

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：31201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K01337

研究課題名(和文) 椎間板性腰痛に対する早期診断・治療システムの開発

研究課題名(英文) Development of the early diagnosis and treatment for discogenic low back pain

研究代表者

土井田 稔 (Doita, Minoru)

岩手医科大学・医学部・教授

研究者番号：60237170

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：国民の多くの愁訴である腰痛に対して、早期診断・治療システムの開発の研究を行った。腰痛の主たる原因となる椎間板に着目し研究した。MRIT2マッピング法というヒトに侵襲の少ない検査方法を応用し、変性が少ない椎間板では荷重負荷によりT2値が回復することから椎間板変性の早期診断に応用できることを報告した。椎間板再生医療による治療は未だ動物実験の域をでないが、現在施行されている最小侵襲腰椎固定術では、固定によるADL障害と隣接椎間障害が問題であることが判明し、今後は固定を用いない治療法の開発が必要であることを明確した。

研究成果の概要(英文)：We tried to develop the early diagnosis and treatment for discogenic low back pain. There was a significant decrease in the water content of facet joints and the NP at every lumbar spinal level after dynamic loading by physical lumbar exercise. These changes appear to play an important and interactional role in the maintenance of the interstitial matrix in the IVD NP and cartilage in the facet joint. It revealed that it will be necessary for development of the treatment method without interbody fusion technique at the lumbar spine for discogenic low back pain.

研究分野：脊椎、脊髄外科

キーワード：椎間板 髄核 MRI T2マッピング 変性 椎間関節 側方椎体間固定術 最少侵襲手術

1. 研究開始当初の背景

腰痛は国民生活基礎調査において男女ともに1位、2位をしめ、生命にこそ直接は関わらないが治療費を含めた社会に対する損失も大きい重要な疾患である。また、腰痛は、就労人口において休業を余儀なくされる原因疾患として最も頻度が高いとされる。これらの腰痛性疾患は椎間板の変性との深い関連が言及されているが、椎間板変性そのものの発生メカニズムや、椎間板変性と腰痛との関連に関してはほとんど解明されていないことが現状であり、治療に関しても確立されたとは言いがたい状況である。従って、病態のさらなる解明とそれに基づいた新しい発想の治療法の開発が強く望まれている。そのためには、椎間板変性の早期発見を可能にし、予防や治療に結びつけることが可能な医用システムの開発が必須である。

2. 研究の目的

いわゆる椎間板性腰痛の一部には椎間板ヘルニアに近い機序が考えられており、炎症性メディエーターが産生され、腰痛の原因になっている可能性が示唆されている。また、腰痛の原因となっている変性椎間板においては、本来あるはずのない神経組織や血管あるいは炎症性細胞の侵入が椎間板内に認められるとの報告があり、これらの椎間板においては免疫特権が破綻している可能性が指摘されている。したがって、いわゆる腰痛症の一部にも免疫特権と宿主免疫との関係が重要であることが示唆される。

臨床的に椎間板変性の初期変化をとらえ治療に結びつけるためには、非侵襲的に椎間板変性の初期変化を見つけ出す医療システムの構築が不可欠である。我々は、T2 マッピング法MRIを応用することにより、軟骨内の水分、コラーゲンの状態を定量評価することの可能性について研究し報告してきた。腰椎椎間関節軟骨においては、関節軟骨変性の進行による細胞外基質構成成分量の減少はT2 マッピングMRIにより定量化したT2値の上昇として捉えられ、非侵襲的に変性所見を定量評価することが可能であることを確認した。この手法を椎間板に応用し、椎間板の変性を早期に非侵襲的に同定・定量化することにより、椎間板変性の予防と再生に応用する予定である。

また、椎間板髄核は脊索より発生し、ヒトの脊索由来細胞は青年期に消失することから変性機序への関与が示唆されており、新たな研究を行う。低栄養条件下で細胞が自己の余剰・老廃蛋白を分解、再利用して生存を図る「オートファジー」が椎間板の恒常維持に重要であることに着目し椎間板変性の病態を研究する。

