

Hoshi K, Amizuka N, Kurokawa T,
Nakamura K, Shiro R, Ozawa H.
Histopathological characterization of
melorheostosis : Orthopedics 24(3) 273-277,
2001

Hoshi K, Ejiri S, Ozawa H. Ultrastructural
analysis of bone calcification by using
energy-filtering transmission electron
microscopy : Italian Journal of Anatomy and
Embryology 106(2) 141-150, 2001

IV

骨・軟骨組成

後縦靱帯骨化症における黄色靱帯の電顕的検討

中間 季雄 (自治医科大学附属大宮医療センター整形外科), 星野 雄一 (自治医科大学整形外科),
二瓶 あき (自治医科大学整形外科), 菅又 昌雄 (栃木臨床病理研究所),
井原 智美 (栃木臨床病理研究所)

【研究要旨】

OPLL には黄色靱帯骨化病変を合併することが多く, 脊椎靱帯骨化症の病態を解明するためにも黄色靱帯の微細構造を検討することは極めて重要である。

本研究においては, 頸椎 OPLL にて椎弓形成術 (棘突起縦割法) を行った 5 症例 (男 3 例, 女 2 例, 手術時平均年齢 63 歳) を対象とし, 手術時に C2/3 から C7/Th1 各椎弓間において黄色靱帯の小片を採取, 光顕, 電顕にて観察した。OPLL においては, CSM と比較して弾性線維の萎縮, 間質部の拡大, 配列, 走行の乱れや, 弾性線維内の染色性の低い領域や電子密度の高い物質の沈着, 弾性線維周囲のコラーゲン線維の走行の乱れなど, 弾性線維, 弾性線維周囲コラーゲン線維束の構築学的変化が生じていた。また毛細血管の出現も認められた。これらの変化は臨床症状が重篤であるほど著明であった。OPLL においては, 黄色靱帯に構造学的異常が存在している可能性が高い。

A. 研究目的

後縦靱帯骨化症 (以下 OPLL) における後縦靱帯の組織像についてはいくつかの報告^{1,2)}があるが, 黄色靱帯の微細構造についての報告はない。すでに我々は, 頸椎症性脊髄症 (CSM) において, 頸椎黄色靱帯の靱帯細胞 (線維芽細胞) の cell cycle, 靱帯の微細構造は頸椎高位により異なることを証明し, これらの基本構造の違いは脊椎靱帯骨化症の病態を解明するためにも基本的で重要な所見であると指摘した³⁾。OPLL には黄色靱帯骨化病変を合併することが多く, 脊椎靱帯骨化症の病態を解明するためにも黄色靱帯の微細構造を検討することは極めて重要である。しかも黄色靱帯は後方手術時に比較的採取しやすいため臨床材料として適している。本研究の目的は OPLL 症例における黄色靱帯の組織学的変化を探り, 脊椎靱帯骨化症病態解明の一助にしようというものである。

B. 研究方法

頸椎 OPLL にて椎弓形成術 (棘突起縦割法) を行った 5 症例を対象とした (表 1)。症例の内訳は, 男 3 例, 女 2 例, 手術時平均年齢 63 歳, 術前 JOA スコアでみると, 比較的軽微の症例 1, 2, 3 と, 重症である症例 4 と 5 に分けられる。手術時に C2/3 から C7/Th1 各椎弓間において靱帯中央部より黄色靱帯の小片を採取, ただちに 1% glutaraldehyde-4% formalin-0.1M cacodylate buffer に浸し 4℃ で 6 時間以上固定した。光顕的観察のためにはアルコール系列で脱水の後パラフィンに包埋, 薄切片を作製し光顕用標本とした。電顕的観察のためには, 1% オスミウム酸で後固定の後アルコールで脱水, Epon812 に包埋, 超薄切片を作製し, 酢酸ウラン, クエン酸鉛により二重染色を行った。

C. 研究結果

CSM における黄色靱帯の所見と比較して以下の

表 1 対象症例の内訳

症例	性	年齢	術前 JOA score
1	女	63	13
2	女	63	12
3	男	70	11
4	男	65	9
5	男	54	6

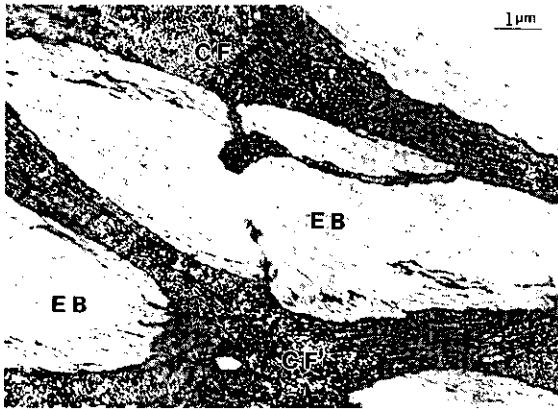


図1 症例1, 軽症例
弾性線維の亀裂, 膠原線維の走行の乱れ
EB: 弾性線維 CF: 膠原線維

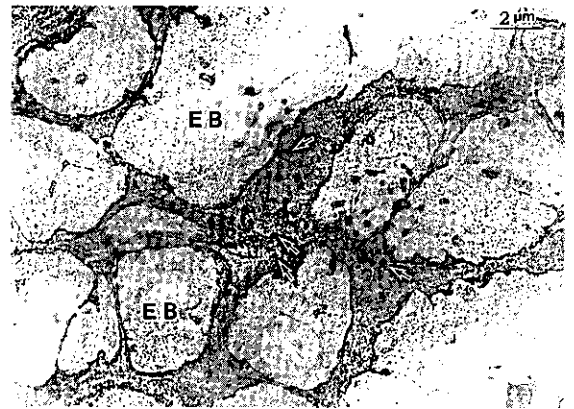


図2 症例2, 軽症例
弾性線維内, 線維間の沈着物質 (→)
EB: 弾性線維

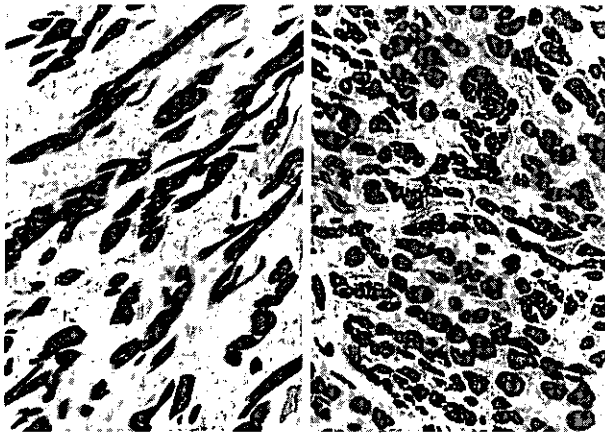


図3 症例4, 5, 重症例
弾性線維の径の減少, 大小不同, 亀裂, 膠原線維部の増加 toluidine blue 染色

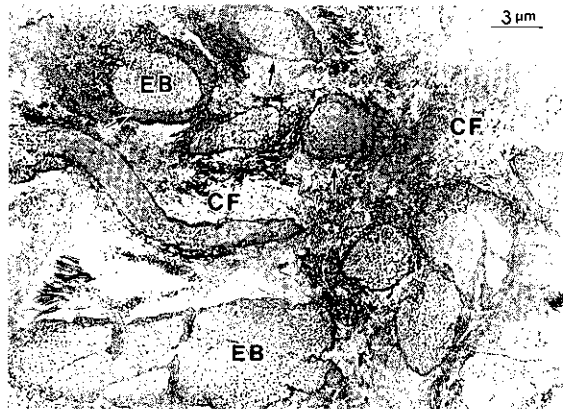


図4 症例5, 重症例
弾性線維の大小不同, 亀裂, 二層構造 (→)
膠原線維の走行の乱れ, 線維間隙の増大
EB: 弾性線維 CF: 膠原線維

ような違いを認めた。脊髄症状が軽度から中等度の3例においては、弾性線維の一部に線維のくびれや亀裂が生じていた(図1)。弾性線維内、線維間には電子密度の高い物質の沈着も認められた(図2)。脊髄症状の重篤な2例においては、症例4では弾性線維の径が著明に減少して大小不同となり膠原線維部が増大していた。症例5においては膠原線維部の増大とともに弾性線維の大小不同や多数の亀裂を認めた(図3)。症例5, 重症例の電顕像では、弾性線維の大小不同, 走行の乱れ, 亀裂, 二層構造を認めた。周囲の膠原線維も走行が乱れ、線維が密に分布しているところとそうでないところが存在していた(図4)。弾性線維の亀裂部では、microfibril が消失し、亀裂部に膠原線維が侵入していた(図5)。また症例5においては、弾性線維内に電子密度の高い領域を

