

令和 2 年 6 月 19 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K10820

研究課題名(和文) 椎間関節性腰痛における関節液の生化学的解析と関節軟骨の変性過程の解析

研究課題名(英文) Biochemical analysis of joint effusion and analysis of degenerative process of articular cartilage in low back pain arising from facet joints

研究代表者

永島 英樹 (NAGASHIMA, Hideki)

鳥取大学・医学部・教授

研究者番号：00271049

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：「MRI T2 mapping法による椎間関節軟骨の経年的変化に関する研究」はすでに終了し、椎間関節のT2値は加齢とともに上昇することが明らかになった。この研究結果は、Journal of Orthopaedic Scienceに収載された。

「MRI T2 mapping法による椎間関節軟骨の腰痛との相関に関する研究」と「椎間関節の変性に関わるmicroRNAの解析」は、鳥取大学医学部倫理審査委員会の承認を得て開始している。目標組み入れ数が2つの研究とももう少し足りないため、データが揃ってから解析してその結果を学会発表および論文投稿する予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

世界中には、極めて多くの人々が腰痛に悩まされており、腰痛の機序を解明し、治療に結びつける研究を行うことで、世界に貢献することができる。今までの腰痛の研究は、椎間板と神経に重点が置かれてきたことは否めない。そこで、本研究では、今までのアプローチと視点を変えて、椎間関節性腰痛に注目した。

簡便に非侵襲的に関節軟骨の変性を評価できるT2 mappingに注目し、椎間関節のT2値は加齢とともに上昇することを明らかにした。これらを基準値として患者のT2値の特徴を求めれば、変性軟骨の定量化が可能となることを期待できる。「椎間関節の変性に関わるmicroRNAの解析」では、病態の解明に繋がる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：One study entitled "Evaluation of age-related changes in lumbar facet joints using T2 mapping" has been completed, and showed that T2 value of facet joints was significantly increased as age rose. This study was published in Journal of Orthopaedic Science.

Other two studies entitled "Relationship between T2 value of facet joints and low back pain arising from facet joints" and "Analysis of microRNA in degenerative facet joints" have been started just after approvals by our institutional ethical committee. Since their sample sizes have not satisfied yet, we have to continue these studies in 2020. After collecting enough samples, we will analyse these data and submit papers to international journals.

研究分野：整形外科学

キーワード：腰痛 椎間関節 変性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

平成 25 年国民生活基礎調査(厚生労働省)によると、腰痛は有訴者率で男性では第 1 位、女性では第 2 位を占めている。このように腰痛で困っている国民は多く、医療経済上も大きな問題となっている。腰痛の原因として、椎間板や神経由来が知られており、さまざまな研究がされているが、これらに比べて椎間関節に関する研究は少ない。

椎間関節由来の腰痛には、軟骨変性も原因となり得る。近年の MRI 技術の発達により、関節軟骨の変性を定量的に評価できるようになってきた。これらは、T1ρ mapping 法、T2 mapping 法であり、主に膝関節で応用されている。脊椎では椎間板の評価に用いられているが、椎間関節への応用はほとんどされていない。この方法により、椎間関節の軟骨変性を非侵襲的に生体のまま経時的に追跡することができる。本研究で、腰痛と椎間関節の軟骨変性との関係を明らかにし、椎間関節性腰痛の解明が期待できる。

当初は、椎間関節液のサイトカインを計測し、椎間関節性腰痛の生化学的解析を計画していたが、サイトカインの計測に必要な量を採取できる症例はかなり少ないことが判明したため、椎間関節の microRNA の解析をする研究に変更した。

2. 研究の目的

(1) MRI T2 mapping 法による椎間関節軟骨の経年的変化

MRI T2 mapping を用いて健常者腰椎椎間関節の T2 値を算出し、加齢とともにどのように変化するかを確認し、T2 値の基準値として設定することを目的とした。

