

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	長谷川 眞栄 ^{はせがわ まさひろ}
<p>主論文の題名</p> <p>Regenerative effects of platelet-rich plasma releasate injection in rabbit discs degenerated by intradiscal injection of condoliase</p> <p>主論文の要旨</p> <p>【背景】椎間板は、中央のゼラチン状の髄核とその周囲の線維輪からなり、脊椎の正常な機能に不可欠である。腰椎椎間板ヘルニア（LDH）は、腰痛や下肢痛の原因となる最も一般的な脊椎変性疾患の一つであり、患者の日常生活動作に大きな影響を及ぼす。LDH は主に保存的に治療され、多くの患者は 6～12 週間以内に症状が軽快するが、保存的治療抵抗性の症例では手術が推奨される。椎間板切除術のような外科的介入は、神経症状が長引く患者に対してより早い症状の回復をもたらすが、一方、術後の髄液漏、神経根障害などの合併症のリスクもある。</p> <p>近年、コンドリアーゼによる椎間板髄核融解療法が、LDH の治療に用いられている。コンドリアーゼは、髄核に豊富に存在するプロテオグリカンを構成するコンドロイチン硫酸やヒアルロン酸を分解する多糖分解酵素である。コンドリアーゼは、日本で新たに承認された薬剤であり、LDH の保存的治療後に症状の回復が不十分な患者に対する新しい選択肢となっている。近年、コンドリアーゼ注入療法の安全性と LDH に伴う神経症状の有意な改善が報告されている一方、椎間板高の低下、椎間板変性の進行、および腰痛との関連も報告されている。</p> <p>多血小板血漿（platelet-rich plasma, 以下 PRP）は、血小板、成長因子が高濃度に凝集されており組織修復を促進するため、臨床的に使用されている。我々は活性化 PRP から抽出した上清（PRP releasate、以下 PRPr）が椎間板細胞の基質代謝を著しく促進し、家兎椎間板穿刺モデルの椎間板高が回復することを報告してきた。そこで我々は、PRPr の椎間板内投与がコンドリアーゼによって誘導された変性椎間板を再生する可能性があるかと仮定した。本研究の目的は、コンドリアーゼ注入後に変性した家兎椎間板における PRPr 注入の椎間板再生効果を評価することである。</p> <p>【方法】ニュージーランド白色家兎（11 羽、16 週齢、雌）を本研究に使用した。家兎の下大静脈から新鮮血（25ml）を採血し、2 段階遠心分離法にて PRP を作製した。全血および PRP 中の血球数を計測した。血小板を活性化するために、PRP を 2% CaCl₂ で凝固・活性化し、さらに遠心分離を行い、PRPr を抽出した。全身麻酔下に腰椎椎間板を露出させ、コンドリアーゼ（Hernicore®）12.5mU/10μl の用量（臨床使</p>			

用されている濃度)を、30Gのマイクロニードルを用いて、2つの非連続椎間板(L2-L3およびL4-L5)に注入した。注入椎間板の間の椎間板(L3-L4)は非穿刺コントロールとした。コンドリアーゼ注入4週間後、生理食塩水(20 μ l)またはPRPr(20 μ l)をL2-L3およびL4-L5の椎間板に無作為に注入した。手術後、2週間隔で腰椎側面のX線を撮影し、椎間板高(Disc Height、以下DH)を評価した。DHの変化は%DH(注入後DH/注入前DH) \times 100で表した。

コンドリアーゼ注入後16週後にMRI画像評価と組織学的評価を行い、Modified Pfirrmann GradeにてMRI椎間板変性度、histopathology scoring systemにて組織学的変性度の評価を行った。

【結果】PRP中の血小板濃度は全血の13.5倍であった。

X線学的評価では、コンドリアーゼの椎間板内注入により、4週時点で%DHは $52.0\pm 8.1\%$ に低下した($P<0.01$)。しかし、コンドリアーゼ注入後に生食またはPRPrを注入すると、DHは有意に回復した。16週の%DHは生食群で $76.3\pm 16.0\%$ 、PRPr群で $95.5\pm 10.1\%$ にまで回復し、両群間に統計学的有意差を認めた($P<0.05$)。

MRI画像評価では、PRPr注入椎間板の髄核領域のT2-WI強度が、生食注入椎間板よりも高いことが示された。生食群とPRPr群のMRI椎間板変性度はいずれもコントロール群より有意に高かったが、PRPr群のMRI椎間板変性度(2.2 ± 0.4)は、生食群(2.9 ± 0.3)と比較し有意に改善していた($P<0.01$)。

組織学的評価では、コントロール群(L3-L4)の椎間板は、家兎椎間板の正常な組織像を示したが、コンドリアーゼを注入すると、特に髄核に著しい変化が生じた。PRPr群の組織学的変性度(6.5 ± 2.1)は生食群(10.5 ± 2.4)と比較し有意に改善していた($P<0.01$)。

【考察】本研究では、コンドリアーゼ注入により変性した家兎椎間板において、PRPrの椎間板内注入により誘導された椎間板再生を画像および組織学的に評価した。その結果、PRPr群では生食群よりも有意にDHを回復させた。またMRIおよび組織学的解析により、PRPr群では生食群よりも変性変化は軽度であった。

これらの結果から、PRPrはコンドリアーゼにより変性した家兎椎間板を再生する可能性が示唆された。この前臨床試験の結果より、PRPr注入療法はコンドリアーゼによる治療後に椎間板変性の回復が不良なLDH患者に適応される可能性が示された。