認め、周囲の膠原線維も走行が一定していなかった(図6)。さらに、症例5においては、弾性線維がまばらになった領域に一致して毛細血管を多数認めた(図7)。

D. 考察

結果をまとめると以下ようになる。弾性線維の変化として、径の萎縮, 大小不同, 配列, 走行の乱れ, くびれや亀裂の出現, 弾性線維内の沈着物質, 二層構造, microfibril の消失, 弾性線維間の変化として、線維束間の間隙増大, コラーゲン線維の配列や走行の乱れ, 毛細血管の出現, などである。弾性線維の変化については、すでに腰椎黄色靭帯の加齢変化として弾性線維の断裂, 径の減少, 膠原線維の増加などが報告されている⁴⁾。今回認められた弾性

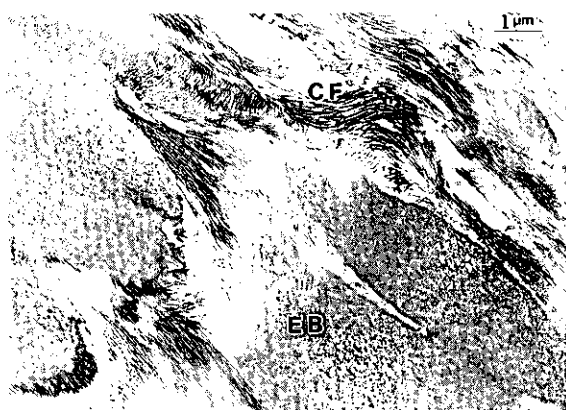


図5 症例5, 重症例
弾性線維の亀裂, microfibrilの消失
亀裂部への膠原線維の侵入
EB: 弾性線維 CF: 膠原線維



図6 症例5, 重症例
弾性線維の変化, 電子密度の高い領域 (→)
膠原線維の走行の乱れ
EB: 弾性線維 CF: 膠原線維

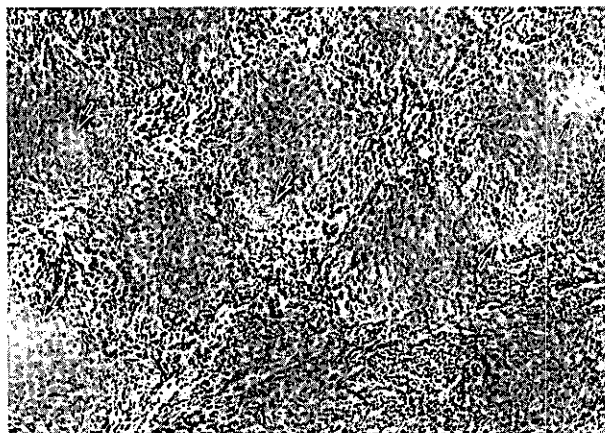


図7 症例5, 重症例
靭帯内の毛細血管の出現 (→)
toluidine blue染色

線維内の沈着物質, 亀裂, microfibrilの消失, 二層構造などは変性像なのか再生像なのか, これらが何を意味するかは不明で今後の検討課題である。

今回興味深かったことは脊髄症状が重症であるほど, 組織変化が著明であったことである。すなわち, 石灰化などの起点ととなりやすい⁵⁾ 膠原線維部が増大していること, 血管新生を認めたことなど, 骨化が起りやすい環境が形成されている可能性がある。一般的にCSM症例においては靭帯内に毛細血管を認めることはほとんどない。靭帯骨化の進展には毛細血管の形成は重要であり, 今後は靭帯内の血管形成に関する検討も必要であると思われる。

今回の検討でOPLLにおいても黄色靭帯に著明な変化が存在することが明らかとなった。黄色靭帯にはエラスチンの豊富な弾性線維が存在するなど, 後

縦靭帯と黄色靭帯は基本的な構造は異なるが, 弾性線維の周囲はコラーゲン線維束で囲まれるなど共通部分も多い。近年黄色靭帯骨化症における生化学的特性なども指摘されており⁶⁾, 脊椎靭帯骨化症においては脊椎靭帯すべてにおいて構造学的異常の可能性が示唆された。

本研究ははまだ症例数が少ないため定量的な評価が出来ず, またこれらの変化が何を意味するのかは今後の検討課題であるが, 脊椎靭帯骨化症の病態, 進行度を評価するにも臨床材料としての黄色靭帯の検討は重要と思われた。

E. 結論

OPLLにおける頸椎黄色靭帯には, CSMと比較して弾性線維や弾性線維周囲のコラーゲン線維束の構

築学的変化が生じていた。また毛細血管の出現も認められた。これらの変化は臨床症状が重篤であるほど著明であった。脊椎靭帯骨化症の病態を解明するためにも黄色靭帯の検討は極めて重要であると思われる。

[参考文献]

- 1) Kubota T., Sato K., Kawano H., Yamamoto S., Hirano A. and Hashizume H. : Ultrastructure of early calcification in cervical ossification of the posterior longitudinal ligament. J. Neurosurg 61 : 131-135, 1984
- 2) 古沢修章, 馬場久敏, 前沢靖久, 内田研造, 福田 優 : 透過型電子顕微鏡によるヒト頸椎後縦靭帯の観察. 厚生省特定疾患 脊柱靭帯骨化症調査研究班 平成7年度研究報告書 : 181-182, 1996
- 3) 中間季雄, 星野雄一, 税田和夫, 大上仁志, 吉川一郎, 萩原佳代, 二瓶あき, 菅又昌雄, 井原智美 : 頸椎黄色靭帯の光顕・電顕・免疫組織化学的検討. 厚生労働省特定疾患対策研究事業 脊柱靭帯骨化症に関する調査研究班 平成 12 年度研究報告書 : 95-98, 2001
- 4) 彌山峰史, 古沢修章, 前沢靖久, 大森弘則, 内田研造, 小久保安朗, 馬場久敏 : 腰椎黄色靭帯の退行性加齢変化と石灰沈着. 日整会誌 75 : S915, 2001
- 5) Kubota T., Kawano H., Yamashita T., Ikeda K., Hayashi M. and Yamamoto S. : Ultrastructural study of calcification process in the ligamentum flavum of the cervical spine. Spine 4 : 317-323, 1987
- 6) 板橋泰斗, 原田征行, 植山和正, 湯川昌弘, 高垣啓一, 遠藤正彦 : ヒト黄色靭帯プロテオグリカンの特性とエラスチンとの親和性. 厚生労働省特定疾患対策研究事業 脊柱靭帯骨化症に関する調査研究班 平成 12 年度研究報告書 : 109-111, 2001

メカニカルストレスによる後縦靭帯骨化症患者由来靭帯細胞の遺伝子発現の変化 (Differential Display 法を用いて)

岩崎 弘英 (弘前大学整形外科), 古川 賢一 (弘前大学薬理学),
丹野 雅彦 (弘前大学整形外科), 植山 和正 (弘前大学整形外科),
元村 成 (弘前大学薬理学), 原田 征行 (青森県立中央病院),
藤 哲 (弘前大学整形外科)

【研究要旨】

後縦靭帯骨化症 (OPLL) における靭帯骨化の発生の機序は明らかではなく、靭帯局所にかかるメカニカルストレスがその一因と指摘されている。今回我々は、メカニカルストレスによる後縦靭帯骨化症患者由来靭帯細胞 (OPLL細胞) の遺伝子発現の変化を、Differential Display (D. D.) 法を用いて解析した。D. D. 法では、メカニカルストレスにより OPLL 細胞で human glia-derived nexin 1 (PN-1) の発現が増加した。RT-PCR では OPLL 細胞で経時的な PN-1, ALP の mRNA 発現が増加し、非 OPLL 細胞では変化は見られなかった。OPLL 細胞では、メカニカルストレスにより PN-1 発現が増加し、thrombin を介した Protease-activated receptor 1 (PAR-1) の活性が抑制されて ALP 活性が上昇し、靭帯骨化が生じる可能性が示唆された。

