

研 第 354 号


(別紙様式第 3 号)

## 論 文 要 旨

### 論 文 題 目

Increased expression of vascular endothelial growth factor protein in dorsal root ganglion exposed to nucleus pulposus on the nerve root in rats

(ラット髄核留置モデルにおける後根神経節での VEGF の発現)

氏名 三好晋剛 

【はじめに】腰椎椎間板ヘルニアは機械的圧迫因子と化学的因子により下肢痛などの症状が惹起される。実験的には脊髄神経への髄核留置後の疼痛閾値の低下、神経内血流や機能の低下が報告されている。しかし、疼痛閾値の回復期における神経再生と神経内血管の変化については未だ説明されていない。本研究の目的はラット髄核留置モデルにおいて、後根神経節におけるVEGFの発現と疼痛に関連した行動について検討することである。

【対象と方法】対象としてラットSD系メス154匹を使用した。左L4/5椎間関節を部分切除し、左第5腰椎後根神経節（以下DRG）を展開し、髄核留置（以下NP）群ではDRG上に尾椎から採取した髄核を留置した。髄核を留置した髄核留置群（NP群 n = 77）と、DRGのみを展開し髄核を留置しなかった sham 群（n = 77）の2群を設定した。行動学的評価には von Frey test を行い、疼痛閾値（g）を術前、術

※要旨は3枚（1200字以内）にまとめること。

(20×20)

術後 3、7、14、21、28、35 日目に測定した。蛍光免疫染色では左 L5 DRG を術後 3、7、14、28、35 日目に activating transcription factor 3 (ATF3 : 神経損傷マーカー)、hypoxia-inducible factor-1 アルファ (HIF-1 $\alpha$  : 虚血マーカー)、VEGF (血管新生因子)、growth associated protein-43 (GAP-43 : 軸索伸長因子)、第 VIII 因子 (血管内皮細胞マーカー) それぞれの免疫活性 (IR) を評価した。ウエスタンブロットでは、術後 3、14、28、35 日目に左 L5 DRG における VEGF と GAP-43 発現を定量し、2 群間で比較した。統計学的検討は行動学的評価には two-factor repeated measure analysis of variance (ANOVA) と Bonferroni / Dunn test を用


い、免疫染色とウエスタンブロットには M a n n - W h i t n e y ' s U t e s t を用いた。危険率  $p < 0.05$  を有意とした。

【結果】疼痛閾値は N P 群で s h a m 群と比較して術後 7 日から 28 日まで低下し ( $p < 0.05$ )、35 日目では両群間に差は認めなかった。N P 群では A T F 3 - I R は術後 3 日から 14 日目まで増加し、H I F - 1  $\alpha$  - I R は術後 14 日目に、第 VIII 因子陽性の血管数は 28 日目に増加した ( $p < 0.05$ )。V E G F と G A P - 43 の蛋白発現量は、N P 群において術後 14 と 28 日目に有意に増加した ( $p < 0.05$ )。

【考察】髄核留置後に疼痛閾値が低下し、神経損傷と虚血が惹起された。V E G F 発現後に神経再生と血管数増加が認められ、その後疼痛閾値が改善した。疼痛閾値改善には V E G F の神経保護作用と血管新生作用が関与していることが示唆された。

(別紙様式第 7 号)

## 論 文 審 査 結 果 の 要 旨

報告番号	課程博 * 第 354 号 論文博	氏名	三好晋樹
論文審査委員	審査日	平成 22 年 2 月 8 日	
	主査教授	松下 正之	
	副査教授	斎藤 誠一	
	副査教授	石内 勝吾	
( 論 文 題 目 )			
<p>Increased expression of vascular endothelial growth factor protein in dorsal root ganglion exposed to nucleus pulposus on the nerve root in rats (ラット髄核留置モデルにおける後根神経節での VEGF の発現)</p>			
(論文審査結果の要旨)			
<p>上記論文に関して、研究に至る背景と目的、研究内容、研究成果の意義、学術的水準等につき慎重かつ公正に検討し、以下のような審査結果を得た。</p>			
<p>1. 研究に至る背景と目的</p> <p>腰椎椎間板ヘルニアでは、髄核の機械的圧迫のみならず、化学因子により症状が惹起されることが知られている。実験的検討では、髄核を神経根に留置することで、神経根と後根神経節に形態学的、機能的変化と神経内血流低下が認められた。下肢痛の診断や治療の一つとして、神経根ブロックがある。神経根ブロック後に、薬理効果以上に症状改善が持続する機序として、神経内血流の改善の関与が示唆されている。このことより、血流改善と神経機能の改善には関連が示唆される。Vascular endothelial growth factor (VEGF) は血管新生や血管透過性における重要な因子であり、また、神経栄養因子としても報告されている。馬尾脊髄神経では、圧迫後に虚血を反映する因子 (hypoxia-inducible factor-1<math>\alpha</math>:HIF-1<math>\alpha</math>) が発現し、その後に血管新生因子である VEGF の発現が増加したと報告された。しかし、髄核留置の影響を受けた後根神経節内の虚血については、未だ不明な点が多く、さらに疼痛関連行動との関連については十分な検討がなされていない。本研究の目的は、ラット髄核留置モデルを用いて、疼痛関連行動との関連、後根神経節 (DRG) における VEGF の発現、神経損傷・虚血・軸索伸長因子の蛋白発現、血管数の変化について検討することである。</p>			

- 備 考 1 用紙の規格は、A 4 とし縦にして左横書きとすること。  
 2 要旨は 800 字～1200 字以内にまとめること。  
 3 \*印は記入しないこと。

## 論 文 審 査 結 果 の 要 旨

## 2. 研究内容

【対象と方法】ラット左第5腰椎神経(L5)のDRGに、髄核を留置した髄核留置群(NP群n=77)と、DRGのみ展開したsham群(n=77)の2群を設定した。疼痛閾値(g)は、術前、術後3から35日目まで測定した。DRGをactivating transcription factor3(ATF3)、HIF-1 $\alpha$ 、VEGF、growth associated protein-43(GAP-43)、第VIII因子それぞれの免疫活性(IR)を染色した。ウエスタンブロットで、VEGFとGAP-43を定量した。統計学的検討は、行動学的検討にはBonferroni testを使用し、免疫染色とウエスタンブロットにはMann-Whitney's U testを使用した。

【結果】疼痛閾値は、NP群でsham群と比較して術後7~28日まで低下した( $p<0.05$ )。NP群において、ATF3-IRは術後3~14日まで、HIF-1 $\alpha$ -IRは14日目に高値を示し、第VIII因子陽性血管数は28日目高値を示した( $p<0.05$ )。VEGFとGAP-43の発現量は、NP群において14、28日目に有意に増加した( $p<0.05$ )。

## 3. 研究成果の意義と学術的水準

髄核留置モデルにおいて疼痛閾値が改善する神経回復過程には、VEGFによる血管新生作用と神経栄養作用が関与する可能性が示唆された。実験的に、ラット髄核留置モデルでVEGFの投与により、疼痛い既知の改善が見られれば、臨床的に椎間板ヘルニアの神経根性疼痛に対する治療に結びつく可能性を有している。

以上より、本論文は学位授与に十分値するものであると判断した。

- 備 考
- 1 用紙の規格は、A 4とし縦にして左横書きとすること。
  - 2 要旨は800字~1200字以内にまとめること。
  - 3 \*印は記入しないこと。