変性椎間板を再生させる方法として、1. 遺伝子導入による方法、2. 髄核細胞移植、3. ケミカルメ

ディエーターの注入などが報告されている。いずれも椎間板変性の初期を治療の対象にしておらず、より早期に治療を開始することで椎間板性腰痛の治療と予防が可能になる。そのためには、早期診断と治療を可能にする新たな腰痛治療システムの構築が必要である。新しい器械には開発には、コストも時間もかかるために既存の器械を使用して同定できる手法を開発する。また、再生に使用するケミカルメディエーターや細胞も安全性が確立され、コスト面でも高価にならないものを開発し応用する。

椎間板性腰痛に対する治療として、上記の再生治療の開発を目的に研究を進めた。一方、最小侵襲腰痛治療システムを早期に確立する目的で現在の治療方法の問題点と治療成績を検討した。現在、最小侵襲手術として、変性した椎間板に対して、側方侵入による椎体間固定術と後方固定術が施行されることが多い。一方、固定範囲により患者さんの日常生活動作に与える影響も大きく、これによるADLの障害を調査する。また、長期的には隣接椎間に及ぼす影響も少なからずあるため、術後に経時的にMRIを撮影し、隣接椎間の黄色靭帯の厚みを経時的に調査し、この治療方法の現状の問題点と今後の対策についても研究する。

椎間板性腰痛に対する治療システムを構築する上で早期リハビリテーションは不可欠である。そのためには、客観的な腰椎固定術術後の骨癒合判定を行うことにより、早期に外固定を除去することが可能となる。そのため血清中フッ素イオン濃度が骨代謝の変化を直接反映することが示唆されていることに注目し、骨癒合判定のマーカーとして用いる骨癒合判定システムの研究を施行した。

3. 研究の方法

1) 椎間板変性の早期診断

当所属施設の倫理委員会の承認のもと、岩手医科大学医学部倫理規定に基づいて実施する。あらかじめ書面で同意を得たボランティアを対象とする。対象者の椎間板に対してT2 マッピング法による撮影を行う。その後被検者に腰椎を45度屈曲、30度伸展、40度の回旋運動を15回施行し、運動前、運動直後、30分間安静後の3回のMRIを撮像し、T2値を比較検討する。その後再度MRIを撮像し、早期の椎間板変性をT2 マッピング法により評価する。至適な撮影条件の設定は、椎間関節に用いた研究を参考にする(腰椎椎間関節軟骨変性の評価 - 病理組織像とT2 マッピング法MRIとの比較 - 山部大輔、村上秀樹、等; 岩手医誌 2013; 65: 259-270。撮影された画像をもとに画像解析ソフト Image J (National Institutes of Health, USA)を用い、椎間板内の髄核と線維輪をカラーマップ化する。カラーマップ化した椎間板全体を關心領

域(regions of interest, ROIs)として設定し、T2 値を測定する。

2) 椎間板変性の病態解明と細胞移植を含めた椎間板再生への研究

In vitro においては、これまで神戸大学整形外科での研究において、動的負荷培養装置を用いて椎間板変性を誘発し、椎間板変性を誘発するメカノレセプターの存在について実証してきた(基盤研究(C):メカノレセプターをターゲットとした椎間板変性要望医療の開発(H24-26年度))。これにより段階的な変性変化を解析した結果、圧負荷に遅れてMMP-3の発現が亢進するなどの生化学的な変化が誘発されることが判明した。また、線維輪で integrin 5 1 の発現が上昇し、髄核では CD44 の発現が上昇することを確認した。今後、これらの拮抗阻害剤を変性早期の椎間板内に導入することにより椎間板変性の予防と変性進行防止に有効であるか否かを検証する。段階的圧負荷が可能なラット椎間板圧迫モデルにおいて経時的な単純 X 線写真、MRI、病理組織学的評価、遺伝子発現についてこれまでの研究結果を踏まえ、in vivo においてさらに早期の椎間板変性の機序を解析し、臨床応用できるように研究を進める。オートファジーの研究においては、腰部脊柱管狭窄症の手術時に採取したヒト変性椎間板髄核・線維輪組織と腰椎椎間板ヘルニア摘出時に採取した髄核組織から蛋白検体を抽出した。ウエスタンブロット法でオートファジーマーカーLC3-II とオートファジー基質 p62/SQSTM1 の発現を検討し、患者年齢・Pfirrmann 変性度・疾患との相関について統計学的検討を加えた。さらに 12 週齢雄 SD ラットの尾椎に創外固定を装着して 1.3MPa の持続的な圧負荷を加えた椎間板変性モデルを作成し、術後 56 日まで観察する。LC3 p62/SQSTM1 の発現を WB で検討し、局在を免疫染色で評価する。LC3、アポトーシスマーカーTUNEL、脊索マーカーbrachyury に対する多重蛍光免疫染色を行う。

