



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	造影剤，局所麻酔薬が椎間板変性に与える影響についての研究〔論文内容及び審査の要旨〕
Author(s)	岩崎，浩司
Description	配架番号：2133
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11651号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/58864
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Koji_Iwasaki_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 岩崎 浩司

	主査	教授	山本	有平
審査担当者	副査	教授	白土	博樹
	副査	教授	森本	裕二
	副査	教授	近藤	亨

学 位 論 文 題 名

造影剤，局所麻酔薬が椎間板変性に与える影響についての研究
(Effects of Radiocontrast Agent and Local Anesthetic Agents on Intervertebral Disc Degeneration)

椎間板造影・椎間板ブロックは椎間板性疼痛を診断する検査法のひとつであるが，本検査法により椎間板の変性が長期的に進行したとの臨床報告が発表され，また，使用される造影剤や局所麻酔薬が実験動物椎間板細胞のアポトーシスを惹起するとの基礎研究も散見される．しかし，いまだに造影剤，局所麻酔薬が椎間板変性に与える影響については不明な点が多い．本研究で申請者は，椎間板造影・椎間板ブロックに用いられる造影剤および局所麻酔薬が，髄核細胞の細胞死と椎間板の組織変性に及ぼす影響とその病態について，ヒト非変性髄核細胞を用いた *in vitro* 試験および家兎椎間板組織を用いた *ex vivo*, *in vivo* 試験を通して検証した．*In vitro* 試験では，ヒト非変性髄核細胞の細胞生存率は造影剤である iotrolan 曝露では変化しなかったが，bupivacaine と lidocaine 両局所麻酔薬への曝露により濃度依存的に低下した．両局所麻酔薬はいずれも髄核細胞のアポトーシスを有意に誘導した．*Ex vivo* 試験では局所麻酔薬，特に bupivacaine は有意に髄核細胞の細胞死とアポトーシスを引き起こしたが，生理食塩水も細胞死を引き起こした．*In vivo* 試験での MRI による評価では各群間で有意な差は認めなかった．組織学的評価では，椎間板穿刺単独群と比較して生理食塩水投与群と局所麻酔薬群で椎間板変性が有意に進行していたが，局所麻酔薬群と生理食塩水群の間に有意差はなかった．これらの結果より，iotrolan は椎間板造影に使用する造影剤として安全であること．アポトーシスは局所麻酔薬による髄核細胞への細胞障害性の中心的な役割を果たしていること．椎間板内への局所麻酔薬中により椎間板変性が引き起こされたが，正常椎間板組織を有する生体レベルでは，局所麻酔剤自体の組織毒性よりも薬液投与時の椎間板内圧上昇による物理的ダメージが椎間板変性にもっとも大きく関与していることが明らかになった．

審査にあたり，まず副査の森本教授から，髄核細胞での局所麻酔薬の細胞障害性を導くメカニズムについての質問があった．申請者は髄核細胞と類似すべき点が多い軟骨細胞ではミトコンド

リアを障害することが原因と考えられているが、髄核細胞での機序は明らかになっていないと回答した。また *Ex vivo*, *In vivo* 試験で 1% lidocaine と 0.5% bupivacaine とした理由について質問があり、申請者は *in vitro* 試験では局所麻酔薬の中での細胞障害性が最も低く、0.5% bupivacaine が最も高い結果から、*in vivo* 試験で 1% lidocaine よりも 0.5% bupivacaine の方が椎間板変性の進行が進んでいれば、椎間板ブロックに使用する局所麻酔薬の選択するための有用な知見となることからこの二つの薬剤を選択したと回答した。最後に局所麻酔薬の投与量、投与時の椎間板内圧と椎間板変性の進行についての検討も今後の研究課題としては興味深いのではないかとコメントを頂いた。

続いて白土教授からは、MRI の結果と組織学的評価の結果の discrepancy についての質問があった。これに対して申請者は MRI による椎間板の変性変化の評価は T2 強調像による組織中の水分含有率に基づいている。組織学的評価では生理食塩水、局所麻酔薬で有意に椎間板変性の進行を認めたが、線維化まで進行していなかったことが MRI による評価で各群間に差が出なかった原因と考えられると回答した。

次に近藤教授より、局所麻酔薬の細胞障害性は最終的に caspase-3 を介したアポトーシスが中心的な役割を果たしていることを示していることから、caspase のインヒビターを局所麻酔薬に添加した実験系についての質問があった。これに対して申請者は、本研究では caspase のインヒビターを用いた実験は行っていないが、軟骨細胞ではインヒビターを添加することで局所麻酔薬によるアポトーシス誘導効果が減弱したとの報告があると回答したところ、局所麻酔薬とインヒビターを併用することで、局所麻酔薬の効果を減弱することなく細胞死を減らすことができるのではないかとコメントを頂いた。また薬液を椎間板内に圧力をかけて注入することによるメカニカルダメージが生体内では椎間板組織変性を引き起こすという本研究の考察における機序についての質問があった。申請者は椎間板内圧上昇による髄核細胞の細胞死についてのメカニズムは未だ特定されていないが、椎間板への圧迫負荷による髄核細胞の細胞死のメカニズムについては整形外科分野の大学院生が caspase-3 を介したアポトーシスを介していることを昨年報告していると回答した。

最後に主査の山本教授より、*in vitro* 試験における薬剤濃度、曝露時間は臨床や生体レベルでの濃度、曝露時間と関連がないという本研究の limitation とは具体的にはどのようなものかという質問があった。申請者は、椎間板内での薬剤濃度は薬剤の蛋白結合能分子量や代謝スピード、細胞外マトリックスの integrity によって異なっている。一部の薬剤については投与後の薬剤濃度について検証されているが、局所麻酔薬の薬物動態はいまだ明らかになっておらず、*in vivo* 試験で髄核細胞が曝露される薬物の濃度、時間が明らかになっていないことが limitation の理由であると回答した。

この論文は、椎間板造影・椎間板ブロックは椎間板変性を引き起こすことを示した。これらのメカニズムに関するさらなる詳細な研究は必要であるが、臨床の場において椎間板造影・椎間板ブロックを実施する上での一つの指針となることが期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。