

少する傾向にあり、男性患者群のみ COL11A2 遺伝子が疾患感受性遺伝子として働くことを支持するものであった。

さらに今回 COL11A2 遺伝子より約 10kb 下流領域(テロメア側)において OPLL 群・非 OPLL 群で有意差(p=0.00022) を認める新規 SNP を見出し、さらにこの SNP は、男女別での検討においても有意差が認められた。この結果はマイクロサテライトマーカーを用いた連鎖解析から COL11A2 遺伝子近傍の 3' 領域に位置する CADQ マーカーに強い有意差を認めたとの山形らの報告⁶⁾とも符合する。またこの SNP が認められる領域は MHC の Extended class・領域と Classical class・領域の境界領域であり、COL11A2 遺伝子と HLA-DPA3(φ)遺伝子の間に位置する⁷⁾。またこの領域は non-coding 領域であり、Alu repeat 配列が存在する領域である(図 1)。この SNP は Alu Jb repeat 配列上であるが、Alu repeat 配列の機能は現在のところ不明である。またこれまで Alu repeat 配列上における SNPs の疾患感受性に関する報告はないが、この Alu repeat 配列は特定の領域に集中して存在し、不等交差による組み換えを促進することから疾患の発生に関与することが報告されている⁸⁾。これらのことにより non-coding 領域である Alu Jb repeat 上の SNP が OPLL に関与している可能性や COL11A2 遺伝子が近傍にあるために非常に強い相関が認められた可能性が考えられる。山形らは CADQ マーカーに強い有意差を認めたのは COL11A2 遺伝子が近傍にあるため現れた結果と推論しているが、男女別での検討はなく、さらに今回男女別における検討においても非常に高い有意差が認められたことを考えると COL11A2 遺伝子より 3' 下流領域(テロメア側)にほかの OPLL 感受性遺伝子、少なくとも女性患者群における感受性遺伝子が存在することが示唆される。

以上のことより今後、COL11A2 遺伝子 3' 下流領域から Alu repeat 周辺にかけての更なる詳細な SNPs の検討と Alu repeat 配列など non-coding 領域の上における SNPs の意義ならびに COL11A2 遺伝子機能への関与の検討が必要と考えられる。

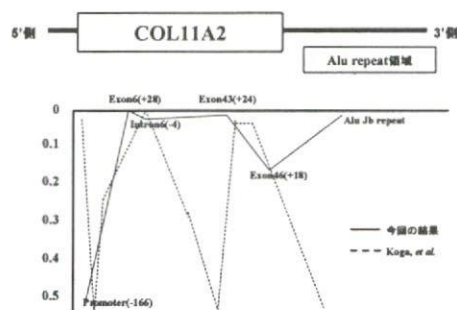


図 1 SNPs のゲノム上の位置と p value の関係

	SNP(Koga's)	p value(Koga's)	SNP	p value(otal)	p value(male)	p value(female)
Promoter(-182)	A>C	0.024				
Promoter(-186)			G>A	0.51429	0.52801	0.57157
Exon1(+24)		0.8825				
Exon1(+1910)		0.229				
Exon4(+28)	G>A	0.0042		0.0015	0.00054	0.02753
Intron3(-4)	T>A	0.0004	T>A	0.0132	0.11208	0.12771
Exon2(+21)		0.305				
Exon3(+42)		0.523				
Exon3(+42)		0.787				
Exon4(+24)	A>G	0.021	G>A	0.00149	0.00149	0.07185
Exon4(+18)	C>T	0.0332	C>T	0.21383	0.08725	0.10965
Exon4(+145)		0.5288				
Alu Jb repeat			G>A	0.00022	0.01314	0.00791

表 1 COL11A2 および 3' 下流領域における SNPs と p value の関係

[参考文献]

- 1) Koga H, Sakou T, Taketomi E, et al. : Genetic mapping of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine. Am J Hum Genet 1998; 62: 1460-1467.
- 2) 酒匂 崇, 他 : OPLL 患者の性差による遺伝的背景の相違について 厚生省特定疾患脊柱靭帯骨化症調査研究班, 平成 10 年度研究報告書 1999: 11-12
- 3) Iwahana H, Yoshimoto K, Itakura M. ; Multiple fluorescence-based PCR-SSCP analysis. Bio Techniques 1994; 16(2): 296-305
- 4) Hariassos A, Chomels J. C., Kitzis A. : Detection of minority point mutations by modified PCR technique. : a new approach for sensitive diagnosis of tumor progression

markers. Nucl. Acids. Res 1981: 17: 8093-8099

5) Yoshimoto K, Iwahana H, Itakura M. : Rare mutations of the Gs alpha subunit gene in human endocrine tumors. Cancer 1993: 72(4): 1386-1393

6) 山形 哲司, 他 : ヒト第6染色体p21.3-22領域の構造解析 : D6S276 マーカーと脊柱靱帯骨化症の相関に基づく解析と物理地図の作成 厚生省特定疾患脊柱靱帯骨化症調査研究, 平成 10 年度研究報告書 1999: 13-16

7) The MHC sequencing consortium : Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex. Nature 1999: 401: 921-923

8) Hobbs HH, Russell DW, Goldstein JL : The LDL receptor locus in familial hypercholesterolemia: mutational analysis of a membrane protein . Annu Rev Genet 1990: 24: 133-170

Zucker Fatty RatおよびMonosodium Glutamate投与 肥満RatにおけるBMP-2筋層内投与による 異所性骨化発現の病理組織学的検討（経過報告）