(2) MRI T2 mapping 法による椎間関節軟骨の腰痛との相関に関する研究

椎間関節痛有訴者の椎間関節を T2mapping 法で撮像、T2 値を測定し、腰痛との関連を調査することを目的とした。

(3) 椎間関節の変性に関わる microRNA の解析

当初は「椎間関節の関節液の生化学的解析と椎間関節性腰痛との相関に関する研究」を計画していたが、サイトカインの計測に必要な量を採取できる症例はかなり少ないことが判明したため、本研究に計画を変更した。

本研究の目的は、変性した椎間関節組織(軟骨、骨、軟部組織など)で発現が増加または減少する microRNA を特定すること、椎間関節に変性のある患者の血液、尿、髄液中で発現が増加または減少する microRNA を特定すること、椎間関節の変性の進行度と椎間関節組織、血液、尿、髄液中の microRNA 値に相関があるか検討すること、腰痛の程度と椎間関節組織(軟骨、骨、軟部組織など)、血液、尿、髄液中の microRNA 値に相関があるか検討すること、椎間関節ブロックの効果の程度と microRNA 値に相関があるか検討することである。

3. 研究の方法

(1) MRI T2 mapping 法による椎間関節軟骨の経年的変化

腰痛がないか軽度の腰痛(診察時の Numerical Rating Scale (NRS) 3)を有し、同意取得時の年齢が 20 から 79 歳までのボランティアのうち本研究参加に同意したものを対象とした。なお、脊椎手術歴のある患者、関節リウマチなどの炎症性関節疾患、高度の腰椎変性、感染症、腫瘍性疾患を合併している患者、MRI が禁忌の患者、妊娠中あるいは妊娠の可能性のある女性は除外した。

【MRI T2 mapping 撮像方法】

腰椎疾患の診断目的で通常行っている MRI 撮像法で T2 mapping を作成した。作成された T2 mapping 画像より、第 4/5 腰椎 (L4/5) の両側椎間関節を水平断画像上でマーキングし、T2 値を計測した (図 1)。

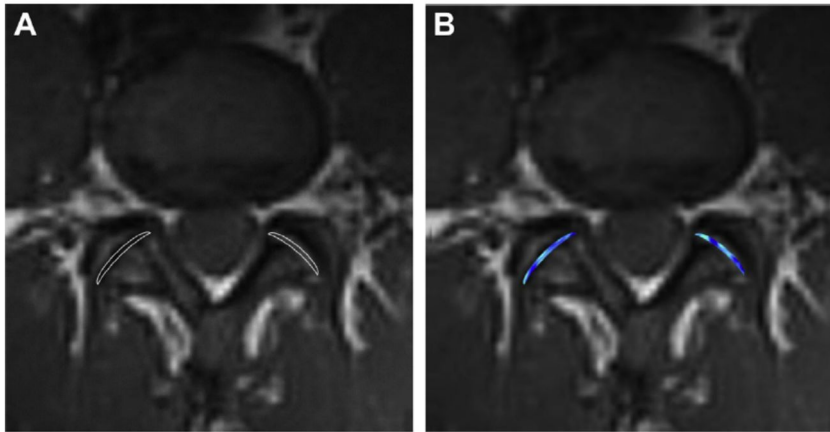


図 1 椎間関節の ROI(Region of Interest)設定と T2 mapping

(Enokida S, Nagashima H, et al. J Orthop Sci 25:46-51, 2020)

椎間板は L4/5 の正中矢状断画像を用い、5 等分してマーキングし、最前部 1/5、中央 1/5、最後部 1/5 の 3 か所で T2 値を計測した (図 2)。