3) 有痛性変性椎間板の再生による腰痛治療システムの構築

腰痛患者の椎間板の変性の有無を T2 マッピング MRI にて評価し、その程度を数値化する。ラット椎間板圧迫モデルにおいて椎間板変性の程度に応じて、種々のケミカルメディエーターを注入し、椎間板の変性の予防と修復を評価する。これらを T2 マッピング法にて数値化し、最も有効な導入時期を決定し、早期発見による新たな腰痛治療システムを構築する。

4) 最小侵襲有痛性椎間板治療方法の現状の成績と問題点の研究

椎間板性腰痛に対する最小侵襲治療システムを確立していく上で現在の治療方法の問

題点と治療成績を検証する。現在、変性した椎間板に対して側方侵入による椎体間固定術(LIF)と後方固定術(PPS)が施行されることが多いが、固定範囲により患者さんの日常生活動作が制限されるなどの制約も多い。ADL への影響と固定範囲が隣接椎間に及ぼす影響などを調査した。術後成績は、MRI による画像評価と JOABPEQ と VAS による臨床成績を調査した。さらに OLIF+PPS の侵襲度を評価するために、後方の腰筋を展開しない方法の OLIF+PPS と従来の後方侵入椎体間固定術(TLIF)の術後成績を比較検討した。また、術前と術後 3 ヶ月、1 年、2 年に MRI を撮像した。固定椎間、1 椎間上位隣接椎間、2 椎間上位隣接椎間の横断像において、硬膜管の面積と左右の黄色靭帯の厚さをコンピューター上の画像解析により経時的に計測し比較検討した。この治療方法の長期的な成績を予測し、最小侵襲腰痛治療システムを構築する。

5) 腰痛治療の早期リハビリテーションに向けた骨癒合判定方法の開発

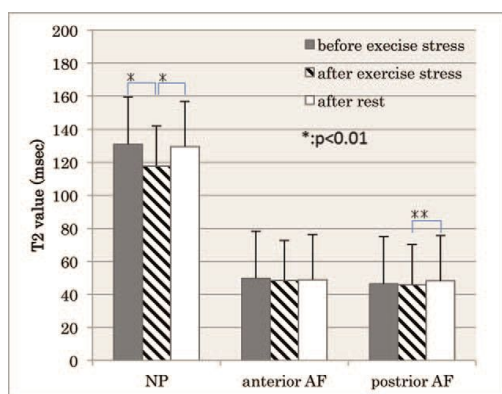
フッ素は骨などの硬組織と関わりの深い生体元素の 1 つであり、血清中フッ素イオン濃度(SIF 濃度)は骨代謝の変化を直接反映することが示唆されていることから骨癒合判定のマーカーとして用いる。腰痛治療で脊椎固定術を施行した患者の術前、術後 1 日、1 週、2 週、1 ヶ月、3 ヶ月の SIF 濃度を測定し、画像評価との相関を調査する。SIF 濃度は、フッ素イオン選択性電極を用いたフローインジェクション法により測定した。骨癒合判定を客観的に実施することにより、コルセットなどの外固定を早期に除去し、早期リハビリテーションを進める。

4. 研究成果

1) 椎間板変性の早期診断

腰痛の原因となる椎間板変性の機序を解明し、椎間板変性を早期に診断するために腰椎 MRI を撮像し、T2 マッピング法にて極早期の軟骨変性を解析した。健常人 40 名(男性 26 名、女性 14 名、平均年齢 25.6 歳)を対象とした。腰椎の負荷前に撮影し、ROI(関心領域)を髄核、前方・後方線維輪に設定し、T2 値を各椎間レベルで評価した。負荷前の T2 値は髄核が有意に高く、髄核では L3/4 で 148 と最も高く、L5/S1 では 112 と有意に低値であった。髄核の変性グレードによる評価では、各々の T2 値は、138, 122, 92, 60msec と変性度と T2 値は強い相関が認められ、椎間板変性の早期診断に応用できることが示唆された。一方、前方、後方線維輪では変性度が進んでも T2 値には有意な変化がなく、早期の椎間板変性が髄核から発生すること