渡辺 淳(東京医科大学整形外科学教室) 山本謙吾(東京医科大学整形外科学教室)
木村 大(東京医科大学整形外科学教室) 朝日盛也(東京医科大学整形外科学教室)
布田大介(東京医科大学整形外科学教室) 今給黎篤弘(東京医科大学整形外科学教室)
海老原善郎(東京医科大学第二病理学教室)

【研究要旨】

脊柱靭帯骨化の発生機序は未だ不明な点が多いが、耐糖能異常に伴い発生する頻度が高いことが知られている。本研究では異所性骨化誘導因子である recombinant human bone morphogenetic protein-2 を Rat 筋層内投与し、異所性骨化発現を経時的に解析し、糖代謝異常下における骨化関連因子の経時変化を検討した。その結果 BMP-2 投与顔2週にて ZFR 群及び MSG 群では軟 X 線にて異所性骨化を確認することができたが、生食群では確認することはできなかった。

A.研究目的

脊柱靭帯骨化モデル動物である Zucker Fatty Rat は、食欲調節因子であるレプチンのレセプター遺伝子異常により、摂食が抑制されず、過食、高血糖、高インスリン血症を発症する動物であり、脊柱靭帯骨化にインスリンが関与することが示唆されている。我々は昨年、Wistar 系新生仔 Rat に Monosodium Glutamate (以下 MSG) を投与し視床下部食欲中枢を破壊することにより摂食が抑制されず、Zucker Fatty Rat と類似した過食、高血糖、高インスリンを呈する Rat を作製し、免疫組織学的に検討した。その結果、明らかな脊柱靭帯骨化傾向は認められず、インスリンは骨化自体よりも、むしろ遺伝的な素因を含む何らかの骨化素因の存在下で骨化増強因子としての作用があることを報告した。今回、異所性骨化誘導因子である recombinant human bone morphogenetic protein-2 (以下 rhBMP-2) を Rat 筋層内投与し、異所性骨化発現を経時的に解析し、糖代謝異常下における骨化関連因子の経時変化を検討した。

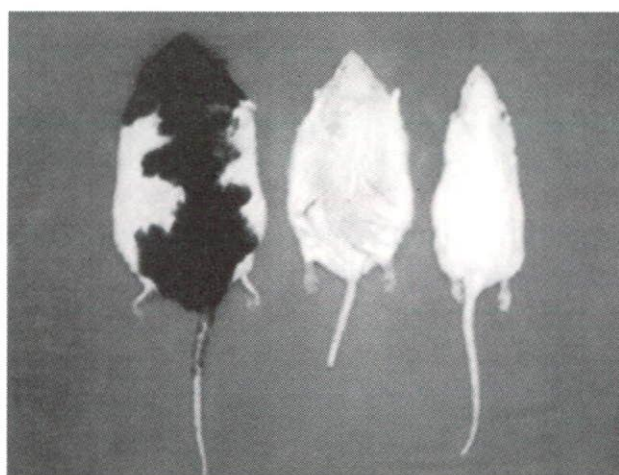
B.研究方法

実験動物として Wistar 系 Rat より分娩された新生仔 Rat に出生日より5日間 MSG (4mg/g 体重/日) を連日皮下投与した Rat 群 (以下 MSG 群)、同量の生理食塩水を注入した Rat 群 (以下生食群)、ならびに Zucker Fatty Rat (以下 ZFR 群) を用い、対象は4ヵ月齢以降の各12匹とした。

rhBMP-2 (山之内製薬より提供) 5 μ g を LF6 緩衝液 (5mM グルタミン酸、5mM 塩化ナトリウム、2.5%グリシン、0.5%精製白糖、0.01%ポリソルベート 80) に希釈の後に polymer-coated gelatin sponge (山之内製薬より提供) 3mm 立方に吸収させ、Rat 大腿筋層内に挿入した。挿入後1週、2週、4週、8週にて、以下の項目につき比較検討した。

1. 軟 X 線撮影
2. 採血後、4%パラフォルムアルデヒドを用いて

環流固定を行ない、大腿部を摘出、4%パラフォルムアルデヒド中で4 $^{\circ}$ C、24時間固定を行なう。固定後、10%EDTAにて96時間脱灰し、パラフィン包埋後、連続冠状断切片を作成する。作成した切片に対し HE 染色、トルイジンブルー染色、および抗インスリン抗体、抗 IGF-1 抗体、抗 IRS-1 抗体、抗 CTGF 抗体、抗 osteocalcin 抗体、抗 osteopontin 抗体を用いて ABC 法 (ニチレイ社製 SAB-PO キット) にて免疫染色を施行した。



ZFR MSG 生食

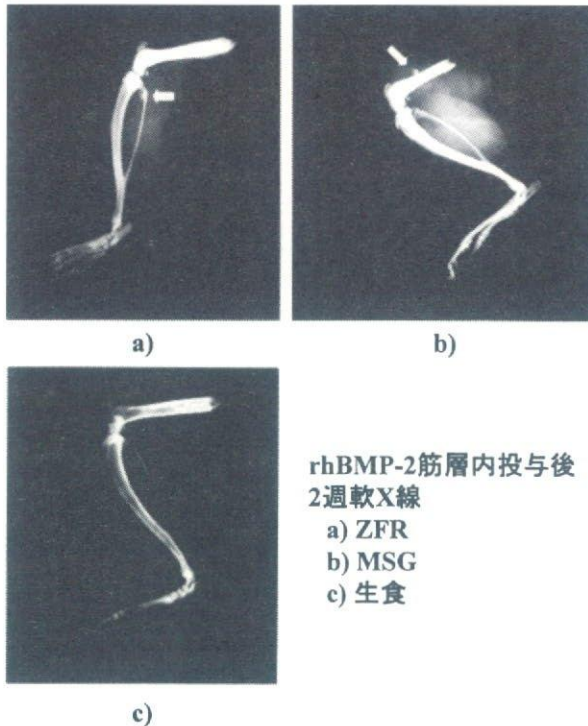
(倫理面への配慮)