A. 研究目的

OPLL をはじめとする脊柱靭帯骨化症はその成因がいまだ明らかでなく、遺伝的変異、代謝異常、環境因子、局所因子等々が協奏的に働いて起こる他因子疾患であることが予測されている。OPLL 患者由来脊柱靭帯細胞 (OPLL 細胞) は、非 OPLL 患者由来脊柱靭帯細胞 (非 OPLL 細胞) に比べ、ALP (Alkaline Phosphatase) 活性が高いこと¹⁾、や BMP (Bone Morphogenetic Protein), IGF (insulin-like growth factor), CTGF (connective tissue growth factor) 等成長因子に対する反応が異なる^{2,3,4,5)}ことから、骨形成系細胞に形質転換していることが考えられる。また局所へのメカニカルストレスが OPLL の伸展を促進するという報告^{6,7)}や、メカニカルストレスにより OPLL 細胞で BMP2, osteopontin の発現および ALP 活性が増加したという我々の報告⁸⁾があり、メカニカルストレスが OPLL 発生もしくは進展の一因である可能性も示唆されている。

そこで我々は、OPLL 細胞におけるメカニカルストレスによる遺伝子発現変化を Differential display RT-PCR (D. D. RT-PCR) 法にて解析した。

B. 研究方法

1. 脊柱靭帯細胞

術中に摘出した OPLL 患者、非 OPLL 患者の脊柱靭帯組織から骨成分を除き、outgrowth 法にて靭帯細胞を単離し、10% FBS 添加 DMEM

培地中で、37°C、5% CO₂ 気相下にて培養した。

2. 伸展刺激 (メカニカルストレス)

5 代目の線維芽細胞様細胞を 0.1%ゼラチンコーティングしたシリコンチャンパーに播種し、コンフルエント後 1% FBS 添加 DMEM 培地にて 24 時間インキュベートした後、伸展刺激装置にて一軸方向に周期的伸展刺激 (0.5 Hz, 20% 伸長) を 6 時間加えた。

3. D. D. RT-PCR 法

6 時間の伸展刺激後、total RNA を回収し、3 種類の 3'-anchored oligo (dT) primer (GG (T) 15, GC (T) 15, CG (T) 15) にて cDNA に逆転写した。この cDNA を鋳型として、異なる 3 種類の任意プライマーを用い、cDNA 1 μl の PCR 反応を行った。

生成された PCR 産物を 6% SDS-ポリアクリルアミドゲルで電気泳動し、染色した後、差異のあるバンドをゲルから切り出し、超純水 95°C で煮沸し、DNA を抽出した。抽出した DNA を鋳型とし、同じ primer を用いて同条件で 2nd PCR を行い、6% SDS-ポリアクリルアミドゲルで電気泳動にて再現性を確認した。

4. DNA 配列決定

再現性が確認されたバンドを再び切り出し、

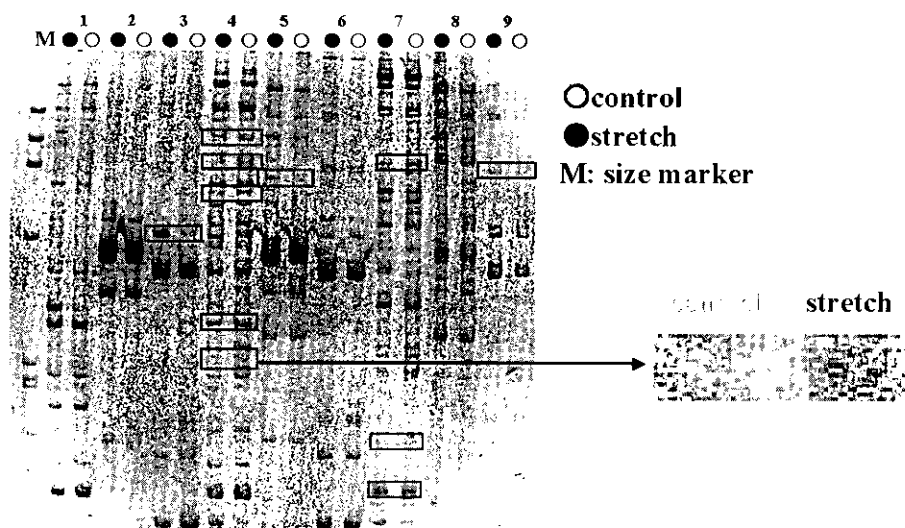


図1 DD-RT PCR

Human glia-derived nexin (GDN) mRNA, 5' end

GTTGGACCGCGATTTCCAGGACCCTTGAAATACACTGCGTTGACAAAG
 GACCAGTCTGGTGAGCACACCATCAATAAGATCTGGGGACAGCAGATTG
 TCAATCATATCCCTGGTTTCATTTTTTAACCCATGCATTGATGGAATCAC
 AGGCAGAGGCTGGATCCTCAAAGTTCACATTCGGGACCTCACACTGGAA
 CACATCTTTGTTTCCTTGTAACAAAAGGCACCTTAAATTCCAGAGGCATT
 CTTAACAAACACGGCGTTAGCCACTGTCACAATGTCTTTA

Homology=95%

図2 Sequencing

超純水 100 μ l, 95°CにてcDNAを抽出し、精製した。テンプレートDNA 100bpにつき5~10ngで、シーケンス反応を行い、精製後塩基配列を解析し、結果は National Center for Biotechnology Information (NCBI) の遺伝子データベースをBLASTにて検索した。

5. メカニカルストレス負荷による Protease nexin 1 (PN1), ALPの経時的mRNA発現量の変化

前述の伸展刺激装置を用い、同条件で伸展刺激後0, 3, 6, 9時間後にmRNAを回収し、ALP, PN1の発現量をRT-PCRにて定量した。PCR産物を2.5%アガロース変性ゲルで泳動後・染色し、泳動ゲル画像を解析した。

6. PAR-1 (Protease-activated receptor 1), ProthrombinのOPLL細胞での発現の確認
 RT-PCR法により、OPLL細胞でのPAR-1, Prothrombinの発現を確認した。

C. 研究結果

1. D. D. RT-PCRと発現変化した遺伝子の同定決定

同一のOPLL細胞で、6時間伸展刺激を加えた細胞(stretch)、加えない細胞(control)からそれぞれRNAを抽出し、RT-PCR後、電気泳動を行ったところ、四角により囲まれた11種類の遺伝子発現の異なるbandが得られた(図1)。Sequencingの結果、stretchで遺伝子発現が増加した1つのDNA fragment(図1右)より得

表 1 samples

OPLL			non-OPLL		
Diagnosis	Gender/ Age	Tissue	Diagnosis	Gender/ Age	Tissue
OPLL	M/63	PLL	CDH	M/46	PLL
OPLL	M/46	PLL	CDH	M/60	PLL
OPLL	M/50	LF	CDH	M/71	PLL
OPLL	M/63	LF	CDH	F/49	PLL
OPLL	F/63	LF	CDH	F/49	PLL

PLL:後縦靱帯 LF:黄色靱帯 CDH:頸椎椎間板ヘルニア

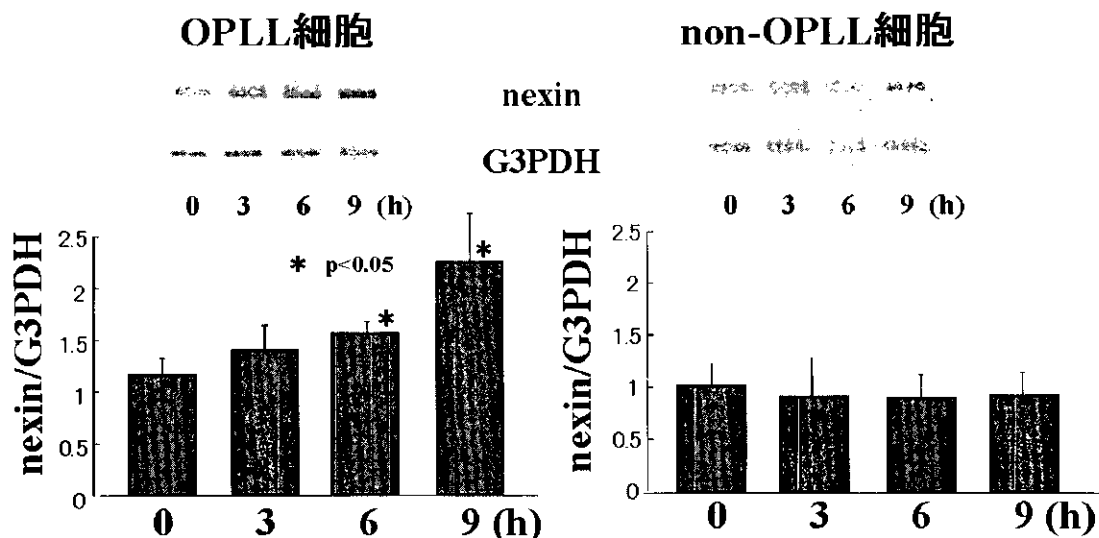


図3 メカニカルストレスに対するNexin mRNAの経時的発現量の変化

られた塩基配列は、human glia-derived nexin1 (PN-1) と95%の相同性を有していた(図2)。

2. メカニカルストレスによるProtease nexin 1 (PN-1), ALPの経時的mRNA発現量の変化
OPLLおよび非OPLL細胞に0, 3, 6, 9時間の各時間、メカニカルストレスを加え、PN1, ALPのmRNA発現量をRT-PCRにて定量した。OPLL5例、非OPLL(頸椎椎間板ヘルニア)5例の脊柱靱帯細胞を用いた(表1)。OPLL細胞ではPN1の発現量はメカニカルストレスの負荷時間が長くなるに従って増加しており、9時間ではメカニカルストレスを加えない0時間に比して約2倍と有意差が認められた。一方非OPLL細胞では発現量の変化は特に認められなかった(図3)。

