



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	170標識水を水トレーサーとして用いたMRIによる関節軟骨の新たな質的評価法の確立 [全文の要約]
Author(s)	細川, 吉暁
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 配架番号：2715 他
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14979号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/86073
Type	doctoral thesis
File Information	HOSOKAWA_Yoshiaki_summary.pdf



学 位 論 文 (要約)

^{17}O 標識水を水トレーサーとして用いた MRI による関節軟骨の新たな質的評価法の確立

(Establishment of a new qualitative evaluation method for articular cartilage by MRI using a ^{17}O
labeled water as a water tracer)

2022 年 3 月

北 海 道 大 学

細 川 吉 暁

学 位 論 文 (要約)

^{17}O 標識水を水トレーサーとして用いた MRI による関節軟骨の新たな質的評価法の確立

(Establishment of a new qualitative evaluation method for articular cartilage by MRI using a ^{17}O
labeled water as a water tracer)

2022 年 3 月

北 海 道 大 学

細 川 吉 暁

【背景と目的】変形性関節症(以下 OA)は関節軟骨の変性と破壊、関節辺縁や軟骨下骨の増殖性変化、滑膜炎を特徴とする関節内の限局的な炎症であるが、その初期に軟骨の表層に変化が生じ、その進行に伴い軟骨下骨にその病変が波及し進行するとされる。高齢者の運動器障害の原因として最も頻度の高い疾患のひとつで、OA の有病者数は 800 万人以上とされており、40 歳以上の男性で 42%、女性で 61.5%が画像上の OA を有するとされる。進行した OA には手術的治療以外に有効な手段がないが、臨床診断に一般に用いられている単純 X 線画像における変化を生じるには長期間の年月を要するため、早期発見・早期の治療開始の必要性がある。ここで、軟骨の静水圧維持機構に着目すると、プロテオグリカンにより保持された水は軟骨細胞の機械的特性やアポトーシスを介した細胞の生存などに影響している。外傷性 OA は、その初期に軟骨組織の静水圧維持機構が早期に破綻し、軟骨細胞のアポトーシスが誘導されることがその原因として考えられており、軟骨の保水機能を検出することは早期 OA 診断に有用である可能性がある。現在、関節軟骨の画像診断には MRI の各種の撮像シーケンスが用いられることが多く、緩和時間の測定により関節軟骨を評価する T1, T2, T1 ρ mapping や、Gd を用いた造影 MRI である dGEMRIC、関節軟骨のコラーゲン繊維の時価率を定量化する Quantitative susceptibility mapping などのモダリティーが用いられている。しかし、これら従来の検査法はいずれも軟骨基質の構造特性に着目しており、軟骨基質の保水機能や代謝動態に着目したモダリティーは未だ開発されていない。造影 MRI による評価も用いられているが、アレルギー反応のリスクも指摘されている。そこで我々は、 ^{17}O 標識水を用いた MRI 評価法に着目した。 ^{17}O は MRI で検出可能な唯一の酸素の安定安定同位体であり、放射線被曝や造影剤によるアレルギー反応がないという利点を有している。また、 ^{17}O 標識水は MRI によって水分子の動態として検出可能であるため、 ^{17}O 標識水を関節造影剤として用いることで、関節軟骨の水分子の動態から静水圧維持機構を可視化できる可能性に着目した。本研究の目的は、ウサギ個体における ^{17}O 標識水を用いた MRI 撮像法を開発すること、並びにウサギ OA モデルにおける ^{17}O 標識水による画像評価を行うことである。