東京医科大学動物実験倫理委員会の規定に基づき実験を施行した。

C. 研究結果

BMP 投与後2週間まで観察を行った。

軟X線撮影にて石灰化および骨化を確認すると ZFR 群ならびに MSG 群にて2週間で異所性骨化を確認することができた。しかしながら生食群にては明らかな異所性骨化は認められなかった。



D. 考察

脊柱靭帯骨化はインスリン分泌の反応性が高い程発生する頻度が高いことが知られており、我々は脊柱靭帯骨化モデル動物である ZFR を用いて、耐糖能異常と脊柱靭帯骨化における相関性を報告してきた。また成牛より抽出した BMP を筋肉内注入することによっての ZFR ならびに Zucker non-fatty rat における異所性骨化に相違がでることも確認している。

今回、異所性骨化誘導因子である rhBMP-2 を Rat 筋層内投与を行い、ZFR 群ならびに MSG 群でのレントゲン骨化を確認することができたが、生食群では投与後2週間では確認することはできなかった。このことより耐糖能異常下において骨化増強因子投与した際、靭帯骨化モデル動物である ZFR と同様に骨化を確認することができ、インスリン値の上昇が骨化に関与していることが予想される。しかしながら免疫組織学的検討はできておらず、また現段階では観察期間が短いため今後調査、報告していく予定である。

E. 結論

軟X線撮影にて石灰化および骨化を確認すると ZFR 群ならびに MSG 群にて2週間で異所性骨化を確認す

ることができた。しかしながら生食群にては明らかな異所性骨化は認められなかった。今後免疫組織学的検討も併せて行い、異所性骨化の病態解明をはかりたい。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

参考文献

- 1) 古橋照之: 骨形成因子を用いた異所性骨形成に関する実験的研究. 東医大誌 53(4) 468-479, 1995
- 2) 大沢延行: 脊椎椎体間固定術に関する研究—ラット尾椎椎間板に及ぼす rhBMP-2 の作用—, 昭和医学会誌第 59 巻第 3 号 260-268, 1999
- 3) S. Yokota et al: A new recombinant human bone morphogenetic protein-2 carrier for bone regeneration. International Journal of Pharmaceutics 223 69-79, 2001
- 4) 田中恵: Zucker fatty rat に関する実験的脊柱靭帯骨化に関する研究. 東医大誌 52(1) 19-32, 1994
- 5) 山本謙吾: Zucker fatty rat における脊柱靭帯骨化. THE BONE vol.16 No.3 23-31, 2002
- 6) 渡辺健: Zucker fatty rat アキレス腱における異所性石灰化形成に関する検討. 東医大誌 60(1) 29-39, 2002
- 7) 古川宣明: Monosodium L-glutamate 過剰投与による肥満マウスの糖質代謝に関する研究 II. ピルビン酸脱水素酵素について. 京府医大誌 90(4) 351-361, 1981
- 8) 立花佳代: Monosodium L-glutamate 投与肥満マウス (MSG マウス) の血清レプチン値と摂食行動の解析. 京府医大誌 109(2) 101-110, 2000
- 9) 木村大ら: 満腹中枢破壊ラットの脊柱靭帯骨化関連因子に関する免疫組織学的検討(経過報告). 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 13 年度研究報告書:102-104, 2002

Zucker Fatty Rat および Monosodium Glutamate 投与 肥満ラットの脊柱靭帯における骨化関連因子に 関する免疫組織学的検討

木村 大 (東京医科大学整形外科) 山本謙吾 (東京医科大学整形外科)
町田英明 (東京医科大学整形外科) 中谷知薫 (東京医科大学整形外科)
反町武史 (東京医科大学整形外科) 今給黎篤弘 (東京医科大学整形外科)
海老原善郎 (東京医科大学第2病理学教室)

【研究要旨】

脊柱靭帯骨化モデル動物であり、高インスリン血症を呈する Zucker Fatty Rat および Monosodium Glutamate (MSG) を投与し満腹中枢を破壊させ高インスリン血症を発症させたラットを用い、インスリン、IGF-I が脊柱靭帯局所に与える影響を免疫組織学的に検討した。Zucker Fatty Rat は2ヶ月齢以降、MSG 投与ラットは4ヶ月齢以降高インスリン血症を呈したが、Zucker Fatty Rat にのみ椎間板の変性、膨隆を認め、同部にインスリン、IGF-I、インスリンレセプター、IGF-I レセプターの発現を認めた。インスリン抵抗性存在下に、Zucker Fatty Rat の椎間板において、インスリン、IGF-I に対する感受性が増強し、MAP キナーゼを介した細胞増殖作用が、椎間板の変性、膨隆に促進的に作用したと考えられた。