PN-1はprotease inhibitorの一種であり、thrombinの作用を抑制するとされている⁹⁾。ま

たthrombinに特異的なレセプターであるPAR-1(Protease-activated receptor 1)はthrombinにより活性化され、骨芽細胞様細胞において内在性のALP活性を抑制するという報告がある¹⁰⁾。そこでOPLL、非OPLL細胞において、メカニカルストレスを加えた際の経時的なALPのmRNAの発現量の変化をRT-PCRにて定量した。OPLL細胞では9時間でコントロールの0時間に比して有意差が認められたが、非OPLL細胞では有意な増加は認められなかった(図4)。

3. PAR-1(Protease-activated receptor 1), ProthrombinのOPLL細胞での発現

OPLL細胞におけるPAR-1, およびthrombinの前駆体であるprothrombinの両者の発現がRT-PCRにより確認できた(図5)。

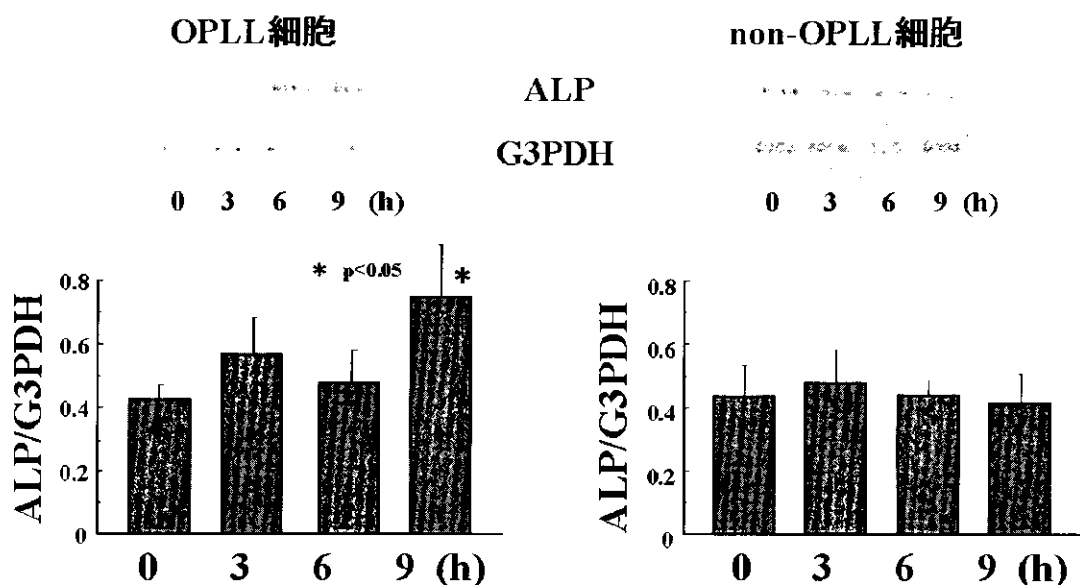


図4 メカニカルストレスに対するALP mRNAの経時的発現量の変化

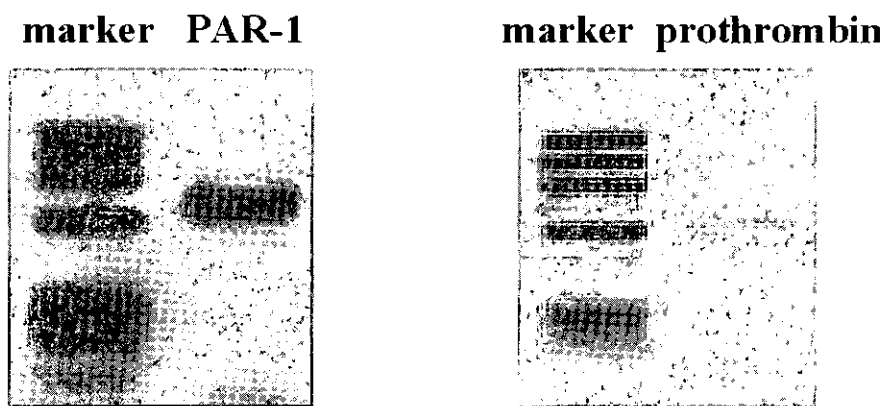


図5 OPLL細胞におけるPAR-1, prothrombin mRNAの発現

D. 考察

Protease nexin 1 (PN-1) は serine protease inhibitor (serpin) superfamily に属する 40 kDa の glycoprotein で, glia-derived nexin と同一のものである。Fibroblast, astrocyte, glial cell 等多くの細胞で発現が認められ, thrombin の阻害因子として知られている⁹⁾。Thrombin は多機能な serine protease であり, 血栓形成・止血, 組織障害後の創治癒の際に重要な働きを有し, 骨芽細胞においては細胞内 Ca 濃度を増加させ, 増殖を促進するとの報告がある¹¹⁾。Thrombin の作用は, 特異的なレセプターである Protease-activated receptor 1 (PAR-1) により調節される¹²⁾。PAR-1 は in vivo で膜性骨化, 内軟骨性骨化の際に骨芽細胞に発現する¹³⁾。PAR-1 の活性化により骨芽細胞内因性の ALP 活性が抑制され, ALP は骨芽細胞の分化マーカーであることか

ら, 骨芽細胞の分化が抑制され, 増殖が促進することが示唆されている^{10,14)}。Thrombin の前駆体である prothrombin は主に肝臓で産生されるが, 筋細胞で prothrombin の mRNA が発現したという報告があり¹⁵⁾, 今回の結果で OPLL 細胞においても prothrombin が産生されることが明らかとなった。

メカニカルストレスにより OPLL 細胞では PN-1 および ALP の発現が増加し, また OPLL 細胞において PAR-1, prothrombin の発現が認められた。一方非 OPLL 細胞では PN-1, ALP の発現に有意差は認められなかった。以上の事から, OPLL 細胞では, メカニカルストレスにより PN-1 の発現が増加したことで thrombin が抑制され, PAR-1 の活性が低下し, それにより ALP 活性が増加して靱帯骨化が生じる可能性が示唆される。しかし PN-1 や thrombin, PAR-1 を介さずに, 他因子によってメカニカルスト

レスにより ALP の発現が増加する可能性も残されており、この三者の靭帯骨化における相互作用については今後も更なる追試が必要である。

ALP 活性の増加や BMP, CTGF に対する反応性の違いなど、OPLL 細胞は非 OPLL 細胞である線維芽細胞様細胞とは性質が異なり^{1,2,3,4,5)}, osteoprogenitor cell へと形質転換している可能性が報告されている。またメカニカルストレスに対する反応も異なり、osteoprogenitor cell としての性質が示唆されている⁷⁾。本研究でもメカニカルストレスによる PN-1, ALP の発現増加が認められ、OPLL 細胞の形質転換の可能性が示された。

E. 結論

本研究において、メカニカルストレスにより OPLL 細胞では PN-1 の発現が増加し、thrombin, PAR-1 を介して ALP 発現が増加して靭帯骨化が生じる可能性が示された。

[参考文献]

