

## 学位論文の要約 (研究成果のまとめ)

氏名 西原 江里子

学位論文名  $\mu$ CT による耳石層の形態的評価

---

### 学位論文の要約

#### はじめに

良性発作性頭位めまい症は（以下、BPPV と略）、中年以降の女性に好発する、最も頻度の高い末梢性めまい疾患である。これまでの疫学的検討から、閉経に伴うエストロゲンの低下が疾患の発生に関与すると考えられている。骨粗鬆症モデルの一つである両側卵巢摘出術（以下、OVX と略）後に、電子顕微鏡での観察により、耳石のサイズが増大することが過去の動物実験で報告されている。しかし、電子顕微鏡や組織学的な耳石の観察は、アーチファクトが多く、手技が難しいという欠点があった。そこで、今回、我々は、OVX 後の耳石評価を  $\mu$ CT を用いて評価したので、報告する [Nishihara, 2020 : 主論文]。

#### 方法

本研究は、愛媛大学医学部の動物実験の倫理委員会によって承認されている。

実験には 8 週齢の C57 雌マウスを使用した。両側 OVX 後、2 週、4 週、8 週後に両側内耳骨包を摘出し、 $\mu$ CT で内耳を撮影した。対照群には偽手術を行い、マウスを使用した。その後、脱灰し、パラフィン包埋後、連続切片を作成し、HE 染色を行った。Image J を使用して、 $\mu$ CT の画像から、耳石層の体積を算出した。また、1 個体の球形囊の組織連続切片から均等に 10 枚を選び、その面積の総和を算出した。 $\mu$ CT より算出した耳石層の体積と、連続切片より算出した耳石層の面積の総和の相関を調べた。また、OVX 後の大腿骨骨密度を骨密度測定器を用いて測定した。

統計学的検討には、JMP を用いて、Mann-Whitney U 検定もしくは Pearson' s correlation を用い、 $p < 0.05$  を有意差有りと判定した。

#### 結果

##### 大腿骨骨密度の検討

大腿骨骨密度は、OVX 後 4 週、8 週後には偽手術群と比較し、有意に低下していた。

##### 組織学的検討

耳石層の面積の総和は、OVX 後 2 週で  $54037.7 \pm 4791.4 \mu\text{m}^2$ 、4 週で  $74032.6 \pm 6739.8 \mu\text{m}^2$ 、8 週で  $76551.7 \pm 1976.0 \mu\text{m}^2$  であり、OVX 4 週、8 週後に増加していた。偽手術群と比較すると、OVX 後 4 週で有意に増加していた ( $p < 0.05$ )。

##### $\mu$ CT での評価

耳石層の体積はOVX後2週で14078.8 ± 249.1 voxel、4週で14753.9 ± 347.4 voxel、8週で14652.5 ± 346.0 voxelであり、OVX4週、8週後に増加していた。偽手術群と比較すると、OVX4週後で有意に増加しており (p<0.05)、組織学的検討と同様の結果であった。

#### *組織と $\mu$ CT結果の相関*

組織学手検討から得られた耳石層の面積の総和と、 $\mu$ CTから得られた耳石層の体積は、有意に相関していた (p=0.01, r=0.51)。

#### **考察**

本研究により、OVX後に耳石層の体積が有意に増加すること、 $\mu$ CTがその評価に有用であることが示された。過去の動物実験により、OVXによるエストロゲン欠乏により、耳石のサイズが増大することや、耳石間の結合が緩くなることが示されている。今回の結果は、これら先行研究に合致する所見と考えられる。過去の耳石研究では組織での評価や電子顕微鏡での評価が主流であった。これらの手法は熟練した技術を要し、アーチファクトも多い。今回用いた $\mu$ CTでは、アーチファクトがほとんどなく、容易に耳石層全体を観察できる。現在の技術では、2 $\mu$ m以下の耳石は検出困難であるが、本研究で、組織学的評価と有意に相関することが示された。今後、耳石の変化を観察する実験系において、 $\mu$ CTが有用であることが示唆された。なお、この学位論文の内容は、以下の原著論文に既に公表済である。

主論文 : Nishihara E: Evaluation of the structure of the otoconial layer using micro-computed tomography. Auris Nasus Larynx, 2020 DOI: 10.1016/j.anl.2020.02.013