研究目的

脊柱靭帯骨化の発生機序は未だ明らかにされていないが、耐糖能異常、特に高インスリン血症に伴い発生する頻度が高いことが近年報告されている。脊柱靭帯骨化モデル動物である Zucker Fatty Rat (以下 ZFR) においても、インスリン非依存性糖尿病(以下 NIDDM) を発症し、高インスリン血症を呈することから、脊柱靭帯骨化にインスリンが関与することが示唆されてきた。一方臨床的には、高インスリン血症患者のうち、脊柱靭帯骨化を合併する率はそれほど高率ではなく、脊柱靭帯骨化にインスリンがどのように作用しているか、未だ不明な点が多い。

我々は昨年、新生仔ラットに Monosodium Glutamate (以下 MSG) を投与し、満腹中枢である視床下部腹内側核を破壊することにより NIDDM、高インスリン血症を発症させたラットを使用し、4ヶ月齢までに脊柱靭帯に変化を認めなかったことを報告した。今回の研究では、ZFR、MSG 投与ラットを使用し、脊柱靭帯骨化局所因子解明の一つとして、インスリンおよびインスリン様成長因子(以下 IGF-I) が、これらの高インスリン血症ラットの脊柱靭帯局所に与える影響を、免疫組織学的に比較検討した。

B. 研究方法

実験動物として、ZFR 群、初回妊娠の Wister 系ラットより分娩された新生仔ラットに、出生日より5日間 MSG (4 mg/g 体重/日) を連日投与したラット群(以下 MSG 投与群)及び control として同量の生理食塩水を投与したラット群(以下生食投与群)

の3群を対象とし、各群とも28日で完全に離乳させ、温度、湿度、照明時間を一定の条件下で飼育した。実験には生後1~2ヶ月齢のラット各群28匹を使用し、以下の項目につき比較検討した。

1. 空腹時血糖値、血中インスリン濃度、血中 IGF-I 濃度の測定

ジエチルエーテル吸入麻酔下に開胸後、左心室より採血した。採血後、4%パラフォルムアルデヒドにて環流固定とした。

2. H.E. 染色、Toluidine blue 染色

環流固定後、脊椎を摘出し、さらに4%パラフォルムアルデヒドにて24時間固定した。固定後、20%EDTAにて7日間脱灰、パラフィン包埋し、4 μm の連続矢状切片を作製し、H.E. 染色、Toluidine blue 染色を行なった。

3. 免疫染色

1次抗体として抗インスリン抗体(Santa Cruz社)、抗IGF-I抗体(Santa Cruz社)、抗インスリンレセプター抗体(Santa Cruz社)、抗IGF-I α レセプター抗体(Santa Cruz社)、抗IGF-I β レセプター抗体(Santa Cruz社)を使用し、ABC法(ニチレイ社製SAB-POキット)にて行なった。

(倫理面への配慮)