- 1) Ishida Y, Kawai S. Characterization of cultured cells derived from ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine. *Bone*. 14, 85-91, 1993
- 2) Kon T, Yamazaki M, Taawa M, Goto S, Terakado A, Moriya H, Fujimura S. Bone morphogenetic protein-2 stimulates differentiation of cultured spinal ligament cells from patients with ossification of the posterior longitudinal ligament. *Calcif. Tissue Int.* 60, 291-296, 1997
- 3) Goto K, Yamazaki M, Tagawa M, Goto S, Kon T, Moriya H, Fujimura S. Involvement of insuline-like growth factor I in development of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine. *Calcif. Tissue Int.* 62, 158-165, 1998
- 4) 赤石孝一, 古川賢一, 植山和正, 丹野雅彦, 山本祐司, 原田征行. 後縦靭帯骨化症患者由来の靭帯細胞において CTGF/Hcs24 により発現調整される遺伝子の解析. 厚生省特定疾患脊柱靭帯骨化症調査研究班平成 12 年度報告書. 80-85, 2001
- 5) Yamamoto Y, Furukawa K-I, Ueyama K, Nakanishi T, Takigawa M, Harata S. Possible Roles of CTGF/Hcs24 in the Initiation and Development of Ossification of the Posterior Longitudinal Ligament. In Press
- 6) Matsunaga S, Sakou T, Taketomi E, Yamaguchi M, Okano T. The natural course of myelopathy caused by ossification of the posterior longitudinal ligament in the cervical spine. *Clin. Orthop.* 305, 168-177, 1994
- 7) 富田 卓, 原田征行, 植山和正, 伊藤淳二, 新戸部泰輔. 頰椎後縦靭帯骨化症の骨化進展についての X 線学的考察. *臨整外*, 34 巻 2 号, 167-172, 1999
- 8) 丹野雅彦, 古川賢一, 植山和正, 元村 成, 原田征行. 厚生省特定疾患脊柱靭帯骨化症調査研究班平成 12 年度報告書. 64-68, 2001
- 9) Rosenblatt DE, Cotman CW, Nieto-Sampedro JW, Rowe JW, Knauser DJ. Identification of a protease inhibitor produced by astrocytes that is structurally and functionally homologous to human protease nexin-I. *Brain Res.* 415, 40-8, 1987
- 10) Abraham LA, Mackie EJ. Modulation of osteoblast-like cell behavior by activation of protease-activated receptor-1. *J. Bone Miner. Res.* 14, 1320-1329, 1999
- 11) Takakis DN, Dolce C, Dziak R. Thrombin's effects on osteoblastic cells. I Cytosolic calcium and phosphoinositides. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 164, 119-127, 1989
- 12) Vu TK, Hung DT, Wheaton VI, Coughlin SR. Molecular cloning of a functional thrombin receptor reveals a novel proteolytic mechanism of receptor activation. *Cell.* 64, 1057-1068, 1991
- 13) Abraham LA, Jenkins AL, Stone SR, Mackie EJ. Expression of the thrombin receptor in developing bone and associated tissues. *J. Bone Miner. Res.* 13, 818-827, 1998
- 14) Matsuyama T, Lau KH, Wergedal JE. Monolayer cultures of normal human bone cells contain multiple subpopulations of alkaline phosphatase positive cells. *Calcif. Tissue Int.* 47, 276-87, 1990
- 15) Citron BA, Smirnova IV, Zoubine MN, Festoff BW. Quantitative PCR analysis reveals novel expression of prothrombin mRNA and regulation of its levels in developing mouse muscle. *Thromb. Res.* 87, 303-313, 1997

V

臨

床

頸椎後縦靱帯骨化症に対する骨化形態と責任高位の電気生理学的検討

金子 和生 (山口大学整形外科), 田口 敏彦 (山口大学整形外科),
田中 浩 (山口大学整形外科), 豊田耕一郎 (山口大学整形外科),
河合 伸也 (山口大学整形外科)

【研究要旨】

頸椎後縦靱帯骨化症 (以下 OPLL) の骨化形態が脊髄症の発症にどの様に関与しているのか、脊髄誘発電位を用いて検討した。対象は手術的治療を行った OPLL 21 例 (男 14 例, 女 7 例) で、平均年齢 63 歳 (45 ~ 78 歳) であった。OPLL の骨化形態は連続型 6 例, 分節型 7 例, 混合型 7 例, 限局型 1 例であった。正中神経刺激, 経頭蓋電気または磁気刺激, および脊髄刺激による脊髄誘発電位を脊髄背側より導出し, 障害高位の判定を行った。脊髄誘発電位による判定で単椎間障害は 13 例, 2 椎間障害は 7 例, 判定不能 1 例であった。障害高位は C4/5 椎間が最も多く, 2 椎間障害例は中下位での障害のものが多かった。約 80 % の症例では最狭窄部位が責任高位であり, 同高位に椎間可動性が残存しており, 最狭窄部以外が責任高位である場合には移行部での椎間不安定性が脊髄症の発症に関与していると推察された。OPLL においても動的因子の関与が発症に関与していると推察した。

A. 研究目的

頸椎後縦靱帯骨化症 (以下 OPLL) の骨化形態は複雑で, 多椎間に脊髄圧迫を生じることが多いが, OPLL の発生メカニズムから考えると脊髄症を発症した場合, そのすべての高位が責任病巣とは考えにくい。今回の OPLL の骨化形態が脊髄症の発症にどの様に関与しているのか, 脊髄誘発電位を用いて責任障害高位を判定し, 検討した。

B. 研究方法

対象は 1997 年以降に手術的治療を行った頸椎 OPLL 21 例 (男 14 例, 女 7 例) で, 平均年齢 63 歳 (45 ~ 78 歳) である。OPLL の骨化形態は連続型 6 例, 分節型 7 例, 混合型 7 例, 限局型 1 例であった。脊髄誘発電位の測定は, 術式として後方法が選択された症例では, 術中徐圧前に各椎弓間の黄色靱帯に針電極を刺入し, 正中神経刺激, 経頭蓋電気および脊髄刺激による脊髄誘発電位を脊髄背側より導出し, 障害高位の判定を行った。前方法が選択された症例では術前に透視下に, 硬膜外カテーテル電極を硬膜外背側正中に挿入し, 各種脊髄誘発電位を記録した。障害高位の判定は経頭蓋電気刺激, 脊髄刺激では 50 % 以上の振幅低下率を示す高位とし^{1,2)}, 正中神経刺激では C6/7 の電位との振幅比で判定した³⁾。

画像所見では頸椎側面の断層撮影による最大狭窄部位と, 単純 X 線側面における前・後屈での椎間可動性について着目した。

C. 研究結果

脊髄誘発電位による判定では単椎間障害は 13 例 (61.7 %), 2 椎間障害は 7 例, 判定不能 1 例であった。判定不能であった 1 例は症状も軽微で予防的な手術選択とされた症例であった。他の症例では障害高位は C4/5 椎間が 12 例と最も多かった。2 椎間障害は 7 例であったが, 2 椎間障害例は中位頸椎部で正中神経刺激による脊髄誘発電位でのみ 2 椎間障害を示すものがほとんどであり, 索路障害が 2 椎間に及ぶ症例は 1 例のみであった。

画像所見との比較では約 80 % の症例では最狭窄部位が責任高位であり, しかも同高位に椎間可動性が残存していた。骨化形態別にみると, 分節型 OPLL では OPLL の存在する高位の上下での障害であり, 障害高位は C4/5, C5/6 に集中していた (図 1)。連続型の OPLL では骨化移行部が責任高位であることが多いが, 1 例のみ可動性のない最大狭窄部位が責任高位であった (図 2)。混合型の OPLL では骨化の不連続部での障害で, 同部位に可動性が残存している高位が責任高位である場合が多かった (図 3)。以上総合的に判断すると頸椎 OPLL では最大狭窄部位に可動性が残存している場合に同高位で脊髄症を発症している症例が多く, OPLL においても動的因子の関与が発症に関与していると推察した。

代表的な症例を提示する。73 女性, C4 ~ C6 における連続型の OPLL の症例である。頸椎側面 X 線における前・後屈では骨化が存在する椎間高位では椎間可動性はほとんどなく, 骨化の移行部である C3/4

