

論文内容要旨

Development of a novel animal model of lumbar vertebral endplate lesion by intervertebral disk injection of monosodium iodoacetate in rats

(Monosodium iodoacetate を用いたラット腰椎椎体終板障害モデル)

European Spine Journal, 2024, 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：味八木 茂講師

(広島大学病院 未来医療センター)

副指導教員：砂川 融教授

(医系科学研究科 上肢機能解析制御科学)

丸山 俊明

(医系科学研究科 医歯薬学専攻)

【目的】腰椎椎体終板障害は腰痛の原因となることが臨床研究にて報告されているが、基礎研究では腰椎椎体終板障害に着目した研究は少なく、病態は未だ不明な点が多い。従って、腰椎椎体終板障害の動物モデル作成は椎体終板障害の病態解明に重要である。本研究では、解糖系の GAPDH 阻害により軟骨細胞のアポトーシスを引き起こすことが知られている monosodium iodoacetate (MIA) をラット腰椎椎間板に注入することで腰椎椎体終板障害モデルを作成し、疼痛関連行動、 μ CT、各種組織学的評価をおこなった。

【方法】実験動物は生後 12 週齢の SD ラットを用いた。経腹膜アプローチにて L3/4, L4/5, L5/6 腰椎椎間板へ到達し、L4/5, L5/6 椎間板内髓核に生理食塩水（コントロール群）、MIA 0.5mg（MIA 0.5mg 注入群）、MIA 1mg（MIA 1mg 注入群）をそれぞれ注入し、L3/4 椎間板を Sham とした。術後 3, 6, 8, 12 週時にオープンフィールドテストを行い疼痛関連行動の評価を行った。また、術後 3, 6, 12 週時に μ CT 撮影、Safranin-O 染色、蛍光免疫染色、TRAP 染色を行って椎体終板を観察、評価した。 μ CT では Bone volume/tissue volume (BV/TV), Trabecular thickness (Tb.Th), Bone mineral density (BMD) を評価した。Safranin-O 染色では Lai らのスコアリング（椎間板スコア）を用いて椎間板変性を、Boos らのスコアリング（終板スコア）を用いて終板障害を評価し、椎間板高を計測した。統計学的検討は Mann-Whitney test, Tukey-Kramer test を用い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

【結果】歩行距離は、コントロール群と比較して MIA 各注入群で術後 8 週より有意に減少していた。立ち上がり回数は、コントロール群と比較して MIA 0.5mg 注入群で術後 6 週、MIA 1mg 注入群で術後 3 週から有意に減少しており、術後 3, 6, 8 週で MIA 0.5mg 注入群より MIA 1mg 注入群が有意に減少していた。 μ CT では、MIA 各注入群で術後 6 週から椎体終板の不整がみられ、術後 12 週かつ MIA 1mg 注入群でより高度な不整が認められた。BV/TV, Tb.Th, BMD は、コントロール群と比較して MIA 各注入群にて術後 6, 12 週で有意に増加していた。BV/TV, Tb.Th は術後 6 週で、BMD は術後 12 週で MIA 0.5mg 注入群より MIA 1mg 注入群が有意に増加していた。Safranin-O 染色では、術後 12 週で MIA 0.5mg, MIA 1mg 注入群ともに椎体終板が菲薄化、成長板が消退、椎間板髓核が癩痕化していた。椎間板スコアは、Sham 群と比較してコントロール群で有意に高かった。椎間板スコアと終板スコアはコントロール群と比較して MIA 0.5mg, MIA 1mg 注入群ともに各週で有意に高かった。椎間板スコアは術後 3 週で、終板スコアは術後 12 週で MIA 0.5mg 注入群より MIA 1mg 注入群が有意に高かった。椎間板高はコントロール群と比較して MIA 0.5mg, MIA 1mg 注入群ともに各週で有意に高く、術後 3, 6 週で MIA 0.5mg 注入群より MIA 1mg 注入群が有意に高かった。TRAP 染色では、コントロール群と比較して MIA 0.5mg 注入群で術後 6 週、MIA 1mg 注入群で術後 3 週から椎体終板の TRAP 陽性細胞数、TRAP 陽性多核細胞数ともに減少していた。免疫染色では、術後 6, 12 週で MIA 各注入群にて椎体終板の CGRP が有意に増加し、術後 12 週では MIA 0.5mg 注入群より MIA 1mg 注入群で有意に CGRP が増加していた。

【考察】MIA を腰椎椎間板内髓核に注入することにより、疼痛関連行動に変化がみられ、 μ CT、各種組織学的評価で腰椎椎間板、椎体終板の経時的な変化を観察する事ができた。疼痛

関連行動に関しては、立ち上がり回数が歩行距離と比較してより術後早期から有意に減少しており、腰椎荷重による疼痛が影響していると考えられた。BV/TV, Tb. Th, BMD の増加は椎体終板周囲の骨硬化を示唆しており、疼痛と関連していると考えられた。また、本研究では MIA 注入群で椎体終板周囲の TRAP 陽性細胞は有意に減少していたが、CGRP は有意に増加していた。CGRP は疼痛関連ペプチドであり、椎体終板由来の疼痛に関与していると考えられた。TRAP 陽性細胞は MIA が椎体終板周囲に浸潤した結果、減少した可能性がある。

【結論】MIA は濃度を調整することで様々な程度の椎体終板障害を作成することが可能であり、腰椎椎体終板障害の病態解明に有用なモデルとなりうる。