



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Teriparatide, an anti-osteoporosis drug, reduces neuroinflammatory phenotypes in spinal cord of ovariectomized rats revealed by artificial intelligence-driven morphometry
Author(s)	西本, 慎之介
Description	この博士論文の全文は利用可能日以降に公開されます。利用可能日以前の閲覧方法は https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/ をご参照ください。
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第16927号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16927
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99772
Type	doctoral thesis
File Information	Shinnosuke_Nishimoto_summary.pdf, 全文の要約



学位論文内容の要約

学位論文題目

Teriparatide, an anti-osteoporosis drug, reduces
neuroinflammatory phenotypes in spinal cord of
ovariectomized rats revealed by artificial
intelligence-driven morphometry
(AI 駆動型形態解析で明らかになった、
骨粗鬆症治療薬テリパラチドによる
卵巣摘出ラット脊髄の神経炎症性変化の抑制効果)

博士の専攻分野名称 博士（歯学） 氏名 西 本 慎 之 介

骨粗鬆症では、椎体骨折が存在しない場合でも腰背部痛や痛覚過敏がしばしば認められ、その慢性化は、神経障害性疼痛と同様に、中枢性神経炎症機序の関与が考えられてきた。神経障害性疼痛においては、脊髄後角におけるミクログリアおよびアストロサイトの活性化による神経炎症が、痛覚過敏や慢性疼痛の主要なドライバーと考えられている。しかしながら、骨粗鬆症性疼痛において、このような神経炎症が関与するのかは不明であった。また、骨形成促進薬テリパラチド (teriparatide, TPTD) が骨粗鬆症性疼痛を軽減することは臨床および基礎研究の両面から示されていたが、その作用機序は不明であった。私たちの先行研究では、閉経後骨粗鬆症モデルである卵巣摘出 (ovariectomy, OVX) ラットを用いて、骨粗鬆症性疼痛の病態には神経炎症が関与することを解明した。また、TPTD が脊髄後角における神経炎症性ミクログリア増殖を抑制し、抗神経炎症作用を示すこと解明した。

本研究では、この知見をさらに検証するため、同一の病態および薬理学的条件下で、DAB 染色明視野画像に適用可能な AI 駆動型形態解析パイプラインを新たに構築し、脊髄グリア細胞の形態変化を定量的に評価した。実験群として、Sham 対照 (Sham) 群、卵巣摘出 (OVX) 群、OVX-TPTD 投与 (OVX-TPTD) 群、各群 N=10 を設定した。画像取得は脊髄後角に設定した $500 \times 500 \mu\text{m}$ の関心領域 (ROI) に基づき行い、Iba1 陽性ミクログリアについては AI による自動二値化を行うためのトレーニングデータを作成した。教師データ枚数を 1、2、4、8、16、32 枚へ段階的に増加させて学習させた結果、認識精度は枚数に依存して向上し、32 枚で約 95% の安定した精度に到達した。これを最終学習条件として採用し、実験群より得られた組織切片から Iba1 陽性ミクログリアの細胞数、面積、周長、長さ、幅、円形度など複数の形態パラメータを抽出し、群間比較に用いた。さらに詳細な形態評価を行うため、AI で二値化されたミクログリア 100 細胞を抽出し、形態学的特徴に基づいて ramified 型・intermediate 型・amoeboid 型の 3 群に手動で分類した (Figure 5a)。ramified 型

は細胞体が小さく突起がよく伸長した生理的形態、アメボイド型は突起を持たず細胞体が大きい炎症性形態、両者の中間的特徴を示すものを中間型と定義した。

その後、主観的分類の妥当性を検証し、客観的な細胞型判別に最も適した指標を同定するため、Area・Perimeter・Width・Length・Circularity の 5 つの形態パラメータを 3 群間で比較した (Figure 5b)。その結果、Circularity のみが 3 形態間を明確に識別可能な指標であることが示され、以後の解析ではこの値を用いて客観的分類を行った。Circularity に基づき各群の細胞型分布を比較すると (Figure 5c 上段)、ramified 型は Sham 63.9% → OVX 23.7% に低下し、OVX-TPTD では 45.1% へと回復した。intermediate 型は Sham 8.2% → OVX 30.1% → OVX-TPTD 24.2%、amoeboid 型は Sham 27.9% → OVX 46.2% → OVX-TPTD 30.8% と変化し、炎症性偏位が OVX で亢進し、TPTD により抑制される傾向が示された。主観分類でもほぼ同様の結果が得られ、両アプローチが相互に一致することが確認された。

これらの結果から、OVX はミクログリアを炎症性形態へ極性化させ、TPTD はその偏位を軽減することが定量的に明らかとなった。

その結果、OVX 群では Sham 群と比較して、ミクログリア数の増加、突起の短縮、周長および長さの低下、幅および円形度の上昇がみられ、炎症性表現型への形態変化が特徴づけられた。一方、OVX-TPTD 群ではこれらの変化の多くが部分的に抑制され、ミクログリア形態の炎症性偏移は緩和されていた。また、GFAP 陽性アストロサイトについては突起の重なりが多く個別シグナルのセグメンテーションが困難であったため、AI による自動二値化を行わず、RGB 値に基づく閾値処理を一定条件下で適用し、GFAP 陽性領域面積を指標に解析した。その結果、OVX 群で増大した GFAP 陽性領域は、TPTD により有意に抑制された。

以上の結果から、エストロゲン欠乏はミクログリアおよびアストロサイトを巻き込む脊髄神経炎症を誘発し、TPTD 投与はエストロゲン欠乏による過剰なグリア反応

を軽減する可能性が示唆された。また、2D 明視野画像と AI 駆動型形態解析を組み合わせた本手法は、特別な装置や複雑な処理環境を必要とせず、卵巣摘出および TPTD 投与によるミクログリア形態変化を高感度に捉え、形態に基づく分類を可能にする、実用的で汎用性の高いアプローチと考えられた。