積の和は OVX 2 週後  $54037.7 \pm 4791.4 \mu\text{m}^2$ 、4 週後  $74032.6 \pm 6739.8 \mu\text{m}^2$ 、8 週後  $76551.7 \pm 1976.0 \mu\text{m}^2$  と 8 週後に増加し、偽手術群と比較すると OVX 4 週後で有意に増加していた。 $\mu\text{CT}$  の画像による耳石層の体積は OVX 2 週後  $14078.8 \pm 249.1 \text{ voxel}$ 、4 週後  $14753.9 \pm 347.4 \text{ voxel}$ 、8 週後  $14652.5 \pm 346.0 \text{ voxel}$  で、OVX4 週後及び 8 週後に増加し、偽手術群と比較すると OVX 4 週後で有意に増加していた。組織学的検討から得られた耳石層の断面積の和と  $\mu\text{CT}$  の画像による耳石層の体積は有意に相関していた ( $p=0.01$ ,  $r=0.51$ )。

## 【結論】

OVX 後に耳石層の体積が有意に増加した。 $\mu\text{CT}$  で計測した耳石層の体積は組織学的検討結果と有意に相関し、 $\mu\text{CT}$  はアーチファクトが殆どなく、耳石層全体の観察が容易で、組織学的手法のように熟練した技術が不要である。耳石の形態的評価には  $\mu\text{CT}$  が有用である。

本研究に関する公開審査会は令和 2 年 1 月 22 日に開催され、申請者は、研究内容を分かり易く明快に英語で明確に発表した。その後に、審査委員と下記の点について活発な質疑応答がなされた。

1) 耳石の形態・大きさの性差について。2) 加齢と耳石の大きさについて。3) OVX の効果判定として、血中エストロゲン濃度を用いなかった理由。4) 球形囊の耳石層を検討した理由。5) OVX 後の骨密度に sham 群と OVX 群で有意差がある一方、OVX 群間では差がない、その考えられる原因について。6) 骨密度と耳石の体積に相関はあったか。これに関する文献的報告。7)  $\mu\text{CT}$  による耳石層体積及び組織学的検討による耳石層の断面積の和の何れも 4 週後では sham 群と OVX 群で有意差があるが、8 週後には差がない。その理由について。7) 耳石器全体の  $\mu\text{CT}$  のスライス数。8)  $\mu\text{CT}$  で結果を体積でなく voxel 数で評価した理由。9)  $\mu\text{CT}$  の CT 閾値 200HU に設定した理由。10)  $\mu\text{CT}$  及び組織学的検討結果の相関における誤差要因について。11) 耳石同士の結合が緩んでいることは  $\mu\text{CT}$  で観察可能であったか。12)  $\mu\text{CT}$  による観察で個々の耳石の形態変化は認められたか。13) 耳石の形態異常を  $\mu\text{CT}$  で評価する方法についてアイデアがあるか。14) Otolin 及び Otoconin 90 発現量と加齢の関係について。15) Transient receptor potential channel vanilloid (TRPV) 6 のノックアウトまたは過剰発現動物モデルにおける耳石の検討について。15) TRPV6 の治療への応用の可能性について。16) 副甲状腺ホルモンは BPPV の治療に有効か等。申請者はこれらの質問に対して全ての確に答え、本論文関連領域の知識も十分に有していると高く評価された。

以上のことから、審査委員は申請者が本論文関連領域に対して学位授与に値する十分な見識と能力を有することを全員一致で確認し、本論文が学位授与に値すると判定した。