東京医科大学動物実験倫理委員会の規定に基づき実験を施行した。

C. 研究結果

1. 空腹時血糖値は、MSG 投与群が他の2群に比べ、どの月齢においても、軽度高値を示した(表1)。

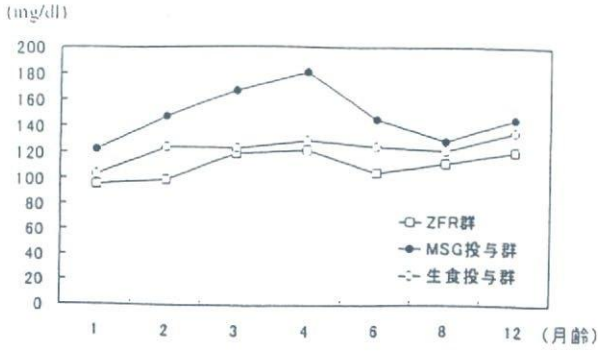


表1. 空腹時血糖値

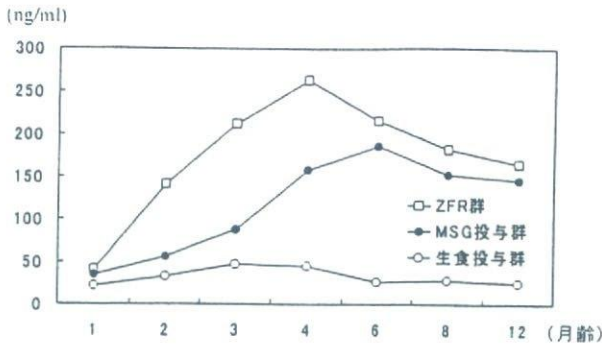


表2. 血中インスリン濃度

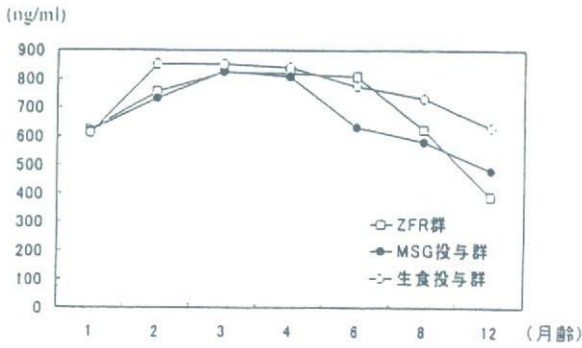
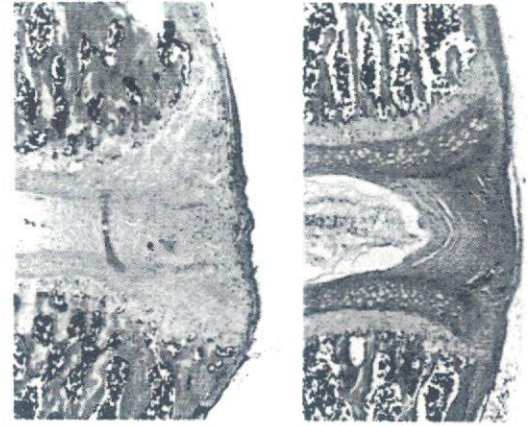
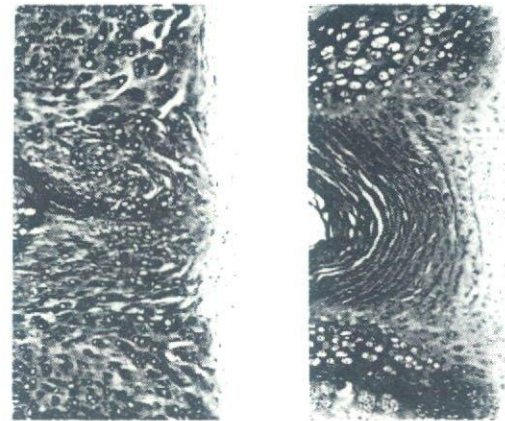


表3. 血中IGF-I濃度



4M ZFR (X100) 4M MSG投与Rat (X100)

図1. H.E.染色



4M ZFR (X100) 4M MSG投与Rat (X100)

図2. Ph4.1 Toluidine染色

血中インスリン濃度は、ZFR群は2ヶ月齢をピークに、MSG投与群は4ヶ月齢をピークに上昇し、以後月齢に伴い徐々に低下傾向を示したが、8ヶ月齢以降、ZFR群、MSG投与群とも生食投与群の約5倍の値を示した(表2)。血中IGF-I濃度は3群とも、どの月齢においても、明らかな差は認めなかった(表3)。

2. HE染色では、3ヶ月齢までの3群の椎間板には変性、膨隆等の所見は認められなかった。4ヶ月齢では、ZFR群の腹側椎間板の膨隆を認め、線維輪部に線維輪構造の破綻および、同部に紡錘形細胞と球状の軟骨細胞様細胞の増殖を認めた。一方、4ヶ月齢のMSG投与群では、線維輪構造は保たれており、12ヶ月齢においても、椎間板の構造は保たれていた(図1)。

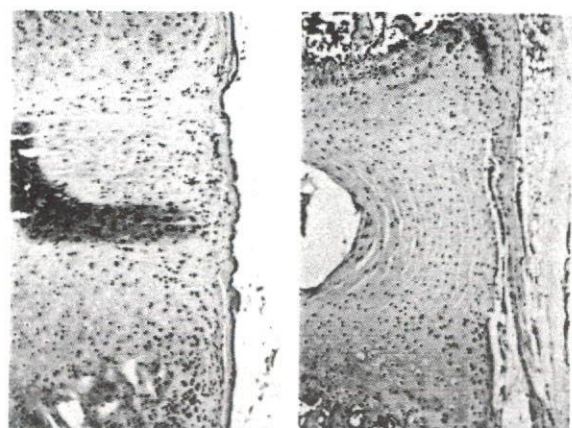
Toluidine blue染色では、ZFR群に認められた軟

骨細胞様細胞が染色された(図2)。

3. 抗インスリン抗体による免疫染色では、4ヶ月齢以降のZFR群の椎間板に増殖した軟骨細胞様細胞に染色性を認めた。一方、MSG投与群では椎間板に染色性は認めず、ZFR群と同程度の血中インスリン濃度を呈した8ヶ月齢以降においても、椎間板局所にインスリンの発現は認めなかった(図3A, B)。

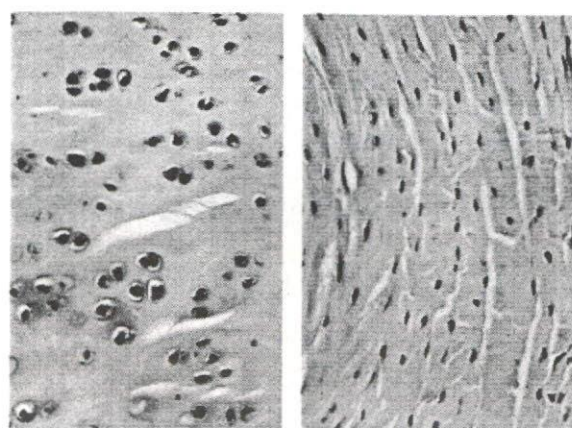
IGF-Iは、血中濃度に明らかな差はなかったが、4ヶ月齢以降のZFRに認められた軟骨細胞様細胞に染色性を認め、MSG投与群には12ヶ月齢まで染色性は認めなかった。

インスリンレセプターもインスリン、IGF-I同様に、ZFR群の軟骨細胞様細胞に染色性を認めたが、MSG投与群では12ヶ月齢までにおいて染色性は認めず(図4A, B)、IGF-I α レセプター、IGF-I β レセプターにおいても同様であった。