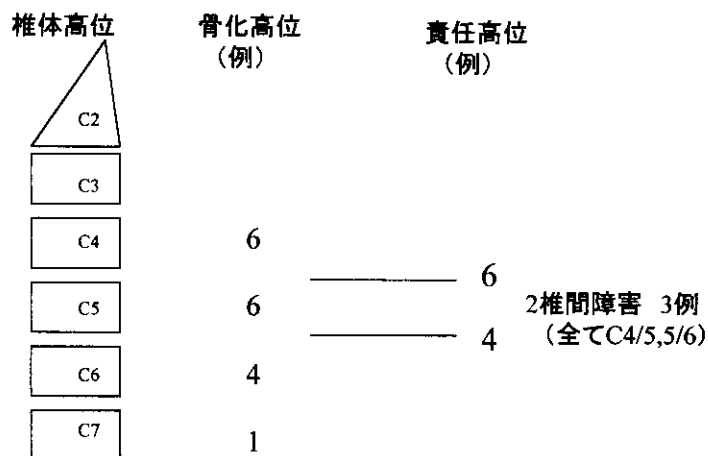


図1 分節型OPLLにおける骨化形態と責任高位の関係

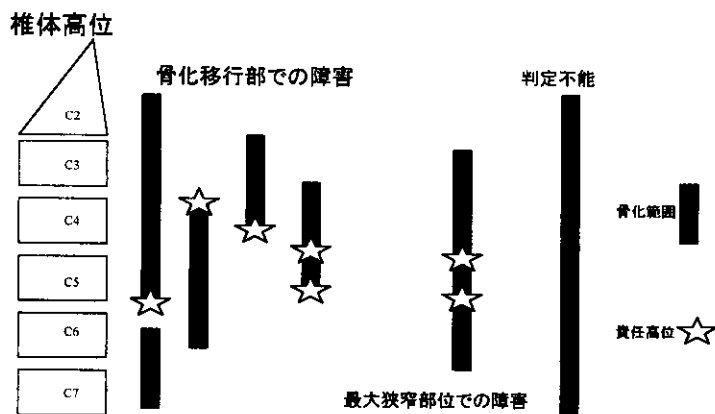


図2 連続型OPLLにおける骨化形態と責任高位の関係

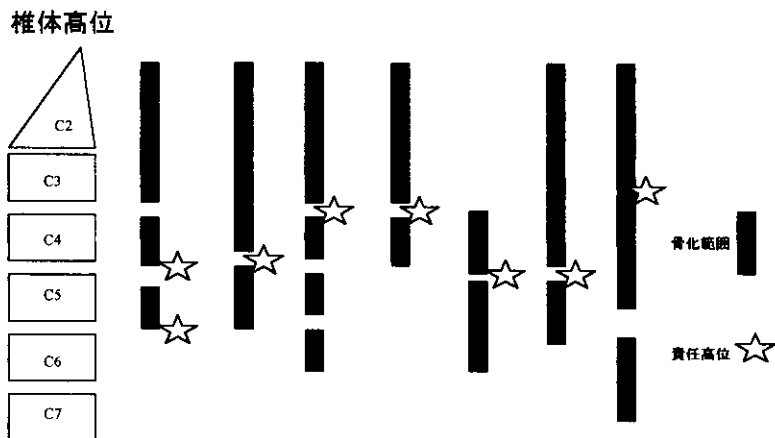


図3 混合型OPLLにおける骨化形態と責任高位の関係

椎間高位で最大可動性を示していた(図4)。脊髓誘発電位ではC3/4椎間高位で振幅低下を示し、同高位が責任高位であると判断した(図5)。

D. 考察

頸椎OPLLの責任高位の診断に脊髓誘発電位の測定が有用であることは以前から里見⁴⁾、四宮⁵⁾らにより報告されている。障害高位がC4/5椎間に多い

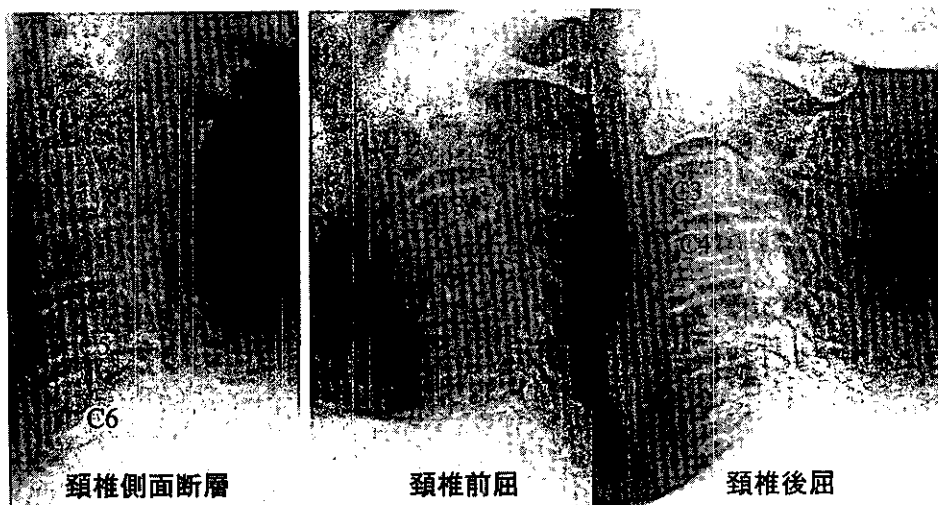


図4 73歳女性，連続型OPLLにおける頸椎側面断層および前・後屈側面像

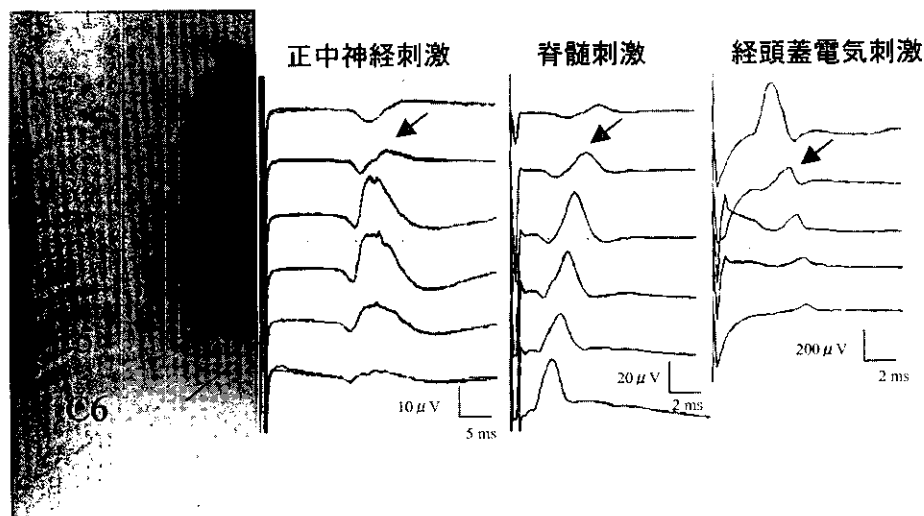


図5 73歳女性，連続型OPLLにおける脊髄誘発電位

ことは中田⁶⁾らの報告と同様であった。また今回の検討からOPLLの脊髄症の発症には椎間可動性の残存が重要であることが明らかとなった。このメカニズムは高齢者の頸椎症性脊髄症において、画像では多椎間圧迫例でも不安定椎間が障害高位であるということに類似している²⁷⁾。OPLLにおける前方法では骨化巣を切除または浮上させて骨移植を行うことが一般的と考えられるが、近年 Onari²⁸⁾らは骨化巣を残したまま前方固定を行った症例でも良好な術後成績が得られたとも報告している。これは頸椎OPLLにおいても頸髄症の軽快にも動的因子の関与が大きいことを示唆する臨床的な事実と考えられる。

E. 結論

1. 頸椎OPLLにおいて骨化形態と脊髄症の責任高位について脊髄誘発電位を用いて検討した。
2. 障害高位はC4/5椎間高位が多く、骨化の移行部や不連続部が最大狭窄部位で椎間可動性が残存している症例が多かった。
3. 頸椎OPLLにおいても脊髄症の発症には動的因子の関与が大きいと推察した。

[参考文献]

- 1) Kanchiku T, Taguchi T, Kaneko K et al. : A correlation between magnetic resonance imaging and electrophysiological findings in cervical spondylotic myelopathy, Spine 26 :

E294-299, 2001.

- 2) Tani T, Ishida K, Ushida T, Yamamoto H : Intraoperative electroneurography in the assessment of the level of operation for cervical spondylotic myelopathy in the elderly, J. Bone Joint Surg. Br. 82 : 269-274, 2000.
- 3) Kaneko K, Kawai S, Taguchi T et al. : Correlation between spinal cord compression and abnormal patterns of median nerve somatosensory evoked potentials in compressive cervical myelopathy, J Neurol Sci 158 : 193-202, 1998.
- 4) 里見和彦, 大熊哲夫 : 脊柱靱帯骨化症の電気生理学的診断, 整形外科 Mook 50 : 195-207, 1987.
- 5) Shinomiya K, Furuya K, Sato R et al. : Electrophysiologic diagnosis of cervical OPLL myelopathy using evoked spinal cord potentials, Spine 13 : 1225-1233, 1988.
- 6) 中田信昭, 浦勇武志, 宮内 晃他 : 頸椎後縦靱帯骨化症における脊髄誘発電位, 整形外科 44 : 1171-1180.
- 7) 金子和生, 山口敏彦, 河合伸也他 : 高齢者頸椎症性脊髄症の病態, 西日本脊椎研究会誌, 27 : 45-47, 2001.
- 8) Onari K, Akiyama N, Kondo S et al. : Long-term follow-up results of anterior interbody fusion applied for cervical myelopathy due to ossification of the posterior longitudinal ligament, Spine 26 : 488-493, 2001.

