

学 位 論 文 要 旨

氏 名 石丸 泰光

論 文 名 ラマン分光法を用いた座骨神経切除による
廃用性骨粗鬆症モデルマウスの骨質計測

学位論文要旨

【目的】

骨粗鬆症は骨強度が低下する疾患であり、骨粗鬆症性の骨折ではADLが低下するだけでなく、死亡リスクも増加する。これまで骨折リスク評価は、おもに骨密度計測によって行われてきたが、近年では骨密度が必ずしも骨強度と正の相関を示さず、骨密度だけでなく、骨質の低下が骨折リスクを増大させることがわかってきた。しかし、臨床的に骨質を計測し、骨折リスク評価を行う方法は確立されていないのが現状である。そこで本研究では、骨密度に加えて骨質の評価を行う新しい計測技術の開発とその臨床応用を目的として、骨の分子組成を非侵襲的に計測することのできるラマン分光法に着目した。ラマン分光法に基づく骨質計測の有用性を検討するために、坐骨神経切除による骨粗鬆症モデルマウスを作製し、骨組織のラマン分光分析を行うとともに、X線による骨密度計測およびマイクロCTによる骨微細構造の評価により廃用性骨粗鬆症の病態を理解し、予防・診断および治療へつなげることを目標とした。

【方法】

7匹の11週齢のC57BL/6Jマウスの片側坐骨神経切除を行い、実験群(NX群)とした。また、3匹に偽手術を行い対照群(Sham群)として、廃用性骨粗鬆症を誘発したときの骨質を比較した。術後8カ月で安楽死処置後、下肢骨を採取しレーザーラマン顕微鏡を用いて脛骨近位前面の皮質骨のラマンスペクトルの計測を行った。過去の文献を参考に、計測されたラマンスペクトルデータに反映されている骨基質中の分子成分を同定した。NX群とSham群においてラマンバンド(ラマンスペクトルのピーク値)の変化を定量分析するために、骨のミネラル基質中の炭酸塩/リン酸塩比、ミネラル/マトリックス比、およびマトリックス中のコラーゲンの比率(ラマンピーク比)を計算し、比較を行った。また、主成分分析によってラマンスペクトル上の複数のラマンピーク変化を包括的に解析し、両群での差を検討した。ラマンスペクトル計測後に、骨密度計測およびマイクロCTによる骨微細構造の評価を行った。

【結果】

ラマンスペクトルのピーク比を比較すると、骨のミネラル基質中の炭酸塩の比率を示す carbonate/phosphate 比が NX 群で有意に高かった。石灰化度を表すミネラル/マトリックス比を比較すると、mineral/phenylalanine 比と mineral/proline+hydroxyproline 比が NX 群で有意に高かった。同じくミネラル/マトリックス比である mineral/CH₂ 比と mineral/amide I 比も同様に NX 群で高い傾向にあったが、有意差は認めなかった。加えて、マトリックス中のコラーゲン比率を amide I/CH₂ 比を比較すると、NX 群で低い傾向にあったが、有意差は認めなかった。また、ラマンスペクトルの主成分分析を行った結果、ミネラル、マトリックスのスペクトル変化を特徴とする主成分によって、両群間を判別できる可能性が示唆された。骨密度は大腿骨、脛骨ともに NX 群で有意に低下しており、マイクロ CT の結果では骨量 (BV/TV)、trabecular number、trabecular thickness、海綿骨骨密度、皮質骨厚、皮質骨骨密度が NX 群で有意に高く、structural model index (SMI) と trabecular separation が NX 群で有意に低かった。

【考察および結論】

坐骨神経切除による骨粗鬆症モデルにおいて骨密度の低下と微細構造に変化が見られ、骨強度の低下が確認できた。過去の報告によると carbonate/phosphate 比の上昇はミネラル中の組成における炭酸塩の増加を示しており、骨折リスク増加と関連していると考えられている。自験例でも NX 群で carbonate/phosphate 比が上昇しており、骨質の低下が確認できた。また石灰化度を表す mineral/matrix 比も骨質の指標とされており、自験例では mineral/matrix 比が NX 群で上昇しており、石灰化度が高い骨基質、つまり古い骨基質が増えており骨質の低下が示唆された。さらに自験例では、マトリックス中のコラーゲン比率を amide I/CH₂ 比として比較し、有意差はないものの NX 群で低いという結果が得られ、これはコラーゲン組成の変化、つまり骨質の変化を捉えていると考えられる。ラマンスペクトルは、ミネラルおよびマトリックス成分の分子組成に関する情報を含む多変量データであるため、骨組織の化学変化を包括的かつ非破壊的に解明する可能性を秘めている。ラマン分光法は、骨基質におけるミネラルおよびマトリックスの分子組成変化をとらえることができ、今後骨質の評価ツールとして利用できることが期待される。この動物実験は、愛媛大学医学部の動物実験の倫理委員会によって承認されている。

キーワード (3~5)	骨粗鬆症 骨質 ラマン分光法 座骨神経切除マウス コラーゲン
-------------	--