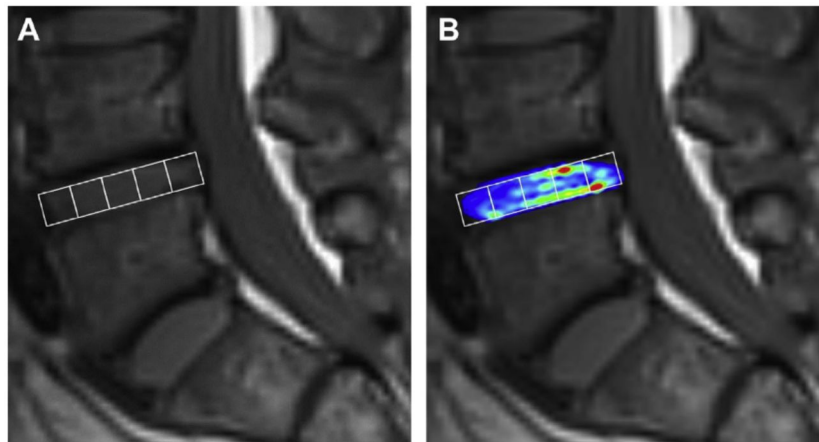


図 2 椎間板の ROI(Region of Interest)設定と T2 mapping

(Enokida S, Nagashima H, et al. J Orthop Sci 25:46-51, 2020)

なお、T2 値は pizelwise, monoexponential nonnegative least-squares fit analysis (MapIt, Siemens Medical Solutionms, Erlangen, Germany)を用いて求めた。

(2) MRI T2 mapping 法による椎間関節軟骨の腰痛との相関に関する研究

大腿後面部痛と腰痛を有し、腰部伸展時に増悪する症例を、腰椎椎間関節痛の有訴者と定義した。その中で NRS > 3 の腰痛を訴えた 20 ~ 79 歳の患者のうち本研究参加に同意したものを対象とした。除外基準は、脊椎手術歴のある患者、関節リウマチ、他の炎症性関節疾患、高度の腰椎変性、感染症、腫瘍性疾患を合併している患者、MRI が禁忌の患者、妊娠中あるいは妊娠の可能性のある女性、キシロカインにアレルギー歴がある患者、膝以下の麻痺症状がある患者とした。MRI T2 mapping は(1)と同じ手技で計測した(図 1)。椎間関節由来の腰痛かどうかを調べる

ために、MRI 撮像後に透視下に L4/5 椎間関節ブロックを行った。

L4/5 椎間関節の通常 MRI での変性度分類 (Weishaupt 分類) で 2 群に群わけ (Grade0-1: A 群、Grade2-3: B 群) し、それぞれの群でブロック後の腰痛改善が 50%以上の改善であれば 1、なければ 2 と定義することで、症例を A1、A2、B1、B2 に分けて、T2 値を群間で比較する。また腰痛に関するアンケートとして Oswestry Disability Index (ODI) と日本整形外科学会腰痛評価質問票 (JOABPEQ) を行い、T2 値との相関を検討する。

(3) 椎間関節の変性に関わる microRNA の解析

当院で腰椎固定術を行う患者のうち、本研究参加に同意した 20 歳 ~ 80 歳の男女を対象とした。腰椎固定術では、椎間関節を切除または削る必要があるため、そのときに材料を採取する。なお、治療のために椎間関節を切除または削る必要がないもの、認知症、精神疾患などのために腰痛を正しく評価できないもの、妊婦、透析患者、悪性腫瘍に対し治療中のもの、腰椎の手術歴があるもの、腰椎の感染性疾患またはその既往のあるもの、自己免疫疾患のあるものは除外した。

手術中に採取した椎間関節や関節包を保存する。また通常診療で採取した血液、尿、髄液の残検体を保存する。これらの検体の microRNA 解析を行い集計する。microRNA の解析にはマイクロアレイ、次世代シーケンサー (Next generation sequencing : NGS)、ポリメラーゼ連鎖反応 (Polymerase chain reaction : PCR) などを利用する。椎間関節の組織学的所見の評価のために、一部の検体はホルマリン固定を行ったのち組織学的検査を行う。

4 . 研究成果

(1) MRI T2 mapping 法による椎間関節軟骨の経年的変化

鳥取大学医学部倫理審査委員会の承認を受けた後に、研究を行いすでに終了した。

椎間関節の平均 T2 値は、20 代から 70 代まで順に 79.5 msec、78.6 msec、91.6 msec、98.4 msec、109.3 msec、111.8 msec であり、年齢と椎間関節の T2 値の間には正の相関 (相関係数: 0.717) を認めた(図 3)。