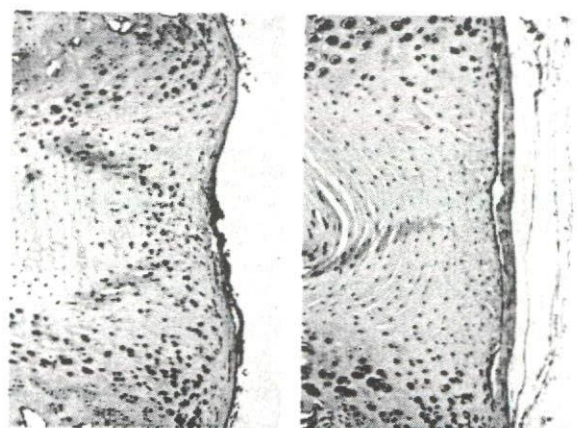
4M ZFR (X100) 4M MSG投与Rat (X100)

図3 A. Insulin



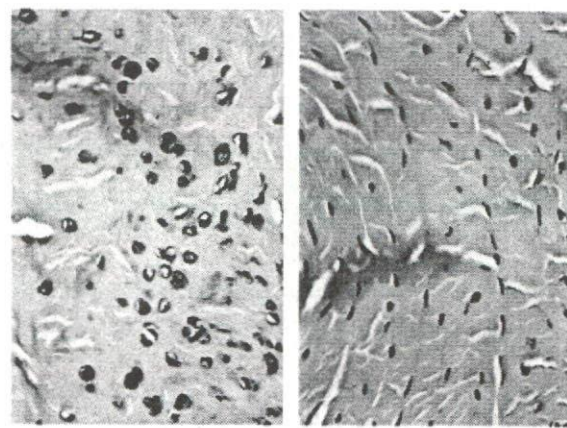
4M ZFR (X400) 4M MSG投与Rat (X400)

図3 B. Insulin



4M ZFR (X100) 4M MSG投与Rat (X100)

図4 A. Insulin reseptor



4M ZFR (X400) 4M MSG投与Rat (X400)

図4 B. Insulin reseptor

D. 考察

Zucker Fatty Ratは摂食調節因子であるレプチンのレセプター遺伝子のミスセンスにより摂食が抑制されず、過食、肥満、高インスリン血症を呈することが報告されてきた^{1) 2)}。一方、L型アミノ酸であるMSGを新生仔動物に投与すると、満腹中枢である視床下部腹内側核が選択的に破壊され^{3) 4) 5)}、視床下部におけるレプチン反応性の低下、および交感神経機能低下による高インスリン血症を呈することが報告されており⁶⁾、ラットにおいても同様の病態を呈することが知られている。これらのラットは視床下部におけるレプチン抵抗性、および肥満、高インスリン血症という点において類似した病態を呈していると考えられる。今回の結果でも、ZFR群、MSG投与群とも高インスリン血症を呈し、8ヶ月齢以降同程度の血中インスリン濃度を呈していた。

インスリンの生理作用は、糖の細胞内への取り込み、脂質代謝、グリコーゲンの合成、蛋白の合成といった代謝作用と、細胞の増殖、分化を調節する作

用の2つに大別される^{7) 8)}。これらの作用の情報伝達機構は、インスリンがレセプターに結合した後に、内因性の気質である、IRS、Shcをリン酸化することによりさらに下流で、PI3キナーゼ経路、MAPキナーゼ経路を活性化し、前者は代謝作用を、後者は細胞増殖作用を調節すると考えられている。また、IGF-Iもインスリン同様に代謝作用、細胞増殖作用を有することが報告されている。これはインスリンレセプター、IGF-Iレセプターの構造がきわめて類似していることから、リガンドが相互のレセプターに結合するためと考えられている^{9) 10)}。

今回の結果では、ZFR群の椎間板にインスリン、IGF-Iの発現を認めたことから、椎間板の変性、膨隆においてMAPキナーゼを介した細胞増殖作用が関与していると考えられた。一方、MSG投与群ではZFR群と同程度の血中インスリン濃度を呈したが、椎間板局所にインスリン、IGF-Iの発現は認めなかった。また、抗インスリンレセプター抗体、抗IGF-Iレセプター抗体による免疫染色ではZFR群にその

発現を認め、MSG 投与群には明らかな発現は認めなかった。このことから ZFR の椎間板の変性、膨隆においてインスリン、IGF-I に対する感受性が関与していることが示唆された。インスリンの主な標的組織は肝臓、骨格筋、脂肪細胞であるが、ZFR、MSG とも高インスリン血症が持続することから、主要標的組織におけるインスリン抵抗性が存在すると考えられる¹¹⁾。このインスリン抵抗性存在下に、何らかの原因で ZFR の椎間板における感受性が増強し、変性、膨隆に促進的に作用している可能性があると考えられた。また臨床的にも、高インスリン血症患者のうち、脊柱靭帯骨化を合併する率はそれほど高率ではないことから、インスリン主要標的組織以外におけるインスリン、IGF-I の感受性が関与している可能性があると考えられた。

E. 結語

1. ZFR、MSG 投与ラットとも、高インスリン血症を呈したが、ZFR にのみ、椎間板の変性、膨隆を認め、椎間板局所にインスリン、IGF-I の発現を認めた。
2. Zucker Fatty Rat では、椎間板におけるインスリン、IGF-I に対する感受性が増強し、MAP キナーゼを介した細胞増殖作用が、椎間板の変性、膨隆に促進的に作用したと考えられた。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

論文発表

なし

学会発表

木村 大,山本謙吾,町田英明,中谷知薫,反町武史,今給黎篤弘,海老原善郎: Monosodium Glutamate 投与肥満ラットの脊柱靭帯における骨化関連因子に関する免疫組織学的検討.第51回東日本整形災害外科学会.2002

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

[参考文献]

