

## 論文審査の結果の要旨

申請者名 箱崎貴治

提出された箱崎貴治氏の学位論文について、平成 28 年 1 月 20 日、5 名の審査委員（原 康、尼崎 肇、小山秀一、高橋公正、藤田道郎）が最終試験を行った。論文審査の結果は以下の通りである。箱崎貴治氏の学位論文のテーマは犬の頸椎における隣接椎間障害に関する研究であり、本論文は第一章（序章）に始まり、全部で五章構成となっている。

小動物神経外科領域において、犬の頸椎に発生する代表的な疾患として頸部椎間板ヘルニア（Cervical intervertebral disc herniation: C-IVDH）や頸部脊椎脊髄症（Cervical spondylomyelopathy: CSM）が挙げられる。C-IVDH そして CSM 罹患症例に対する治療として、個々の症例の脊髄圧迫の性格（動的/静的）に基づいて、腹側減圧術（Ventral Slot: VS）または椎体固定術（Vertebral Fixation: VF）が適応されるが、VF 実施後には隣接する椎間部に類似した病変（ドミノ病変）の危険性が指摘されている。つまり、椎間部が固定されることにより隣接する椎間に異常な力学環境が生じ、潜在的な不安定性を悪化させ、椎間板髄核の逸脱、または線維輪の肥大化を招く。このドミノ病変に起因した臨床症状は術後 6 ヶ月から 4 年の間に生じると報告されている。人医領域でも頸椎および腰椎の椎体固定後に隣接した椎間部における病変が報告されており、人の頸椎を用いた生体力学的検討においては、固定した部分に隣接した椎間板内圧または可動性が増加すると報告されている。しかしながら、犬において隣接椎間障害の病態に関する報告は少なく、生体力学的および分子生物学的なメカニズムは未だに不明な点が多い。申請者は犬の頸椎における隣接椎間障害の病態を明ら

かにすることを目的とし、本研究を実施している。

## 第二章

本章では、犬の頸部脊椎疾患における外科処置後の隣接椎間障害の発生状況を把握するため、犬の頸椎に発生する代表的な疾患である C-IVDH および CSM に着目し、回顧的検討を行っている。本章においては、隣接椎間障害を「C-IVDH および CSM 罹患症例において外科手術後 6 ヶ月以上の追跡が可能であり、頸部痛、四肢の不全麻痺および完全麻痺による臨床症状の再発が認められた症例、または脊髄造影検査（脊髄造影 X 線または CT）および MRI により頸髄に圧迫性の病変が認められた症例」と定義し、217 症例を対象としている。その結果、隣接椎間障害の発生率は、減圧術のみを行った DC 群で 5.2% (n=9/172)、減圧術と椎体固定術を併用した VF 群で 15.6% (n=7/45) であり、減圧術のみを行った症例と比較して約 3 倍であった。さらに、本章においては、VF の併用に関して隣接椎間障害の発生と有意な関連性が認められたことから、隣接椎間障害の発生には椎体の安定化術が関連していることが示唆された。

## 第三章

本章では、健常ビーグル犬から採取した頸椎を使用して第 4、5 頸椎間 (C4-5) を隣接椎間、第 5、6 頸椎間 (C5-6) を処置椎間とする頸椎可動モデルを作成し、椎体固定後の処置椎間および隣接椎間の力学環境に及ぼす影響について 6 軸材料試験機を用いて検討している。なお、本章においては Intact モデル、ポリメチルメタクリレート (Polymethyl methacrylate: PMMA) モデル、Plate モデルの 3 つの試験体モデルを同一試験体に対して段階的に作製し、それぞれのモデルで屈曲・伸展、左右側屈、左右回旋方向への可動域を測定している。その結果、処置椎間である第 5、6 頸椎間 (C5-6) の可動域は、Intact モデルと比較して PMMA および Plate モデルにおいて有意に低値を示した。また隣接

椎間である C4-5 の可動域は、PMMA モデルおよび Plate モデルのいずれにおいても Intact モデルと比較して有意に高値を示した。以上の結果から、椎体固定は隣接椎間における力学的環境を変化させ、隣接椎間障害の一因となる可能性が示唆された。また、曲げ試験において、C5-6 の可動域を PMMA モデルと Plate モデルで比較した結果、屈曲伸展では有意な差は認められなかったが、左右側屈では PMMA モデルよりも Plate モデルにおいて有意に低値を示した。回旋試験では処置椎間である C5-6 の可動域が Plate モデルよりも PMMA モデルにおいて有意に低値を示した。よって、左右側屈においては Plate モデルの方が、左右回旋においては PMMA モデルの方がより高い固定強度を有していたことから、固定法の違いにより隣接椎間に生じる影響が異なることが示唆された。

#### 第四章

本章では、第 3 章において固定椎間に隣接した椎間部において可動性の増加が認められたことから、同部位における犬の椎体固定モデルを作成することにより類似した力学的環境を再現し、隣接椎間における力学的環境の変化が椎間板に及ぼす影響について組織学的に検討している。なお本章では、健常ビーグル成犬 12 頭を用いて、Control 群、そして椎体固定を実施した短期・安静管理群、短期・運動負荷群、長期・安静管理群の 4 群に分けて検討を行っている。各実験犬群は、観察期間中に神経学的検査、X 線検査、および MRI 検査により評価している。さらに、観察期間終了後に安楽死とし、C4-5 の椎間板髄核および線維輪をそれぞれ採取し、組織学的評価および I 型コラーゲン (Col1A1)、II 型コラーゲン (Col2A1)、血管内皮増殖因子 (VEGF)、マトリクスメタロプロテイナーゼ (MMP) 13 の免疫組織化学的な評価を行っている。その結果、隣接椎間における髄核での MRI 信号値の低下、組織学的スコアの上昇、および軟骨細胞様細胞の増加と集塊形成

が多数認められたことから、椎体固定の影響により変性が進行している可能性が示唆された。また椎間板髄核における細胞外基質の変化に関しては、椎体固定群において Col1A1 および MMP13 陽性細胞の増加と、それに伴う Col2A1 陽性細胞の減少が認められたことから、椎体固定の影響により変性が進行していると考えられた。一方、線維輪においても、椎体固定群において細胞密度が減少し、球形細胞が増加する傾向が認められ、また外側の層状構造が不正となっている部分も多く認められたことから、固定の影響による変性の進行が示唆された。また線維輪において細胞外基質の変化を調べたところ、椎体固定の影響により一部では Col1A1 の陽性反応が低下し、軟骨基質に置き換わっている部分も認められた。Col2A1 に関しては、陽性領域が認められなかったものの、陽性細胞率はコントロール群と比較して椎体固定群において高値を示し、線維輪においてもコラーゲン線維の分解と軟骨化生の進行が示唆された。またこれらの変化は運動負荷または固定後経過時間に伴い進行した。以上の成績より、頸椎の椎体固定により隣接椎間板における椎間板髄核および線維輪の変性が進行することが明らかとなり、隣接椎間障害を招く危険性があることが示唆された。

以上のように、本論文は犬の頸椎の椎体固定により隣接椎間における力学的環境が変化し、椎間板髄核および線維輪の変性が進行することを客観的に証明した初めての論文であり、本論文の各章で得られた多くの知見は、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（獣医学）の学位論文として十分な価値を有するものと認め、合格と判定した。