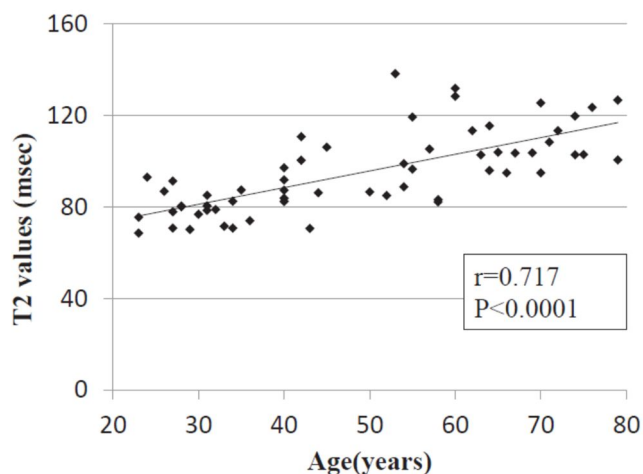


図 3 年齢と椎間関節 T2 値の関係

(Enokida S, Nagashima H, et al. J Orthop Sci 25:46-51, 2020)

一方、椎間板の T2 値は、どの部位でも年齢と T2 値とに負の相関を認めた(図 4)。相関係数は前方線維輪が-0.728、髄核が-0.696、後方線維輪が-0.580 であった (3 部位ともに $p<0.0001$)。

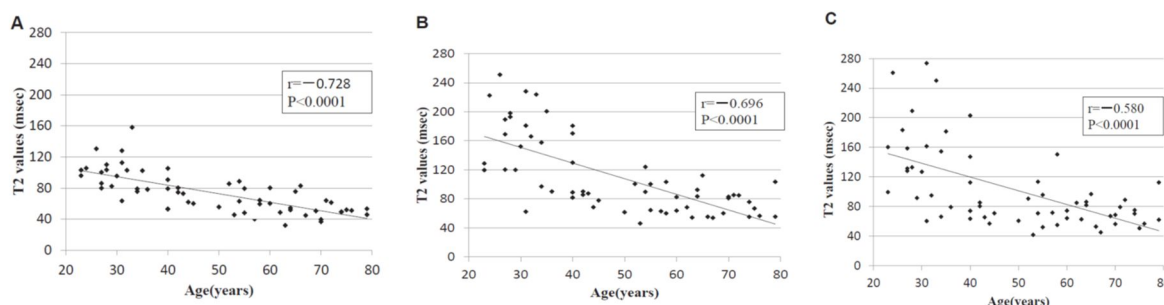


図4 年齢と椎間板 T2 値の関係

A:前方線維輪、B:髄核、C:後方線維輪

(Enokida S, Nagashima H, et al. J Orthop Sci 25:46-51, 2020)

加齢とともに椎間関節の T2 値は高くなり、椎間板の T2 値は低くなるという結果であった。椎間関節は滑膜関節であり、加齢とともにコラーゲンの配列が不整になり水分含量が増えるので、T2 値が高くなったと考えている。これは膝関節の T2 値でも同様な結果が報告されている (Cagler E, et al. Eur Rev Med Pharmacol Sci 18:3386-93, 2014)。一方、椎間板では加齢とともに水分含量が減少するので、T2 値も低くなる。

今回、腰痛がないか腰痛はあるもののごく軽度のボランティアに対して、腰椎椎間関節の T2 値を計測した。今回の結果から、T2 値は加齢により高くなることが明らかとなり、この研究で得られたデータは、今後の椎間関節の T2 値を用いた研究で基準値として使用できると考えている。この研究成果は、すでに Journal of Orthopaedic Science に収載されている。