も明らかになった。次いで、45 度屈曲、30 度伸展、40 度の回旋運動を 15 回施行し、運動前、運動直後、30 分間安静後の 3 回の MRI を撮像し、T2 マッピング法にて比較検討した。髄核においては、運動負荷後には T2 は有意に低下するが、安静により元の値に回復することが明らかになった。線維輪では運動負荷によっても T2 値に有意な変化はなかった。変性の分類によるとグレード 1 と 2 の椎間板変性のないか軽度の群では、運動負荷により T2 値は有意に低下し、安静により有意に増加した。グレード 3 と 4 の変性の進んだ群では、運動負荷前後の T2 値の変化は認めなかった。



椎間板変性に影響を及ぼすと考えられる椎間関節軟骨についても T2 マッピング法を用いて同様の解析を行った。椎間関節の T2 値も運動負荷後には有意に低下し、変性の初期変化に関与していることが明らかになった。

以上の研究から変性変化の少ない髄核では、運動負荷により T2 値は低下し安静により回復するが変性が進行するとこの変化が非可逆的になり変性が進行していくことが示唆された。

2) 椎間板変性の病態解明と細胞移植を含めた椎間板再生への研究

ヒト椎間板髄核・線維輪での LC3-II と p62/SQSTM1 の発現は 40 歳以上で一過性に増大するも 70 歳以上で最終的に減少していた。変性度別の検討では、Grade 3 に加え Grade 4 の若年例で LC3-II と p62/SQSTM1 の発現が増大していたが、Grade 4 の老年例と Grade 5 では両者の発現は殆ど検出されなかった (いずれも $p < 0.01$)。ラット椎間板では圧迫に伴い変性過程が画像・組織学的に進行していた。LC3 と p62/SQSTM1 の発現は経時的に減少し、いずれも大きな空胞をもつ脊索由来髄核細胞で強陽性であった。多重染色では圧迫期間の延長に伴い DAPI 陽性の髄核細胞数は減少し、特に brachyury 陽性の脊索由来細胞が早期に有意の減少を呈した。やはり LC3 は脊索由

来細胞で強発現を認め、一方で TUNEL 陽性細胞は圧迫後の非脊索由来細胞で増加していた。以上の結果より、椎間板変性とともにおートファジー活性の高い脊索由来細胞の減少と非脊索由来細胞における死細胞の増加を認め、おートファジーが椎間板、特に脊索由来髄核由来細胞の恒常性維持に重要な役割を果たしている可能性、おートファジーの制御が将来的な椎間板変性の細胞生物学的予防・治療法へと繋がる可能性が示唆された。

3) 最小侵襲有痛性椎間板治療方法の現状の成績と問題点の研究

LIF と PPS を併用した最小侵襲有痛性椎間板治療法における臨床成績を調査した。広範囲前後合併矯正固定術を行い X 線写真では冠状面、矢状面ともに良好なアライメントを獲得し維持されていた。臨床成績では、疼痛改善効果は高かったものの腰椎機能、社会生活、心理的障害の有効率は高いとは言えず、広範囲固定による可動性低下に伴う ADL 制限、家事や仕事の制限が示唆された。そのため一次産業の多い東北地区では胸椎から骨盤に及ぶ広範囲固定が術後の ADL 向上に大きな恩恵をもたらすか否かは課題も多く、本治療法の限界が明らかになった。

OLIF+PPS 法の侵襲度を調査するために従来の TLIF 法と比較検討した結果、両群間での臨床成績に差は認めなかった。一方、出血量と手術時間は、OLIF+PPS 群で有意に低値であり、この治療方法は従来法よりも低侵襲であることが判明した。腸管損傷や血管損傷など重篤な合併症に注意すれば腰痛症に対する低侵襲で有用な治療法のひとつになりうるということが明らかになった。

