HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	高純度硬化性ゲルが髄核摘出術後の腰痛に与える影響［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	浦，勝郎
Description	配架番号：2596
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14480号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/81905
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Katsuro_Ura_abstract.pdf，論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　浦　勝郎

学 位 論 文 題 名

高純度硬化性ゲルが髄核摘出術後の腰痛に与える影響

(Effects of ultra-purified alginate gels on low back pain after discectomy)

【背景と目的】体幹を支持する脊柱において椎間板は重要な構成要素であるが、その変性は腰痛の主たる原因となり、多様な脊柱変性疾患をも惹起する。これらの疾患は鎮痛剤投与や手術療法によって治療されるが、いずれも対症療法の域を出ない。手術療法では、変性椎間板を部分切除したり、罹患椎間に対して固定が施されたりするが、椎間板部分切除後の変性進行や、固定術後の固定隣接椎間障害など、術後に新たな問題が生じることが課題である。このため、椎間板変性と椎間板性疼痛を共に制御する新たな治療法の確立が期待されている。腰椎椎間板ヘルニアに代表される椎間板障害に起因した腰痛は、自立した健康的な生活を大きく損なう。現在、腰椎椎間板ヘルニアに対する標準的手術治療として脱出髄核を摘出する髄核摘出術が一般的に行われるが、摘出後に更に椎間板組織の変性変化を進行させ、慢性的な腰痛を生じさせる可能性が指摘されている。これまでに我々が開発した高純度硬化性アルギン酸ゲル（Ultra-purified alginate gel; UPAL）は、無細胞条件下での椎間板組織修復能が示されており、髄核摘出術後の腰痛軽減にも有効であると考えられる。しかし、これまでの動物実験では UPAL ゲルの疼痛緩和効果は検討されてこなかった。また、UPAL ゲルを用いた治療に際し、X 線透視下に少量の局所麻酔薬（局麻薬）を注入する椎間板ブロックが麻酔方法として選択されうる。正常椎間板においては局麻薬の注入が椎間板変性に直接的に関与しないことが示されている一方で、臨床的に治療対象となる椎間板の殆どが編成椎間板であるにもかかわらず、変性椎間板に局麻薬を注入した場合の影響については検討されて来なかった。そこで我々は、局麻薬が変性椎間板組織に与える影響（テーマ①）と UPAL ゲルが椎間板性疼痛に与える影響（テーマ②）を明らかにすることを目的に本研究を実施した。

【材料と方法】テーマ①：家兎椎間板線維輪を 18G 針で経皮穿刺し、穿刺後 4 週間経過させることで椎間板変性モデルを作成した。初回穿刺から 4 週後の変性椎間板を摘出し器官培養した。生理食塩水(NS)、lidocaine (LD)、bupivacaine (BP)を 26G 針で椎間板内に局所投与し、3、7 日後に共焦点レーザー顕微鏡による死細胞率評価を、7 日後に組織学的評価及び TUNEL assay を行った(*ex vivo* 試験)。更に、*ex vivo* 試験と同様の方法で作成した家兎編成椎間板モデルにおいて、初回穿刺から 4 週後に NS ないしは同局麻薬を家兎変性椎間板内に X 線イメージ下に局所投与し、24、48 週後に MRI と組織学的評価を行った(*in vivo* 試験)。対照群として、穿刺のみを行い薬液を注入しない穿刺単独群を設定した（未投与変性椎間板群)。テーマ②：ラット尾椎椎間板針穿刺モデルと日本白色家兎腰椎椎間板髄核吸引モデルに UPAL ゲルを埋植した(各椎間板 n＝6)。ラットモデルは皮切（背側）のみをおく Sham 群、Co4/5 および 5/6 髄核穿刺を行う Punch 群、穿刺後に UPAL ゲルを埋植する Gel 群に分けた。

家兎モデルでは L2/3 および L4/5 に対して穿刺のみ（Aspiration 群）ないしは穿刺後 UPAL ゲル埋植（Gel 群）の処置を施し、L3/4 を未処置コントロール（Control 群）として扱った。埋植 1、4、7、28 日後に炎症性サイトカイン TNF-α, IL-6 と神経成長因子に対する高親和性受容体 TrkA に対する免疫組織化学染色を実施し，髄核と線維輪における各陽性細胞率を算定した。また、ラットモデルでは埋植 28 日後に椎間板の組織学的評価を行い、さらに、疼痛関連行動分析として Hargreaves test, von-Frey test（皮切部腹側から刺激）, Tail flick test（尾の先端から近位へ 5cm の腹側から刺激）を実施した(各 n=6)。

【結果】テーマ①：(*ex vivo* 試験) 培養 3 日後の死細胞率は NS、LD、BP 各群で未投与変性椎間板群よりも有意に高かったが、7 日目では BP 群のみが他群より有意に高い死細胞率・TUNEL 陽性細胞率を示した。BP 群以外の 4 群間に差はなかった。(*in vivo* 試験) MRI による変性評価では群間差はなかった。組織学的評価では NS、LD、BP 各群で未投与変性椎間板群よりも細胞数が減少していたが、変性スコアでは群間差はなかった。

テーマ②：髄核と線維輪いずれにおいても、ラット、家兎モデル共に、Gel 群は Punch 群または Aspiration 群に比べて TNF-α、IL-6、 TrkA 陽性細胞率が有意に低値であった。また、ラットにおいて Gel 群では Punch 群に比べて組織変性が抑制され、Sham 群と Gel 群に差はなかった。ラット疼痛関連行動分析では、Gel 群は Punch 群に比べ、Hargreaves test と von-Frey test では潜時が有意に延長し、Tail flick test では有意に短縮した。

【考察】局麻薬が変性椎間板組織に与える影響について、*ex vivo* レベルでは、BP が細胞毒性を惹起していたが、NS でも組織障害性が確認されたことは、正常椎間板において検討された先行研究では見られない結果であった。但し、*in vivo* 試験の結果からは、正常椎間板と同様に生体レベルでは局麻薬自体の影響よりも薬液投与時の圧力が変性に大きく関与していることが示唆された。UPAL ゲル埋植によって、椎間板障害に起因する炎症性サイトカインや神経成長因子受容体の発現、および、椎間板組織変性が抑制されることが示された。また、UPAL ゲル埋植によって、損傷単独の場合と比較して機械的および熱刺激に対する逃避行動出現までの潜時が延長し、損傷部位以外の部位で熱刺激に対する逃避行動出現までの潜時が延長したことから、UPAL ゲル埋植は損傷部の疼痛を抑制し、DNIC 現象の出現を阻害したと考えられた。これらのことから、UPAL ゲル埋植は、髄核摘出術後の椎間板内の炎症性サイトカイン産生、椎間板への神経新生、椎間板組織変性を抑制することによって、術後疼痛の軽減に有用である可能性が示唆された。

【結論】局麻薬を変性椎間板椎間板内に注入することは、生理食塩水注入と同程度の組織障害性しか示さず、局麻薬自体が椎間板組織の変性を進行させるという証拠は示されなかったことから、椎間板内に UPAL ゲルを埋植する際に椎間板ブロックを施行すること自体は椎間板変性進行に影響を及ぼさないことが明らかになった。また、UPAL ゲル埋植は、椎間板組織変性の予防のみならず、椎間板部分切除術後の疼痛の軽減にも有用であると考えられ、椎間板ヘルニアなどの疾患に対する画期的な新しい治療法となり得ることが示唆された。今後、腰椎椎間板ヘルニアに対する髄核摘出術に UPAL ゲル埋植を併用するなどの治療法が臨床で用いられると考えられる。