(2) MRI T2 mapping 法による椎間関節軟骨の腰痛との相関に関する研究

鳥取大学医学部倫理審査委員会の承認を得て開始している。目標組み入れ数は60例を計画しているが、2020年3月31日現在、実施例数は53例である。今年度中に計測を終えて解析し学会発表および論文投稿する予定である。

(3) 椎間関節の変性に関わる microRNA の解析

鳥取大学医学部倫理審査委員会の承認を受けた後に対象患者のサンプル採取を開始した。椎間関節の関節症性変化が強いと軟骨採取が困難であることが多く、多くの症例で軟骨は採取できず、関節包のみを採取した症例が多い。2018年9月26日予備実験として6サンプルを用いて microRNA の抽出を行った。定量結果にばらつきがあるが6サンプルすべてから microRNA を抽出することができた。2019年1月予備実験として、先行研究で関節との関連が報告されている microRNA (has-miR-146a, has-miR-181a, has-miR-23a) の PCR を行った。6サンプルで PCR を行い、いずれのサンプルでも3種類の microRNA が検出できた。網羅的解析のために8症例16サンプルの Next generation sequencing (NGS) を外部機関に委託して実施し、変形性関節症の Grade により発現に差がある microRNA を解析した。2020年4月末までに48例のサンプルが採取できている。今後は PCR を利用して NGS で同定した microRNA の追加解析を行い、その結果を学会で発表して論文投稿する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

| | |
|---|---------------------|
| 1. 著者名 Enokida Shinpei, Tanishima Shinji, Tanida Atsushi, Mihara Tokumitsu, Takeda Chikako, Yamashita Eijiro, Nagashima Hideki | 4. 巻 25 |
| 2. 論文標題 Evaluation of age-related changes in lumbar facet joints using T2 mapping | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Orthopaedic Science | 6. 最初と最後の頁 46～51 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jos.2019.02.017 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 榎田信平, 谷島伸二, 谷田敦, 三原徳満, 武田知加子, 永島英樹, 山下栄二郎 |
| 2. 発表標題 MRT2 mappingを用いた腰椎椎間関節における年齢階層別評価 |
| 3. 学会等名 第91回日本整形外科学会学術総会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 榎田信平、谷島伸二、永島英樹 |
| 2. 発表標題 MRI T2 mappingを用いた健常者の腰椎椎間関節および椎間板の年齢階層別評価 |
| 3. 学会等名 第46回日本脊椎脊髄病学会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 榎田信平、谷島伸二、永島英樹 |
| 2. 発表標題 年代別に評価した腰椎椎間関節および椎間板におけるMRI T2値の基準値作成の試み |
| 3. 学会等名 第31回日本整形外科学会基礎学術集会 |
| 4. 発表年 2016年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 榎田信平、谷島伸二、永島英樹 |
| 2. 発表標題 年代別に評価した腰椎椎間関節および椎間板におけるMRI T2値の基準値作成の試み |
| 3. 学会等名 第24回日本腰痛学会 |
| 4. 発表年 2016年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 榎田信平、谷島伸二、永島英樹 |
| 2. 発表標題 年代別に評価した腰椎椎間関節および椎間板におけるMRI T2値の基準値作成の試み |
| 3. 学会等名 第85回西日本脊椎研究会 |
| 4. 発表年 2016年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|--------------------------------|-----------------------|----|
| 研究協力者 | 榎田 信平 (ENOKIDA Shinpei) | | |
| 研究協力者 | 石田 孝次 (ISHIDA Koji) | | |
| 研究協力者 | 椋 大知 (MUKUNOKI Daichi) | | |

6. 研究組織（つづき）

| | 氏名 (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|------------------------------|-----------------------|----|
| 研究協力者 | 谷島 伸二 (TANISHIMA Shinji) | | |
| 研究協力者 | 三原 徳満 (MIHARA Tokumitsu) | | |
| 研究協力者 | 武田 知加子 (TAKEDA Chikako) | | |
| 研究協力者 | 谷田 敦 (TANIDA Atsushi) | | |
| 研究協力者 | 山下 栄二郎 (YAMASHITA Eijiro) | | |