

氏 名	ふく だ せい じゅん 福 田 正 順
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3006 号
学位授与の日付	平 成 18 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学位論文題目	New Canine Spinal Cord Injury Model Free From Laminectomy (イヌに適用した椎弓切除術を必要としない脊髄損傷モデル)
論文調査委員	(主 査) 教 授 中 村 孝 志 教 授 橋 本 信 夫 教 授 真 鍋 俊 明

論 文 内 容 の 要 旨

本研究の目的は脊髄損傷の治療法の有効性を評価するための脊髄損傷モデルの確立することである。このモデルは臨床に即したものが望ましい。しかしこれまでのモデルは椎弓切除を伴う脊髄損傷であったため、イヌなどの大型動物にそのまま適用するには問題があった。まず閉鎖空間でないため、2次損傷の進展が異なるということである。また再生過程での周囲組織の影響も無視できない。そこで新たなバルーンを用いたイヌ脊髄損傷モデルが考案された。この方法では椎弓切除術は不要である。またイヌなどの大型動物モデルには臨床に用いる MRI や血管造影の装置がそのまま適用可能であるため、脊髄損傷モデルを作製することによって新たな治療法の開発や治療後の経過観察が容易に行われる。本研究では 6Fr のシリコンバルーンカテーテル（三矢メディカル（株））を使用した。イヌの椎間孔からカテーテルを硬膜外の脊椎腔内に挿入した。カテーテルの先を第一腰椎まで進めて、バルーンを膨らませ、10分間保持して圧迫損傷させた。6 匹のイヌでは 1.5ml の生食で圧迫損傷を加え、3 匹のイヌでは 1.0ml の生食で圧迫損傷を加えた。術後の歩行機能は Basso, Beattie, Bresnahan (BBB) による 21 点スコアを用いて評価した。術直後よりすべてのイヌで麻痺が生じた。術後 1 週間の評価でも 1.5ml で圧迫した 6 匹のイヌでは両下肢の動きはまったく認められなかった。BBB スコアは 0 点だった。一方 1.0ml で圧迫した 3 匹のイヌでは下肢の動きが多少認められた。1.5ml のモデルではそれ以降 6 ヶ月間も両下肢の自発的な動きは観察できず、BBB スコアは 1 点以下だった。脊髄の変化は定期的に MR 撮像を行って評価した。手術直後の T2 強調の MRI では圧迫部位の脊髄に高信号が認められた。同部位は 3 ヶ月以降低信号を呈した。また中枢側および末梢側への病変の広がり確認でき、脊髄損傷に二次損傷が示唆された。この変化はこのモデルが臨床のモデルに近いことを意味する。6 ヶ月後の組織標本に HE 染色、Luxol Fast Blue 染色、免疫染色を実施して顕微鏡下に観察した。脊髄を損傷した圧迫中心で Masson trichrome 染色で青く染まる瘢痕形成を認められた。このことから瘢痕には多量のコラーゲンが含まれることが示唆された。同時に硬膜の肥厚も認めた。組織標本と比較するとコントロールの約 2 倍の厚みがあった。中枢側および末梢側に進展する空洞形成が観察され、空洞の周辺には圧迫損傷で変性した組織を貪食する大小球形のマクロファージ様の細胞が見られた。加えて損傷の中枢側では軸索の浮腫性変化とグリアの増生を認めた。この定量的評価には Scionimage Beta4.0.2 ソフトウェアが用いられた。上述のように椎弓切除術を必要としない脊髄損傷作製方法を用いて 1.5ml のバルーン損傷により、不可逆的なイヌの脊髄損傷モデルを作製し、人間の典型的な臨床に近い像を得ることができた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

脊髄損傷に対する治療法を開発する上で、基礎となる動物モデルを確立することが重要である。従来の動物モデルは脊髄損傷の作製に先立って Laminectomy（椎弓切除術）を行っていた。Laminectomy は実験動物に大きな侵襲を与え、さらに脊柱管内が閉鎖空間でなくなるため、2次損傷の進展が異なる欠点がある。申請者は Laminectomy を行わずに脊髄損傷モデルを作製することを大型動物としてのイヌを用いて検討した。

第3及び第4腰椎の椎間孔から脊柱管内に上行性に挿入し、第1腰椎レベルに先端を留置したバルーンに生理的食塩水1.5mlを注入して硬膜外から脊髄を圧迫損傷させた。脊髄の損傷度は運動機能評価、脊髄誘発電位、MRI、組織検査により確認した。結果として、用いた6頭のイヌでは損傷後6ヶ月時点でも両下肢の運動は全く認められなかった。損傷直後と3ヶ月後のMRIを比較すると、病変は中枢側および末梢側へ拡大しており、一次損傷に引き続いて二次損傷が発生していることが確認され、作製したイヌ脊髄損傷の病態が、ヒト脊髄損傷の病態と類似したものであることが確認された。このモデルは寿命が1年程度の齧歯類モデルではできなかった長期の評価や、ヒト用のMRI装置や血管造影装置を用いたintervention治療が可能であり、新規脊髄損傷の治療法の開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成18年3月13日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。