本治療法の長期的な成績と問題点を把握する目的で固定椎間および固定隣接椎間に及ぶ硬膜管と黄色靭帯への影響を調査した。固定椎間の硬膜管面積は術後 2 年の経過で有意に拡大し、黄色靭帯の厚さは左右ともに経過で有意に減少した。一方、上位隣接椎間の硬膜管面積は経過で縮小する傾向があり、黄色靭帯の厚さは有意に増加した。さらに 1 椎間上位隣接椎間では、硬膜管面積、黄色靭帯の厚さともに術前と差はなく保たれていた。以上の結果から硬膜管の直接の除圧を行わない OLIF+PPS 法においては、固定椎間において経時的な硬膜管の有意な拡大と黄色靭帯の菲薄化を認め本術式の有効性が示された。反面、上位隣接椎間においては、経時的な黄色靭帯の肥厚を認め、将来的に隣接椎間障害をきたす危険性があり、固定術である本法の問題点が明らかになった。今後は、可動性を残した椎間板性腰痛に対する新たな治療法の開発も必要であることが示唆された。

4) 腰痛治療の早期リハビリテーションに向けた骨癒合判定方法の開発

脊椎固定術群の SIF 濃度は、術後 1 週間で低下し、その後上昇する傾向を示し、術後 1 ヶ月では術前より有意に上昇していた。非固定群では、術後 1 週間まではやや低値を示したが、その後は術前と同じレベルで推移していた。脊椎固定術後の骨代謝は、SIF 濃度の推移より手術直後から術後 2 週間までは骨芽細胞が増殖し、骨形成が有意となるが、その後骨形成が安定化してくるものと推測された。今後骨癒合との関連について検討していく必要がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3 件)

1) Oikawa R, Fujita Y, Murakami H, Endo H, Yamabe D, Chiba Y, Abe Y, Doita M. Evaluation of the serum ionic fluoride concentration as a biomarker of bone metabolism post-spinal fusion surgery. Clin Chim Acta. 2018 May 18. DOI: 10.1016/j.cca.2018.05.021. 査読 ; 有

2) Yamabe D, Murakami H, Chokan K, Endo H, Oikawa R, Sawamura S, Doita M. Evaluation of water content in lumbar intervertebral discs and facet joints before and after physiological loading using T2 mapping MRI. Spine. 42, 2017: E1423-28. DOI: 10.1097/BRS.2204. 査読 ; 有

3) Chokan K, Murakami H, Endo H, Mimata Y, Yamabe D, Tsukimura I, Oikawa R, Doita M. Evaluation of water retention in lumbar intervertebral discs before and after exercise stress with T2 mapping. Spine. 41, 2016: E430-6. DOI:10.1097/BRS1283. 査読 ; 有

[学会発表](計 20 件)

1) Yamabe D, Murakami H, Endo H, et al. Pathological Evaluation of Articular Cartilage Degeneration in the Human Zygapophysial Joint. Orthopaedic Research Society 2018 Annual Meeting. 2018

2) Oikawa R, Murakami H, Endo H, et al. Bone Metabolism after Spinal Fusion Surgery Using Serum Ionic Fluoride Concentration. Orthopaedic Research Society 2018 Annual Meeting. 2018

3) Endo H, Murakami H, Yamabe D, et al. Postoperative Changes of Ligamentum Flavum Leading to Indirect Decompression by Lateral Lumbar Interbody Fusion. American Academy of Orthopaedic Surgeons 2018 Annual Meeting. 2018

4) 菅原敦、村上秀樹、田島吾郎、他 . 早期腰椎椎間板変性に伴う細胞外基質変化と MRI 評価 - T2 強調画像と T2 マッピング法の比較 - 第 32 回日本整形外科学会基礎学術集会 . 2017

5) 及川諒介、村上秀樹、遠藤寛興、他 . 血清中フッ素イオン濃度による脊椎固定術後の骨代謝に関する検討 . 第 32 回日本整形外科学会基礎学術集会 . 2017

6) 由留部崇、伊藤雅明、寺嶋良樹、他 . 脊椎椎間板変性へのオートファジーの関与とその脊索由来細胞における恒常性維持機構の可能性 . 第 32 回日本整形外科学会基礎学術集会 . 2017