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kaneko K, Taguchi T, Morita H, Yonemura H, Fujimoto H, Kawai S : Mechanism of prolonged central motor conduction time in compressive cervical myelopathy. Clin Neurophysiol. 2001 Jun ; 112(6) : 1035-1040, 2001.
- 2) Kanchiku T, Taguchi T, Kaneko K, Yonemura H, Kawai S, Gondo : A new rabbit model for the study on cervical compressive myelopathy. J Orthop Res. 19(4) : 605-613, 2001.
- 3) Fujimoto H, Kaneko K, Taguchi T, Ofuji A, Yonemura H, Kawai : Differential recording of upper and lower cervical N13 responses and their contribution to scalp recorded responses in median nerve somatosensory evoked potentials. J Neurol Sci. 15 ; 187(1-2) : 17-26, 2001.
- 4) Tanaka H, Nagai E, Murata H, Tsubone T, Shirakura Y, Sugiyama T, Taguchi T, Kawai S. : Involvement of bone morphogenic protein-2 (BMP-2) in the pathological ossification process of the spinal ligament. Rheumatology (Oxford) 40(10) : 1163-1168, 2001.
- 5) Tanaka H, Wakisaka A, Ogasa H, Kawai S, Liang CT. : Local and systemic expression of insulin-like growth factor-I (IGF-I) mRNAs in rat after bone marrow ablation. Biochem Biophys Res Commun. 12 ; 287(5) : 1157-1162, 2001.
- 6) Shiigi E, Sugiyama T, Tanaka H, Murata H, Shirakura Y, Kawai S. : Possible involvement of vitamin D receptor gene polymorphism in male patients with ossification of spinal ligaments. J Bone Miner Metab. 2001 ; 19(5) : 308-11.

2. 学会発表

- 1) 森信謙一ほか : 高齢者頸椎後縦靱帯骨化症の病態と手術成績. 第74回日本整形外科学会, 千葉市, 2001.4.19-22.
- 2) 上野宏泰ほか : 腰椎部黄色靱帯の加齢に伴う力学的特性の検討. 第101回西日本整形災害外科学会, 久留米市, 2001.6.30-7.1.
- 3) 金子和生ほか : 頸椎後縦靱帯骨化症における脊髄誘発電位と骨化形態の関連について. 第56回西日本脊椎研究会, 久留米市, 2001.11.9.
- 4) 豊田耕一郎ほか : 脊柱靱帯骨化症に対するマルチスライスCTの有用性について. 第56回西日本脊椎研究会, 久留米市, 2001.11.9.
- 5) 白倉祥晴ほか : 頸椎後縦靱帯骨化におけるレプチンの関与. 第56回西日本脊椎研究会, 久留米市, 2001.11.9.

頸椎 OPLL に対し棘突起形成を併用した頸椎椎弓形成術 (平林変法) の手術成績

中原進之介 (国立病院岡山医療センター整形外科), 田中 雅人 (国立病院岡山医療センター整形外科),
甲斐 信生 (国立病院岡山医療センター整形外科), 国定 俊之 (国立病院岡山医療センター整形外科)

【研究要旨】

頸椎椎弓形成術における成績不良因子の一つとして、術後頸椎の後弯変形が報告されている。我々は、頸椎 OPLL 56 例に対し、棘突起形成を併用した平林変法による椎弓形成術を行い、術後彎曲形態の変化についてレントゲン学的に計測し、その有用性を検討した。術前 JOA score は平均 10.4 点、最終観察時 JOA score は平均 13.0 点で、改善率は平均 42.9% であった。C2 の下縁と C7 の上縁のなす角による頸椎前弯角は、術後平均 0.3 度の後弯への進行を認めたのみであった。頸椎アライメントの悪化は 6 例に認めたが、これらの臨床成績は良好であった。我々の行った棘突起形成を併用した平林変法は、頸椎彎曲形態を保持することに有用であり、さらに術後成績の悪化を予防できる可能性が示唆された。

A. 研究目的

頸椎椎弓形成術は服部法以来、平林法、黒川法などの種々の方法が考案され、それぞれに改良されてきている。我々は、通常の頸椎症性脊髄症や後縦靭帯骨化症には平林法による片開き式椎弓形成術を行ってきた。しかし、術後成績不良の原因の一つとして頸椎後弯変形の進行があり、この後弯変形進行を予防するための方法が報告されている。今回、我々は頸椎後弯を予防するために、頸椎 OPLL の患者に対し、棘突起形成を併用した平林変法を行った患者の術後成績、とくに術後の頸椎アライメントの変化について検討した。

B. 研究方法

1996 年より、頸椎 OPLL に対し棘突起形成を併用

した平林変法を行い、術後 6 ヶ月以上経過観察可能であった 56 症例について検討を行った。男性 42 例、女性 14 例、年齢は 37 歳から 84 歳、平均 63 歳、経過観察期間は平均 1 年 8 ヶ月であった。

手術法は、今までに報告してきた棘突起形成を併用した平林変法で行った¹⁾。棘突起を右側の傍脊柱筋をつけたまま基部で切離、項靭帯、傍脊柱筋を付けたまま反転し、反対側の椎弓を展開する。切離した棘突起を平林法で起こした椎弓の左側部分に締結する (図 1)。棘突起を椎弓縁に締結する直前に頸椎を進展させ、頸椎前弯度を増加させておく。術後 3 週間ハローベスト固定を行い、ハローベスト除去後は術後 3 ヶ月目まで頸椎カラー固定とする。

OPLL の形態は、津山らの分類を用いて分類した。連続型 27 例、分節型 18 例、混合型 11 例であった。

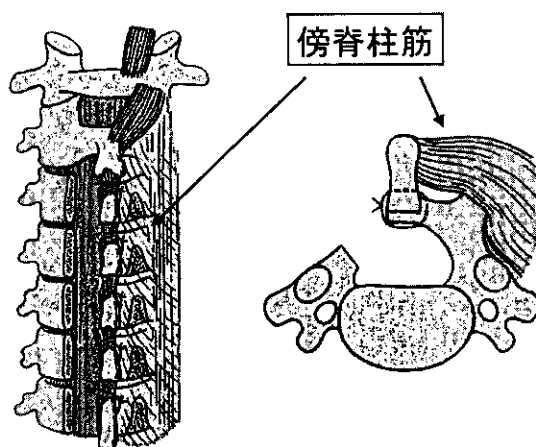


図 1

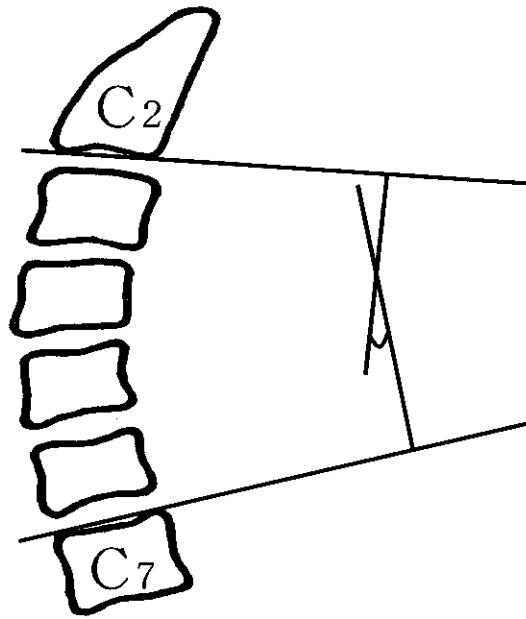


図2

頤椎前弯角として、C2の下縁とC7の上縁のなす角を計測した(図2)。頤椎アライメントは、石原らの分類を用い、前弯型、直線型、S字型、後弯型の4つに分類した。

臨床所見はJOA scoreを用いて評価し、改善率は平林らの方法を用いた。

C. 研究結果

臨床症状では、術前JOA scoreは平均10.4点(1~16点)、最終観察時JOA scoreは平均13.0点(1~17点)であり、改善率は平均42.9%(9~100%)であった。