- 1) Zucker,L.M.Zucker,T.F.:Fatty, a new mutation in the rat.J.Hered,52:275-278,1961
- 2) 田中 恵:Zucker Fatty Rat に関する実験的脊柱靭帯骨化に関する研究.東医大誌,52:19-32,1994
- 3) 益崎裕章,小川佳宏,細田公則,ほか:肥満におけるレプチンとレプチン受容体.最新医学,52:1110-1124,1997
- 4) Olney,J.W.:Brain lesion,obesity and other disturbances in mice treated with monosodium

glutamate.Science,164:719-721,1969

- 5) 古川宣明:Monosodium L-glutamate 過剰投与による肥満マウスの糖代謝に関する研究1.肝の糖質生能および解糖能について.京府医大誌,90:339-350,1981
- 6) 立花佳代:Monosodium L-glutamate 投与肥満マウス (MSG マウス) の血清レプチン値と摂食行動の解析.京府医大誌,109:101-110,2000
- 7) Yano H.Ohya K.Amagasa T.:Effects of insulin on in vitro bone formation in fetal rat parietal bone.Endocrine Journal,41(3):293-300,1994
- 8) 戸部一之,門脇孝:インスリン情報伝達異常と糖尿病.糖尿病の最前線,37:36-59,1996
- 9) 播 稔治,横野浩一,春日雅人:IGF-I レセプターキナーゼを介する情報伝達系,蛋白質 核酸 酵素,36:1008-1013,1991
- 10) 高橋伸一郎,伯野史彦:インスリン様成長因子の細胞内シグナル伝達.ホルモンと臨床,46:89-103,1998
- 11) 古川健亮,小川 渉:インスリンシグナル伝達とインスリン抵抗性.内分泌・糖尿病学,13(2):195-199,2001

脊椎後縦靭帯骨化症の感受性遺伝子同定に関する研究

研究者 森 幹士、松末 吉隆、滋賀医科大学整形外科
研究要旨 脊椎後縦靭帯骨化症(OPLL)の感受性遺伝子同定

A. 研究目的

難病である脊椎後縦靭帯骨化症（以下 OPLL）の感受性遺伝子の同定を目的とします。

B. 研究方法

OPLL 患者末梢血を採取し、genomic DNA を抽出します。候補遺伝子を設定し、抽出した DNA を用いて association study を中心に感受性遺伝子の同定を行います。我々は、患者からの末梢血採取を主に担当し、具体的な解析は理化学研究所（遺伝子多型センター・OA チーム、池川 志郎先生）にお願いしています。

（倫理面への配慮）

十分なインフォームドコンセントを得た後に患者末梢血を採取しています。採血後は直ちに番号化し、個人の同定が不可能なように配慮しています。また、滋賀医科大学、理化学研究所の倫理委員会に本研究について申請を行い、承認を得ています。

C. 研究結果

現在までに約 80 例の OPLL 患者 DNA を理化学研究所に郵送済です。

D. 考察

OPLL については、これまでの研究により遺伝要因の関与が明らかとされています。これまでに、いくつかの

候補遺伝子が報告されていますが OPLL の遺伝要因を解明するには至っていません。

E. 結論

現在のところ、OPLL の遺伝要因の解明には至っていません。継続してサンプルの採取に勤め、症例数を増やす事によって近い将来に OPLL の感受性遺伝子が同定されることが大いに期待されます。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし。
2. 学会発表
なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当するものなし。

脊柱靱帯骨化症におけるプロテオーム解析

分担研究者

永田見生、久留米大学医学部整形外科 津留美智代、久留米大学医学部整形外科
安藤則行、久留米大学医学部整形外科 佐藤公昭、久留米大学医学部整形外科
角間辰之、久留米大学クリニカルバイオスタティスティックス教授

研究要旨

これまでの我々の研究は、ヒト後縦靱帯骨化症の手術時摘出、靱帯骨化組織のタンパク質を可視化し、2次元電気泳動にてタンパク分離を行い、質量分析装置によりアミノ酸の解析を行い、データベースからタンパク質の同定を行ってきた。今回、靱帯骨化組織、靱帯未骨化組織の細胞質、細胞膜のプロテオーム解析を行った。また、前回、後縦靱帯骨化症と黄色靱帯骨化症の共通タンパク質の遺伝子をクローニングし、ヒト間質系幹細胞から骨芽細胞への誘導においてどのように発現するかを共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。

A. 研究目的

ヒト靱帯骨化組織のタンパク質の解析を行うことにより、脊柱靱帯骨化症の発症する原因タンパク質を解明することを目的とする。また、靱帯骨化組織の細胞膜と細胞質のプロテオーム解析を行うことにより、細胞質と細胞膜のタンパク質の動きを解析する。

B. 研究方法

患者サンプルは、厚生労働省・文部科学省・経済産業省による「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に準拠し、試料提供者の匿名化を行い解析した。

組織は、Proteo Prep Universal Extraction kit (SIGMA)にて可溶性タンパク質と膜タンパク質を別々に抽出し、脱塩後、IPG (immobilized pH gradient) ストリップゲル 7 cm (Bio-Rad)にて1次元目の電気泳動を行い、平衡化後、SDS-PAGEで2次元電気泳動を行った。電気泳動が終了したゲルは、銀染色とクマシーブルー染色にてタンパク質の染色を行い、PDQUEST (Bio-Rad)にてスポットの解析を行い、クマシーブルー染色スポットを切り出し、Montage In-Gel Digest 96 Kitにてタンパク質の消化、精製を行い、LC-MS/MS または、MALDI-TOF マスにて解析を行った。

