

論 文 内 容 要 旨

Development of a rat model with lumbar vertebral endplate lesion

(腰椎椎体終板障害を有するラットモデルの作成)

European Spine Journal, 2022, in press.

主指導教員：安達伸生教授

(医系科学研究科 整形外科学)

副指導教員：大段 秀樹教授

(医系科学研究科 消化器・移植外科学)

副指導教員：味八木 茂講師

(広島大学病院 未来医療センター)

森迫 泰貴

(医歯薬学保健学研究科医歯薬学専攻)

【背景】腰痛の年間有病率は22～65%、生涯有病率は70～85%と高い数値を示しており、現代社会における重要な健康問題と考えられている。腰椎椎間板変性は腰痛の要因と報告されており、特に重度の椎間板変性を有する患者の多くは腰痛を訴えている。臨床的に重度の椎間板変性と椎間板内の空隙には関連があることが報告されており、空隙を有する椎間板に隣接する椎体終板障害は腰痛と関連していることが報告されている。しかし、椎体終板障害の病態生理は未だ解明されていないことが多く、その解明には動物モデルが必要と考える。過去の報告には椎間板変性に焦点を当てた動物モデルは認められるが、椎体終板障害に焦点を当てた動物モデルが少なく、ラットの腰椎椎体終板障害モデルはない。

【目的】重度の椎間板変性を模倣したラットを用いて腰椎椎体終板障害モデルを作成し、画像評価、疼痛関連行動評価および組織学的評価を行い、椎体終板障害の病態生理を解明すること。

【方法】8週齢の雌性のSDラットを使用。経腹膜的に前方からL4/5椎間板を搔爬した椎体終板障害（End Plate Lesion）群（以下EPL群）とL4/5椎間板の露出のみを施行したsham群を作成した。EPL群とsham群の処置後1, 4, 8, 12週でMRI（4.7T）と自発行動（grooming, locomotion, immobilization, minor motion, standing）の時間を評価し、さらに処置後4, 12週でCTと組織学的評価を施行した。MRIではT1強調像およびT2脂肪抑制像の矢状断を評価した。CTでは椎体板から100 μ mのBV/TV（bone volume/tissue volume）を測定した。組織学的評価はSafranin-O染色を施行し、椎体終板の加齢に伴う組織学的変化をスコアにしたBoosスコアを用いて椎体終板障害の程度を評価した。また免疫染色では疼痛関連ペプチドであるCGRPの免疫染色を施行し、椎体終板の周辺から無作為に選択した6つのフィールド（各500 \times 500 μ m）の面積に対するCGRP陽性面積の割合を評価した。また疼痛との関連が報告されており、骨代謝にも影響を与える破骨細胞を評価するためTRAP染色を施行した。椎体軟骨終板から100 μ mの距離で無作為に選択した6つのフィールド（各200 \times 200 μ m）内のTRAP陽性細胞数を数え、破骨細胞の評価を施行した。

【結果】MRIによる画像評価ではsham群に変化を認めなかったが、EPL群では処置後4週より椎体終板の不整を認め、処置後8週よりT1強調像とT2脂肪抑制像で椎体終板に低信号領域を認めた。またCTによるBV/TVの評価では処置後4週の時点ではEPL群とsham群に有意差は認めなかったが、処置後12週時点ではEPL群がsham群と比較して有意に高値となった。行動学的評価では処置後12週時点でEPL群はsham群と比較してgrooming時間が有意に長く、locomotion時間・standing時間が有意に短かった。組織学的評価では処置後12週のEPL群が処置後4週・12週のsham群や処置後4週のEPL群と比較してBoosスコアが有意に高値であり、高度に椎体終板が障害されていた。椎体終板周囲のCGRP陽性の割合および成熟したTRAP陽性細胞は処置後4週、12週ともEPL群でsham群より有意に発現していた。

【考察】本研究では腰椎椎間板を搔爬し、重度の椎間板変性を有するラットを模倣した。このラットモデルはMRI、CTおよび組織学評価で経時的な椎体終板の変化を示し、腰痛と関連する重度の椎間板変性と椎体終板の骨硬化が併存する状態を再現した。ラットが疼痛を自覚しているかを判断することは難しいが、本研究のラットモデルは自発行動に変化を認め、この行動の変化はOlmakerらが報告したラットの痛みに関連する自発行動にも当てはまっており、本研究のラットモデルが疼痛を感じていたと考える。また疼痛関連因子であるCGRPや成熟した破骨細胞がEPL群の椎体終板周囲に多く発現しており、これも本研究のラットモデルが疼痛を感じていた可能性を示唆している。以上から我々は本研究の手技により腰椎椎体終板障害を有するラットモデルを作成することに成功したと考える。このモデルは椎体終板障害の病態解明および腰痛の新たな治療戦略に貢献することが期待される。