7) 伊藤雅明、由留部崇、角谷賢一朗、他 . オートファジーの抑制はヒト椎間板細胞においてアポトーシス、セネッセンスを誘導し、細胞数を減少させる . 第 32 回日本整形外科学会基礎学術集会 . 2017

8) 垣内裕司、由留部崇、角谷賢一朗、他 . mTORC1 阻害薬テムシロリスムはヒト椎間板髄核細胞において細胞死、細胞老化、細胞外基質分解を抑制する . 第 32 回日本整形外科学会基礎学術集会 . 2017

9) 遠藤寛興、村上秀樹、山部大輔、他 . 腰椎変性すべり症に対する前後合併固定術の間接的除圧効果および隣接椎間への影響の検討 . 第 32 回日本整形外科学会基礎学術集会 . 2017

10) 遠藤寛興、村上秀樹、山部大輔、他 . 腰椎変性すべり症に対する前後方関節除圧固定術と後方直接除圧固定術の多施設前向き研究による比較検討 . 第 90 回日本整形外科学会学術総会 . 2017

11) 遠藤寛興、村上秀樹、山部大輔、他 . 腰椎すべり症に対する OLIF を用いた前後方間接除圧固定術の手術成績-多施設前向き研究による後方直接除圧固定術との比較検討- . 第 46 回日本脊椎脊髄病学会学術集会 . 2017

12) 村上秀樹、遠藤寛興、山部大輔、他 . LIF と後方低侵襲 hybrid 法を用いた成人脊柱変形手術の検討 . 第 46 回日本脊椎脊髄病学会学術集会 . 2017

13) 村上秀樹、遠藤寛興、山部大輔、他 . 高度脊柱管狭窄症例に対しても LLIF での間接的除圧効果が得られるか . 第 46 回日本脊椎脊髄病学会学術集会 . 2017

14) 山部大輔、村上秀樹、遠藤寛興、他 . 腰椎変性疾患に対する oblique lateral interbody fusion (OLIF) の術後成績 -JOABPEQ を用いた前向き研究-第 89 回日本整形外科学会学術総会 . 2016

15) 遠藤寛興、村上秀樹、山部大輔、他 . 腰椎すべり症に対する Oblique Lateral Interbody Fusion (OLIF) を用いた低侵襲前方後方固定術の手術生成期-後方椎体間固定術との比較検討- . 第 45 回日本脊椎脊髄病学会学術集会 . 2016

16) 村上秀樹、遠藤寛興、山部大輔、他 . 成人脊柱変形に対する側方進入腰椎椎体間固定に併用する後方固定法の検討-従来法と経

皮的椎弓根スクリー法との比較-第 45 回日本脊椎脊髄病学会学術集会 . 2016

17) 菅原敦、村上秀樹、田島吾郎、他 . 腰椎椎間板早期変性の変性度評価に T2 マッピング法及び dGEMRIC 法は有用である . 第 31 回日本整形外科基礎学術集会 . 2016

18) 張簡鴻宇、村上秀樹、遠藤寛興、他 . T2 マッピング法による腰痛運動負荷前後の椎間板抱水能の評価 . 第 24 回日本腰痛学会 . 2016

19) Chokan K, Murakami H, Endo H, et al. Evaluation Of Water Retention In Lumbar Intervertebral Disks Before And After Exercise Stress With T2 Mapping. American Academy of Orthopaedic Surgeons 2016 Annual Meeting. 2016

20) Yamabe D, Murakami H, Endo H, et al. Evaluation of Water Retention in Zygapophysial Joint Cartilage and Lumbar Intervertebral Discs Before and After Exercise Stress with T2 mapping. American Academy of Orthopaedic Surgeons 2016 Annual Meeting. 2016

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

取得状況(計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

〔その他〕
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者

土井田 稔 (DOITA, Minoru)
岩手医科大学・医学部・教授
研究者番号 : 60237170

(2)研究分担者

村上 秀樹 (MURAKAMI, Hideki)

岩手医科大学・医学部・准教授
研究者番号 : 20285604

遠藤 寛興 (ENDO, Hirooki)
岩手医科大学・医学部・講師
研究者番号 : 60458172

(3)連携研究者

()

研究者番号 :

(4)研究協力者

()