

## 論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 ( 医学 )	氏名	森迫 泰貴
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目 Development of a rat model with lumber vertebral endplate lesion (腰椎椎体終板障害を有するラットモデルの作成)			
論文審査担当者			
主 査	教授 池上 浩司	印	
審査委員	教授 相澤 秀紀		
審査委員	准教授 吉野 敦雄		
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>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の一つと報告されており, 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形成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も報告されている。しかし, 椎体終板障害の病態生理には未解明な点が多く, その解明には動物モデルが必要と考えられる。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。</p> <p>上述の背景をもとに本論文では, ラットに対して重度の椎間板変性を引き起こし, 画像評価, 疼痛関連行動評価および組織学的評価を行い, 腰椎椎体終板障害動物モデルの作成が試みられた。</p> <p>8 週齢の雌性 SD ラットを対象に, 腹側から経腹膜的に 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術した sham 群が作成された。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)の時間が評価され, さらに処置後 4, 12 週で CT と組織学的評価が実施された。MRI では T1 強調像および T2 脂肪抑制像の矢状断像で評価がなされた。CT では椎体終板から 100 <math>\mu\text{m}</math> の深さにおける骨容積組織容積比 (bone volume/tissue volume: BV/TV) が測定された。組織学的評価では Safranin-O 染色が実施され, 椎体終板の加齢に伴う組織学的変化をスコア化した Boos スコアを用いて椎体終板障害の程度が評価された。また免疫染色では疼痛関連ペプチドである CGRP の免疫染色が実施され, 椎体終板の周辺から無作為に選択された 6 つの視野(各 500<math>\times</math>500 <math>\mu\text{m}^2</math>)の面積に対する CGRP 陽性面積の割合が定量評価された。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の数を評価するため TRAP 染色が実施された。椎体軟骨終板から 100 <math>\mu\text{m}</math> の深さで無作為に選択された 6 つの視野(各 200<math>\times</math>200 <math>\mu\text{m}^2</math>)内の TRAP 陽性細胞数が計測された。</p> <p>MRI による画像評価では sham 群に変化は認められなかったが, EPL 群では処置後 4 週以降に椎体終板の不整が認められ, 処置後 8 週以降に T1 強調像と T2 脂肪抑制像で椎体終板に低信号領域が認められた。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 群の間に有意差は認められなかったが, 処置後 12 週時点において EPL 群の BV/TV 値が 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 時間および 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 週および 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 陽性領域の割合および成熟した TRAP 陽性破骨細胞は処置後 4 週, 12 週とも EPL 群において sham 群と比較して有意に増加していた。</p> <p>本論文では, 腰椎椎間板の搔爬による椎間板重度変性ラットについて複数の視点からモデル作成の成否が評価されている。腰椎椎間板を搔爬されたラットは 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</p>			

骨硬化が併存する状態を再現している。ラットが疼痛を自覚しているかの判断は難しいが、作成された EPL 群ラットは自発行動に変化を示し、観察されたそれらの行動の変化は Olmarker らが報告した痛みに関連するラットの自発行動とも合致しており、本論文の EPL 群ラットが疼痛を感じていたと強く考えられる。また疼痛関連因子である CGRP の発現上昇や成熟した破骨細胞の増加が EPL 群ラットの椎体終板周囲で観察されており、本論文で作成を試みたラットモデルが疼痛を感じていた可能性をさらに支持している。

以上のとおり、経腹膜的腰椎椎間板搔把施術により腰椎椎体終板障害を有するラットモデルの作成に成功したと考えられる。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ことから本論文は臨床的に高く評価される。

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。