

第 8 号様式

論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)	氏名	片桐 佳明
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論 文 題 目 Long-term administration of vasopressin can cause Ménière's disease in mice. (バゾプレッシン長期投与はマウスにメニエール病を起こす)			
論文審査担当者 主 査 教 授 酒井 規雄 審査委員 教 授 橋本 浩一 審査委員 教 授 松本 昌泰			
〔論文審査の要旨〕 1938 年の山川と Hallpike によるメニエール病（メ病）患者における内リンパ水腫の発見以来、メ病の原因は内リンパ水腫（EH）とされている。しかし、EH の成因については現在も不明な点が多い。これまでの研究で、メ病の発症には内リンパ嚢の機能不全や閉塞、抗利尿ホルモンであるバゾプレッシン（VP）などの関与が分かっている。本研究では、メ病の成因を解明するために、マウスを用いて、①VP 投与期間と EH の程度の関係、②VP による EH と内リンパ嚢・管閉塞モデルとの比較、③コルチ器、ラセン神経節の変性と VP 投与中止による EH の回復、④プロスタグランジン FP 受容体の選択的アゴニストであるラタノプロストがメ病の新たな治療薬になる可能性について検討した。 研究にはプライエル反射正常の 8 週齢マウスを用いた。動物を 7 群にわけ、それぞれ、CBA マウスに VP 50 μg/kg を 5 日間皮下投与（1 群）、2 週間投与（2 群）、ICR マウスに VP 50 μg/kg を 2 週間投与（3 群）、8 週間投与（4 群）したものを作成した。回復過程を検討する目的で、VP2 週間投与後 6 週間（5 群）、8 週間投与後 8 週間後（6 群）のマウスを作成した。また、めまい発作の誘発を目的としてエピネフリン（100ng/ml, 0.05-0.1 ml）をコントロール群と 1-4 群のマウスの左鼓室内に投与した。さらにラタノプロストの効果を見る目的で CBA マウスに VP 50 μg/kg 皮下投与と同時に左中耳内にラタノプロストを 0.1ml（50 μg/ml）5 日間投与した（7 群）。これらのマウスはネンブタール深麻酔下に断頭、側頭骨を摘出、4%パラホルムアルデヒドにて固定後、EDTA で脱灰、エタノール系列にて脱水後、水溶性レジンにて包埋した。			

その後、通常の方法で切片を作製し、光学顕微鏡にて形態学的観察を行った。

すべてのマウスで VP 投与により EH が形成され、その程度は投与期間に比例して高度になった。また、ICR マウス (3・4 群) は CBA マウス (1・2 群) より EH 形成が高度であった。VP8 週間投与マウス (4 群) は、ライスネル膜が前庭階に張り出し骨壁に付着するほどの高度 EH を形成し、外有毛細胞および、ラセン神経節細胞は一部消失していた。前庭器において EH は一般的に後半規管膨大部で最も強く認められた。また、1 群と 2 群では球形嚢と後半規管膨大部で EH が認められたのに対し、3 群と 4 群ではすべての部位で EH が確認できた。VP 投与マウスの内リンパ嚢では、内腔が拡張し、上皮の細胞は菲薄化し、細胞側間隙 (LISs) が狭小化していた。

蝸牛、卵形嚢、球形嚢、後半規管膨大部、内リンパ嚢のすべてにおいて、2 週間あるいは 8 週間 VP を投与しても投与を中止することで EH は改善した。しかし、VP8 週間投与後 8 週間経過した 6 群では EH は改善したが、外有毛細胞とラセン神経節の変性は残存していた。

4 群の動物の左鼓室内にエピネフリンを注入することで可逆的な前庭機能障害を認めた。

7 群においてラタノプロストを投与することで卵形嚢、球形嚢、後半規管膨大部において VP による EH の発現が抑制できた。

本研究では、メ病モデル動物の作成に VP を用いた。VP は動物に EH を形成し、メ病患者でも血中 VP 濃度が上昇していることが知られている。しかし、これまでの報告にある VP により形成される EH は比較的小さく、内リンパ嚢閉塞モデルで認められる高度の EH は形成されなかった。この理由を解明するため、今回 VP 投与期間を延長したモデルを作成した。その結果、VP8 週間連続投与で高度の EH が作製できた。これまでの内リンパ嚢閉塞モデルでも高度の EH の発現には長期間かかることが報告されており、VP 投与動物でも内リンパ嚢閉塞モデルと同様な EH を形成できると考えられた。さらに、このような動物では蝸牛有毛細胞や、蝸牛神経節細胞の変性などの所見も認められた。また、エピネフリンの投与により、可逆的な平衡機能異常を示すことも明らかになり、VP 長期投与により、より優れたモデル動物の作製が可能となった。一方、VP2 週間投与での EH は VP 投与中止により改善すること、VP8 週間投与による EH も VP 投与中止により改善するが、蝸牛有毛細胞や神経節の障害は残存することから、早期の VP 制御により内耳は正常に回復すること、VP の高値が長期間続くと永続的な障害をきたすことが明らかとなった。

本研究結果から、メ病の治療では早期に VP 値を正常化させ、言い換えればストレス軽減を行い、聴力の回復を図ることが重要であることが示唆された。また、ラタノプロストはメ病の新たな治療薬になる可能性が考えられた。

以上の結果から、本論文はメニエール病の成因の解明および新たな治療法の研究の発展に寄与するものと思われる。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

第 9 号様式

最 終 試 験 の 結 果 の 要 旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)	氏名	片桐 佳明
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・ 2 項該当		
論 文 題 目 Long-term administration of vasopressin can cause Ménière's disease in mice. (バゾプレッシン長期投与はマウスにメニエール病を起こす)			
最終試験担当者 主 査 教 授 酒井 規雄 審査委員 教 授 橋本 浩一 審査委員 教 授 松本 昌泰			
〔最終試験の結果の要旨〕 判 定 合 格 上記 3 名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成 27 年 5 月 7 日の第 59 回広島大学研究科発表会（医学）及び平成 27 年 5 月 11 日本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。 1 前庭機能障害を誘発するアドレナリンの作用機序 2 メニエール病の動物モデル作製にバゾプレッシンを使用する妥当性 3 バゾプレッシンの投与方法に関する妥当性 4 バゾプレッシン以外の薬剤で内リンパ水腫を作製する可能性 5 バゾプレッシン以外のメニエール病発症機序 6 メニエール病で血中バゾプレッシンが上昇する理由 7 PGF2α 作動薬で内リンパ水腫が改善する機序 8 内リンパ囊のターンオーバーと内リンパ水腫の関連性 9 げっ歯類以外の動物モデルの可能性 これらに対して極めて適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。			