【対象と方法】予備検討において、健常個体における ^{17}O 標識水の投与方法、MRI 撮影条件の検討、並びに本実験で使用する動物モデルの検討を行った。使用する動物は 14 週齢の雄の日本白色家兎とし、ウサギ患肢は撮影時の体動が影響しないよう、大腿部で離断し伸展位で固定した。その後、膝蓋腱前面から 24G サーフロー針を刺入し、関節内を広げ評価を容易にするために、生理食塩水 10 cc を前投与した。留置した外筒は延長チューブと接続し、MRI 連続撮影中に関節内に薬液を投与できる回路を作成した。関節内投与の際は、20%濃度の ^{17}O 標識水 0.5 cc を関節内に投与した。MRI 撮影は、過去の我々の研究において、軟骨損傷モデルで損傷が起こりやすい大腿骨の両顆部に冠状断を評価できるように、骨軸に対して 45 度屈曲させた冠状断で大腿骨両顆の最遠位部が中心スライスとなるような 5 スライスを MRI 撮像断面として設定した。撮影条件は、信号値の測定の際に関節軟骨を同定するために用いるプロトン密度強調像を最初に撮影し、本スキャンは T2 強調像で撮影を行った。1 回のスキャンは 3 分 39 秒で、合計 18 回の撮影を行うため、合計のスキャン時間は 65 分 42 秒となった。3 回目のスキャン後に関節内に ^{17}O 標識水を投与し、残り 15 回の撮影を行った。本実験で使用する動物モデルは膝関節の軟骨損傷を惹起するために、前十字靱帯切除による OA モデルを作成した。軟骨損傷は術後 4 週から軟骨表面の変性が生じ始め、8 週から軟骨全層への変性が生じることが報告されており、術後 4 週及び 8 週において ^{17}O 標識水による MRI 撮影、肉眼的評価及び組織学的評価を行なった。ROI の設定については、各個体ごとに、大腿骨両顆の中央、内側、外側の計 6 か所に ROI を設定し、各 ROI における経時的な ^{17}O 濃度を計測した。肉眼的軟骨損傷の有無 (OARSI score 2 以上)、および組織学的評価 (OARSI grade 0-3) によってランダムに設定された各関心領域を評価し、得られた T2 強調拡散画像から各部位の ^{17}O 濃度を算出した。統計学的手法には各群間について One-way ANOVA による解析を行い、有意水準は 0.05 とした。

【結果】予備検討において、関節内に投与された ^{17}O 標識水による信号変化を MRI で検出可能であ

った。また、 ^{17}O 標識水は関節内投与後に関節腔に急速に拡散し、正常な軟骨では ^{17}O 濃度の上昇はみられなかった。本実験において、肉眼的軟骨損傷群では 12 スキャン以降から損傷部位に一致して統計学的に有意な ^{17}O 濃度の上昇を認めた。組織学的損傷群では、OARSI grade 3 の群ではその他の群と比べて、10 スキャン以降から統計学的に有意な ^{17}O 濃度の上昇を認めた。

【考察】本研究では、健康な軟骨組織と損傷した軟骨組織における水分子の関節内動態を明らかにするために、ウサギの膝関節への ^{17}O 標識水投与手順と MRI 検査法を確立した。 ^{17}O 標識水を関節内投与した後、関節内への拡散を認めたが、正常な軟骨では ^{17}O 濃度は上昇を認めなかった。一方、OA モデルでは、軟骨損傷部位で ^{17}O 濃度が有意に上昇した。

関節軟骨損傷について、モダリティの進歩による MRI 診断性能の向上はあるものの、初期軟骨損傷診断の感度、特異度は未だ発達途上となっている。死体膝を用いた 1-5 mm の軟骨全層欠損を撮影した報告では、Gd では 2mm 以上の、T2 強調像では 3 mm 以上の欠損を検出できたが、T1 強調像では欠損を検出できなかったとされる。一方で、gadolinium を用いた撮像法で軟骨中の PG 濃度変化に高い特異性があるが、造影剤の倍量投与が必要であり薬物によるアレルギー反応や侵襲性が問題となる。本研究では安定同位体である ^{17}O を用い、放射線被曝やアレルギー反応なく、関節表面の軟骨損傷を評価することが可能であり、安全かつより低侵襲に軟骨損傷を診断できる可能性が示唆された。

