

# 学位論文の要旨

三 重 大 学

所 属	三重大学大学院医学系研究科 甲 生命医科学専攻 臨床医学系講座 運動器外科学・腫瘍集学治療学分野	氏 名	須藤 隆夫 <small>すどう たかお</small>
主論文の題名 Intradiscal injection of monosodium iodoacetate induces intervertebral disc degeneration in an experimental rabbit model			
主論文の要旨 [目的] ヒト椎間板変性を模倣する動物モデルの確立は、椎間板変性機序の解明や新しい椎間板治療の開発のために重要である。Monosodium iodoacetate (MIA)は、濃度・時間依存的に進行する変形性膝関節症の動物モデル作製のために、ラット膝関節腔内へ投与する薬剤として使用されている。本研究の目的は、家兎椎間板内へ MIA を注入することで生じる椎間板の組織変性を単純 X 線像、micro-computerized tomography (micro-CT)、magnetic resonance imaging(MRI)および組織学的に評価し、新たな椎間板変性動物モデルとして確立させることである。  [方法] NZW 種家兎(雌、16 週齢)24 羽を用いた。全身麻酔下、透視下で経皮的に造影剤に溶解させた MIA を 31G 針とマイクロシリンジを用いて椎間板内へ注射した(L2/3: 0.01 mg, L3/4: 0.1 mg, L4/5: 1.0 mg)。L1/2 は造影剤のみを投与し、L5/6 は無穿刺対照群とした。MIA 注入後 2, 4, 8, 12 週時点で各 6 羽ずつ屠殺し、3 羽で micro-CT 解析を行い、残りの 3 羽を MRI 解析した。 1. 単純 X 線像 24 羽すべてを対象とし、MIA の注射前から屠殺時まで、2 週毎に腰椎側面像の X 線撮影を行い、各椎間板高の推移を計測、評価した。 2. micro-CT 12 羽から得られた脊柱の micro-CT を撮影した。micro-CT 画像から各椎間板の上下終板を含めた 3 次元画像を再構築し、終板間距離の実測値から 3 次元的椎間板高(3D 椎間板高)を測定した。3D 椎間板高の変化は、各終板を 5 領域(前方線維輪、右側方線維輪、左側方線維輪、髄核、後方線維輪)に分け評価した。 3. MRI 12 羽から得られた脊柱の MRI 撮影(T2-mapping 法)を行い、椎間板領域の T2 値を定量化した。			

#### 4. 組織学的評価

全 24 羽から得られた各椎間板の組織標本を作製し、Hematoxylin-Eosin (HE)および Safranin-O 染色を行い、組織学的変化を観察した。また、椎間板組織変性度スコアにて組織変性度の半定量的評価を行った。また、髄核領域における生存髄核細胞数の計測を行った。

##### [結果]

1. MIA 注入を行った L2/3(MIA 0.01 mg)、L3/4(MIA 0.1 mg)、L4/5(MIA 1.0 mg)の各椎間板高は経時的な低下を認め( $P < 0.01$ )、L1/2(造影剤のみ)と比較しても有意に低下していた( $P < 0.01$ )。L3/4、L4/5 は L2/3 と比較して有意に椎間板高が低下した。
2. 3D 椎間板高は、MIA を注射した各椎間板の主に髄核および後方線維輪領域で、経時的な低下を認めた。造影剤のみ注入した L1/2(造影剤のみ)の椎間板高は経時的な変化に乏しかった。
3. 各椎間板の T2 値は経時的に低下したが( $P < 0.01$ )、L1/2(造影剤のみ)と L5/6(無穿刺対照群)の T2 値に有意な変化は認めなかった。L4/5(MIA 1.0 mg)の T2 値は L1/2 と比較して有意に低下した( $P < 0.01$ )。
4. 組織学的評価にて MIA 注入椎間板では、髄核細胞の減少や細胞外基質の凝集、線維輪構造の破綻、ならびに髄核細胞のクラスター形成など、ヒト椎間板の変性過程に類似した変化が観察された。椎間板組織変性度スコアは、MIA 注入椎間板において経時的な増加(組織変性の進行)を認めた。注射後 12 週の時点で、L1/2(造影剤のみ)と比較して L2/3(MIA 0.01 mg)で 40.6%、L3/4(MIA 0.1mg)で 19.1%、L4/5(MIA 1.0mg)で 2.5%まで生存髄核細胞数は減少していた。

##### [結論]

MIA の家兎椎間板内注入により生じる椎間板変性を単純 X 線、micro-CT、MRI および組織像にて評価を行った。MIA 注入椎間板は経時的、濃度依存的に進行する組織変性を認め、その変化はヒト椎間板変性の過程と類似するものであった。MIA の濃度を選択することで、異なる程度の椎間板変性動物モデルが作製可能であり、薬物治療や細胞移植など様々なアプローチによる椎間板治療の開発に有用である可能性を考えた。