

## 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	丸山 俊明
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 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)			
論文審査担当者			
主査	教授	池上 浩司	印
審査委員	教授	三上 幸夫	
審査委員	講師	兒玉 祥	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>腰痛はその生涯有病率が 70-80%であり，多くの人が悩まされる現代社会における重要な健康問題の一つと考えられている。腰椎椎間板変性は腰痛の原因の一つとされており，特に重度の変性を来すほど腰痛を高率に発症する。重度の腰椎椎間板変性は腰椎椎体終板障害を引き起こすことがわかっている。さらに，臨床研究において画像上の椎体終板障害は腰痛と強く関連していることが報告されている。一方で，腰椎椎体終板障害に着目した基礎研究は少なく，病態について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は椎体終板障害の病態解明に重要であると考えられる。これらの背景をもとに本論文では，軟骨細胞のアポトーシスを引き起こす解糖系酵素 GAPDH の阻害剤 monosodium iodoacetate (MIA) を腰椎椎間板に注入することで腰椎椎体終板障害動物モデルの作製が試みられた。</p> <p>動物モデルの対象として生後 12 週齢の雌 SD ラットが用いられた。経腹膜アプローチにより L4/5 および L5/6 椎間板内髄核に生理食塩水（コントロール群），MIA 0.5 mg（MIA 0.5 mg 注入群），あるいは MIA 1 mg（MIA 1 mg 注入群）がそれぞれ注入され，L3/4 椎間板を Sham として比較検討が行われた。術後 3, 6, 8, 12 週時にオープンフィールドテストが行われ，疼痛関連行動が評価された。また，術後 3, 6, 12 週時に <math>\mu</math>CT 撮影，Safranin-O 染色，蛍光免疫染色，および TRAP 染色が行われ，椎体終板の状態が評価された。<math>\mu</math>CT では Bone volume/tissue volume (BV/TV)，Trabecular thickness (Tb.Th)，Bone mineral density (BMD) が評価された。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の，Boos らのスコアリング（終板スコア）を用いて終板障害の程度が評価され，くわえて椎間板厚も計測された。統計学的検討は <math>p &lt; 0.05</math> を有意差ありとして Mann-Whitney test, Tukey-Kramer test を用いて行われた。</p> <p>オープンフィールドテストでは，歩行距離が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 0.5 mg 注入群で術後 6 週，MIA 1 mg 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 0.5 mg 注入群より MIA 1 mg 注入群において有意に減少していた。<math>\mu</math>CT 画像では，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 1 mg 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 各注入群において術後 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 0.5 mg 注入群より MIA 1 mg 注入群において有意に増加していた。Safranin-O 染色では，術後 12 週で MIA 各注入群において椎体終板の菲薄化，成長板の消退，椎間板髄核の癭痕化が観察された。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 各注入群において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</p>			

12 週で MIA 0.5 mg 注入群より MIA 1 mg 注入群において有意に高かった。椎間板厚はコントロール群と比較して MIA 各注入群において各週で有意に大きく、術後 3, 6 週で MIA 0.5 mg 注入群より MIA 1 mg 注入群において有意に大きかった。TRAP 染色では、コントロール群と比較して MIA 0.5 mg 注入群で術後 6 週, MIA 1 mg 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 各注入群において椎体終板の CGRP が有意に増加し、術後 12 週では MIA 0.5 mg 注入群より MIA 1 mg 注入群で有意に CGRP が増加していた。

本論文の結果をまとめると、MIA を腰椎椎間板内髄核に注入することにより疼痛関連行動が惹起され、 $\mu$ CT, 各種組織学的評価より腰椎椎間板, 椎体終板の経時的な変性・障害が示された。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術後のより早期から有意に減少しており、腰痛にみられる腰椎荷重による疼痛の発生が再現されていると評価できる。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、椎体終板障害の形態学的特徴が再現されていると評価できる。椎間板スコア, 終板スコアは MIA 濃度・時間依存的に増加しており、これは MIA の濃度を調整することで重症度の異なる椎間板変性, 椎体終板障害を作製可能であることを示している。また CGRP は疼痛関連ペプチドであり、MIA 注入群における CGRP の有意な増加は椎体終板由来の疼痛を示唆していると考えられた。TRAP 陽性細胞の減少は臨床像とやや一致しないが、これは MIA が椎体終板周囲に浸潤した結果である可能性が考えられる。

以上のとおり、MIA を腰椎椎間板内髄核に注入することで腰椎椎体終板障害の動物モデルが作製できること、さらに MIA 濃度を調整することで重症度の異なる椎体終板障害を作製することが可能であり、腰椎椎体終板障害の病態解明および腰痛の新たな治療戦略創出への貢献が期待されることから本論文は高く評価される。

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。