OA は軟骨変性の初期段階においてプロテオグリカンの喪失が起こるとされる。プロテオグリカンは負に帯電しており、関節液内の Na^+ などの陽イオンと結合し水分子を保持することで高い膨張性を維持し、軟骨形態を保持しているが、喪失により保水能の低下、軟骨体積の損失が起こるため、OA 進行の最初のステップの一つと考えられている。本研究では、 ^{17}O 標識水は損傷軟骨部に一致した濃度上昇がみられており、これは MRI によって軟骨損傷部に水分子が流入していることを MRI で検出している可能性が示唆された。そのため、MRI により軟骨表面の保水能の低下をプロテオグリカンの喪失として評価しているものと考えた。また、T2 強調像連続撮影により、膝関節表面の水分子の動態を直接評価することができ、経時的な濃度変化を検出することにより、軟骨基質の機能を直接評価できる可能性があると考えた。これにより、肉眼的には損傷のない関節表面でも、軟骨基質の保水能の破綻を検出することにより、早期 OA として診断できる可能性が示唆された。

^{17}O 濃度の上昇は、OARSI グレード 3 以降の軟骨損傷で認められたが、これは軟骨の静水圧維持機構が OARSI グレード 3 以降で破綻する可能性が示唆された。過去の報告では、 $200\ \mu\text{m}$ 程度の関節軟骨表面の損傷により静水圧維持機構が破綻したとするものや、科学的な OA モデルでは静水圧に影響はなかったとするものもあり、本実験の結果は軟骨の静水圧維持機構は、軟骨の軽微な損傷である OARSI グレード 2 以下であれば破綻することではなく、OA の進行において組織学的には影響が少ない可能性が示唆された。本実験の結果は、 ^{17}O 標識水を用いた MRI 検査法は、早期 OA 発見のみならず、OA のメカニズムの解明に関して有用となる可能性が示唆された。

本研究の限界として、まず切断肢による評価であり生体の代謝動態とは異なることが挙げられるが、屠殺後 1 時間以内に撮影しており、電荷や軟骨基質の変化は少ないこと、正常な関節軟骨表面では積極的に代謝が行われないことから、影響は小さいものとする。次に、早期 OA でしか評価がなされていないことが挙げられ、進行した OA では異なる信号変化を呈する可能性や、軟骨基質の消失が起こっていた場合にはそもそも検出できない可能性が考えられる。しかし、進行期 OA に対しては従来の単純 X 線画像などによる検査が有用であり、本研究は早期 OA に対する検査法として有用であると考ええる。最後に MRI の撮像角度が大腿骨に対して 45 度前傾しており、通常のヒトの膝関節の撮影面と異なることが挙げられる。しかし、ウサギにおける膝関節の最荷重部を評価するためにこれらの条件で検討を行っており、ヒトにおいて評価をする場合は従来の冠状断または矢状断での評価を行うのが適当であると考ええる。

【結論】

健全組織と損傷軟骨組織における水分子の関節内動態を明らかにするために、ウサギ膝関節に対する ^{17}O 標識水投与手順と MRI 検査法を確立し、その有用性を証明した。 ^{17}O 標識水は関節内投与後に関節腔に急速に拡散したが、正常な軟骨では ^{17}O 濃度の上昇はみられなかった一方で、ウサギ OA モデルでは ^{17}O 標識水を関節内投与後に、軟骨損傷部位で一致して ^{17}O 濃度が有意に上昇していた。本手法により、早期変形性関節症の診断に重要と考えられる静水圧維持機構の破綻を可視化することが可能であった。既存の方法で問題となる造影剤によるアレルギー反応や放射線被曝がないという利点を有しながら、組織学的に初期の関節軟骨損傷を診断できるため、安全で軟骨損傷の病態に即した早期変形性関節症の検査法である可能性が示唆された。