

学位論文審査結果の要旨

氏名	中田 貴大
審査委員	主査 浅野 水辺 副査 白石 敦 副査 青戸 守 副査 森野 忠夫 副査 越智 雅之

論文名

エストロゲン欠乏による耳石層変化に対するホルモン治療の効果

審査結果の要旨

【背景と目的】

疫学的研究などにより良性発作性頭位めまい症（BPPV）発症に閉経に伴うエストロゲン低下が関与することや、酸化ストレスとの関連が示唆されている。また、両側卵巣摘出（OVX）による閉経後骨粗鬆症モデル動物では耳石形態変化や耳石層の体積増加が報告されている。

先行研究では OVX による影響は検討されているが、骨粗鬆症治療薬の投与によって OVX の影響が変化するかを検討した報告はない。そこで、閉経後骨粗鬆モデル動物に骨粗鬆症治療薬を投与することで耳石層変化にどのような影響があるかを明らかにし、OVX によって耳石層が変化する機序について検討した。

【材料と方法】

8週齢の C57BL/6 マウス（female）を用い、OVX 手術もしくは偽手術（sham）を行い、OVX マウスはエストラジオール（E2）投与群、選択的エストロゲン受容体モジュレーターであるラロキシフェン（RAL）投与群、偽薬群の3群に分け、偽薬を投与した sham 群を対照とした。手術より4週間後に安楽死させ、子宮重量と大腿骨骨密度を測定し、OVX 手術の影響と薬剤投与の効果を確認した。さらに内耳骨包を摘出し、 μ CT を用いて $6\mu\text{m}$ の厚さで卵形囊耳石層を撮影した、撮影した画像から各スライスの耳石

層面積を算出、全スライスの耳石層面積の合計を耳石層体積とした。

卵形囊組織の RNA シーケンスにより OVX と投薬による遺伝学的変化を検討した。卵形囊組織を抗エストロゲン受容体 α (ER α) 及び抗 4-hydroxynonenal (4-HNE) 抗体を用いて免疫組織化学染色を行い OVX と投薬による影響を調べた。

【結果と考察】

OVX 偽薬群で子宮重量と骨密度低下を認め、OVX の影響が確認でき、E2 投与群及び RAL 投与群で骨密度の有意な増加を認めた。RAL 投与群では sham 群より有意に子宮重量が低下した。これらの結果より、投与薬剤の効果が確認できた。

OVX 偽薬群では耳石層体積の有意な増大を認め、E2 投与群と RAL 投与群では耳石層体積の増大が抑制された。卵形囊の RNA 解析にて、OVX 偽薬群で *Gstp2* 遺伝子の有意な発現低下が認められた。免疫組織化学染色にて、OVX 偽薬群で ER α と 4-HNE の発現増加が認められた。*Gstp2* 遺伝子、ER α 、4-HNE 発現のいずれも E2 投与群と RAL 投与群では sham 群と差が無かった。

Gstp2 遺伝子がコードするグルタチオントランスフェラーゼ Pi2 は酸化ストレスから細胞を防禦する働きがあるが、グルタチオンを含む抗酸化物質の減少などによる抗酸化能の低下がエストロゲン欠乏により誘発される酸化ストレス増大を来し、耳石層形態変化に影響しており、これが E2 や RAL によって抑制されることが示唆された。

【結論】

エストロゲン欠乏によって引き起こされる耳石層変化が E2 ならびに RAL の投与によって抑制され、その機序に酸化ストレス軽減が関与していることが示唆された。

本研究に関する公開審査会は、令和 5 年 1 月 27 日に開催され、申請者は研究内容を英語で明確に発表した。その後、審査員と下記の点について活発な質疑応答がなされた。

1) 薬剤投与の方法と量、投与量をヒトで換算すると如何か。2) 8 週齢マウスはヒトで何歳相当か。高齢マウスを選ばなかった理由。3) μ CT での耳石層体積の算出方法。4) 免疫染色での ER 強発現はネガティブ・フィードバックによるか。OVX 後より長期に観察した場合は如何か。5) 耳石タンパク及び ER 関連の RNA 発現に差がなかったことの考察。6) 4-HNE の増加は酸化ストレスの単なる指標か、或いは病態を反映し BPPV の原因に関係するか。7) 酸化ストレスは耳石にどんな変化を起こすか。8) 耳石タンパクに関する最新の知見。9) BPPV の症状消褪時には耳石はどうなるのか。耳石変化は可逆的か。10) 治癒例と難治例で患者背景に差があるか。11) BPPV の最新の治療法について。12) 臨床応用への展望、予防的投与の有効性、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を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。