頤椎前弯角は術前平均15.3度(-20.0~50.0度)から術後平均14.9度(-24.0~56.0度)に変化し、平均0.3度(-29.0~18.0度)の後弯変形の進行を認めたのみであった。

頤椎アライメントは、術前前弯型31例、直線型18例、後弯型5例、S字型2例であった。各アライメント型での最終観察時における頤椎アライメントの平均後弯変形度は、前弯型:0.8度、直線型:-0.4度、後弯型:-0.2度、S字型:1度であった。

術後に頤椎アライメント分類が悪化したのは6例であり、そのうち4例は前弯型から直線型へ、2例は直線型から後弯型へアライメントの悪化を認めた。前弯型から直線型へ変化した4例では、平均12.8度の後弯変形が進行したが、臨床成績の改善率は平均50.5%であった。直線型から後弯型に変化した2例では、平均1.5度の後弯変形の進行を認め、臨床成績

の改善率は62.5%であった。

また、1例は直線型から前弯型へと頤椎アライメントの改善を認めた。

OPLLの形態分類で前弯角の変化を検討すると、連続型よりも分節型で後弯が進行している傾向にあった。

術後合併症として、C5,6麻痺を1例に認めたが、経過観察により軽快した。他の合併症は認めなかった。また、最終観察時、2例に棘突起の部分骨癒合不全を認めた。

D. 考察

過去の多くの論文により頤椎椎弓形成術の良好な成績が報告され、その有用性は証明されている。しかし、術後成績不良症例も少なからず存在し、椎弓形成術の術後成績不良因子として、hingeの落ち込みや後弯変形の進行に加え、患者の年齢、罹病期間、術前の重症度など、さまざまな因子が報告されている。

平林²⁾は、術後約半数の症例で頤椎前弯度のわずかの減少を認めたとし、さらに、術後の弯曲形態が一度改善したあと悪化する遅発性悪化は、術後成績を不良とする原因の一つであり、これらは術前弯曲形態が直線やS字状を呈した症例に多かったと報告している。

このように術後の弯曲形態の悪化が、術後成績不良の一因子となっており、術後の前弯位の保持は、術後成績を安定化させるために重要である。頤椎

OPLL に対し椎弓形成術を行った症例の術後彎曲度の変化については、約 6.5 度の後彎変形が進行したとする報告がある。今回我々の行った棘突起形成を併用した椎弓形成術症例では、後彎変形は平均 0.3 度と、過去の報告よりも、頸椎の術前の前彎を保持できていた。また、術前の頸椎アライメントが非前彎型の症例で術後頸椎アライメントが悪化し、術後成績を低下させるとの報告もある。今回の我々の検討では、非前彎型である直線型、後彎型、S 字型のいずれも術後 1 度以下の後彎度の進行のみであり、我々の行っている棘突起形成を併用した椎弓形成術は、術前非前彎型の彎曲形態をもつ症例に対しても、頸椎アライメントの保持に有効であった。

また、我々の行っている棘突起形成は、通常の平林法による椎弓形成術を行った後、さらに約 15 分の追加時間で可能な手技であり、他の棘突起、棘間靭帯を再建する方法に比べ、簡便で侵襲の少ない再建法と考えている。

今回の結果から、現在我々は、次のように症例を選び手術法を選択している。術前の頸椎彎曲形態が前彎型であれば、通常の平林法による椎弓形成術を行い、非前彎型でありさらに OPLL 形態が分節型、混合型であれば、棘突起形成を併用している。

E. 結論

我々の方法は、傍脊柱筋の付着部が温存できること、hinge の落ち込みが予防できること、手技が簡便なことなどの利点に加え、今回の検討より、術後後彎変形への進行が少なく、頸椎アライメントの保持に有用な方法と考えている。

[参考文献]

- 1) 棘突起形成を併用した片開き式頸椎椎弓形成術の X 線評価：甲斐信生，中原進之介，末長 敢，他，中部整災誌 1998；41：1079-80
- 2) 頸椎症性脊髄症治療の進歩と課題：平林 湧，日脊外会誌 2000；11：409-18

F. 研究発表

2. 学会発表

国定俊之，田中雅人，甲斐信生，中原進之介：頸椎 OPLL に対し棘突起形成を併用した頸椎椎弓形成術（平林変法）の手術成績. 第 56 回西日本脊椎研究会，久留米市，2001/11/9

頸椎後縦靱帯骨化症患者の術後職業復帰について

神岡 純一 (鹿児島大学医学部整形外科), 松永 俊二 (鹿児島大学医学部整形外科),
林 協司 (鹿児島大学医学部整形外科), 泉 俊彦 (鹿児島大学医学部整形外科),
小宮 節郎 (鹿児島大学医学部整形外科)

【研究要旨】

頸椎後縦靱帯骨化症患者が術後にどの程度職業復帰できたかについて調査した。対象は術前に何らかの職業を有した頸椎後縦靱帯骨化症患者101名(男性80名,女性21名)であり,手術時年齢は平均56歳であった。以上の症例について職業別の復帰度,復帰までの期間,復帰に支障となった因子,術前後JOAと職業復帰の相関について調査した。職業復帰は全体で51%であったが,立位を必要としない軽作業であれば9割以上の患者は職業復帰できていた。軽作業に比べ重労働の復帰度は低かった。脊髄症状の改善が不良な症例では職業復帰も不良であったが,脊髄症状の改善が良好な症例においても職業復帰できていない症例があり,職業復帰には必ずしもJOA scoreに反映されない点に関与していた。また,本症が難病であるという点も患者に過度な不安を与えており職業復帰の障害となっていた。

A. 研究目的

頸椎後縦靱帯骨化症は難病に指定されているが,臨床的には手術を含む治療により職業復帰し,生産的活動を続けている患者も少なくない。しかし,これまでの頸椎後縦靱帯骨化症の手術成績はJOA scoreによる評価が大部分であり,術後の職業復帰の実態という観点から手術成績を検討した報告はない。今回我々は,本症患者の術後職業復帰の実態を明らかにし,職業復帰に関連する因子について検討したので報告する。

B. 研究方法

1983年以降,当科にて手術を施行した頸椎後縦靱帯骨化症患者で,術前に何らかの職業を有する,手術時年齢70歳未満,術後最短1年以上経過した男性80例,女性21例の101例であった。手術時平均年齢は35歳から69歳の平均56歳,術後平均観察期間は1年から16年の平均7年7ヶ月であった。術式は前方除圧固定術3例,後方脊柱管拡大術98例と後方法が大部分であった。術前の職業は,事務職,管理職などの座位軽作業23例,販売業,調理師,美容師などの立位軽作業25例,農林水産業などの立位重労働33例,大工,左官などの高所作業10例,タクシー,トラックなどの運転手10例であった。以上の症例を対象とし,職業別の職業復帰度,職業復帰までの期間,術前後JOA scoreと職業復帰の相関,職業復帰に支障となった因子について検討した。職業復帰の程度は,完全復帰すなわち,術前の職業に術前と同じレベルで復帰できたもの,制限つき復帰すなわち,

術前の職業に復帰できたが術前に比べレベルを落とすか,あるいはより軽作業に転職して復帰したもの,職業復帰を断念したものの3段階に分類した。

C. 研究結果

対象全体での職業復帰度は完全復帰29例29%,制限つき復帰23例23%,復帰断念49例49%であった。職業別復帰度(図1)は,座位軽作業では完全復帰57%,制限つき復帰35%と9割以上が復帰できていた。立位軽作業では約半数が復帰できていたが,立位重労働,高所作業,運転手は復帰度が芳しくなく,特に運転手では10%が完全復帰できすぎなかった。職業復帰までの期間は,座位軽作業で平均5.1ヶ月(1~15ヶ月),立位軽作業で平均10.2ヶ月(1~15ヶ月),立位重労働で平均6.4ヶ月(1~15ヶ月),高所作業で平均5.8ヶ月(1~15ヶ月),運転手で平均4.3ヶ月(1~15ヶ月)であった。術前後JOA scoreと職業復帰の相関では,脊髄症状の改善が不良な症例は職業復帰も不良であったが,JOA score改善率が優,良の症例において41%は職業復帰できていなかった。その原因としては本症以外の重篤な合併症,しびれの残存,復帰による症状再発への不安,頸椎可動域制限などが挙げられた(表1)。

D. 考察

頸椎後縦靱帯骨化症による脊髄症状に対しては現在まで手術法の改良が繰り返され,比較的安定した手術成績が得られるようになってきている。しかし,