後縦靱帯骨化症と黄色靱帯骨化症の共通スポットのタンパク質の遺伝子を解析後、ヒト組織から RT-PCR 法にて cDNA 断片を切り出し、Competent cell

DH5 α (TOYOBO) に transform を行った。

pEGFP, pEDsRed, pEYFP, pECFP (CLONTECH) に目的タンパク質の発現遺伝子を組み込んだ。

ヒト間葉系幹細胞 (Poietics Inc) を培養し、骨芽細胞へ誘導をかけ、その培養液にプラスミドを入れ、共焦点レーザー顕微鏡 (ZEISS) にて観察した。

C. 研究結果

後縦靱帯骨化症、黄色靱帯骨化症の靱帯骨化組織の細胞膜、細胞可溶部分の両方に糖鎖が付いたタンパク質と、糖尿病に重要であると言われる糖タンパク質を見ることができた。

D. 考察

脊柱靱帯骨化症は、糖尿病の合併が多く見られるが、我々がプロテオーム解析から見つけたタンパク質は、糖尿病と関係するタンパク質であり、脊柱靱帯骨化症の発症に起因するタンパク質であると考察する。

E. 結論

以前、脊柱靱帯骨化症は、IRS-1 やインシュリンレセプターが関係するという報告が見られたが、今回の我々の検出したタンパク質は、インシュリンレセプター、IRS-1 の刺激により細胞質から細胞膜へ移動し、細胞内へ糖を導入することが考えられた。

F. 研究発表

第25回 日本分子生物学会 シンポジウム プ
ロテオーム解析とゲノム解析 世話人 永田見生

第25回 日本分子生物学会 シンポジウム プ
ロテオーム解析とゲノム解析 疾患におけるプロテ
オーム解析とゲノム解析 津留美智代

G. 知的所有権の所得状況
なし

靱帯・腱および脊柱靱帯骨化症におけるMsx2遺伝子の発現とその意義に関する研究

研究協力者 川島 博行 新潟大学大学院医師学総合研究科 教授

研究要旨：腱や靱帯細胞の分化・機能の制御メカニズムを明らかにする目的で、マウス歯根膜（歯周靱帯）細胞株 PDL-L2 を樹立し、その性質を調べた。その結果、歯根膜細胞は骨芽細胞への分化能を保持しながらも、通常の条件ではその分化が抑制されていること、また、ホメオボックスを持つ転写因子 Msx2 が分化抑制にかかわっていることを明らかにした。同様な機序はアキレス腱などの腱細胞でも働いていると考えられた。実際、OPLL の患者 3 例について調べたところ、靱帯の石灰化部では Msx2 遺伝子発現が低下し、その低下度は臨床症状の重篤度ならびに石灰化（骨化）の程度に比例することが判明した。Msx2 の発現低下を来たすメカニズムが OPLL 発症機序と深くかかわる可能性が示唆された。

A. 研究目的

腱や靱帯は筋肉や骨芽細胞と同様に間葉系細胞から分化するが、その制御メカニズムについては全く知られていない。OPLL 等靱帯の疾患や機能異常の原因を明らかにし、その予防・治療法を確立するためには、腱や靱帯細胞の分化や機能の制御にかかわる転写因子・特異的マーカーを明らかにする必要がある。

B. 研究方法

腱や靱帯の細胞株は存在しないので、マウスの歯根膜から歯根膜細胞を樹立しその性質を調べる。歯根膜細胞を選んだのは、この細胞がモデリングの盛んな細胞であり、また、骨芽細胞やセメント芽細胞等石灰化能を有する細胞への分化能を保持していると信じられているからである。樹立した細胞の遺伝子発現や機能を骨芽細胞と比較検討した。

（倫理面への配慮）

患者組織の研究への使用についてはインフォームドコンセントを取得済みである

C. 研究結果

歯根膜細胞は、①遺伝子発現を指標にする限り分化段階初期の骨芽細胞に酷似している、②通常の条件下では石灰化抑制機構が働いているが、大量の BMP-2 で刺激するとわずかに石灰化する、③Msx2 の発現量は常に高いレベルに維持されている、④Msx2 遺伝子を欠損させると石灰化するようになる。一方、骨芽細胞は、⑤分化とともに Msx2 遺伝子発現が低下し、石灰化時には消失する⑥Msx2 を強制発現すると石灰化しなく

なる。また、アキレス腱や尾部の腱でも Msx2 の発現は高く維持されている。以上はマウスおよびその細胞に関するデータであるが、さらに、⑦OPLL 患者の脊柱靱帯の病変部（骨化部）では、Msx2 遺伝子の発現量が著明に低下しており、その低下度は、石灰化および臨床症状の重篤度に比例していることが判明した。

D. 考察

腱や靱帯細胞は骨芽細胞への分化、石灰化が抑制された状態にある、Msx2 遺伝子発現レベルがその制御に関わる、OPLL の靱帯病変部ではこの制御機構が破綻している可能性がある、等が示された。

E. 結論

OPLL の発症機序に Msx2 遺伝子発現制御機構の破綻が寄与している可能性がある

F. 健康危険情報：なし

G. 研究発表

1. 論文発表：

Saito Y et al., J. Cell Sci. 115(2): 4191-4200, 2002

2. 学会発表：

Yoshizawa Y et al., Mol. Biol. Cell 13(suppl): p104a (Ab#583) (42nd American Society for Cell Biology Annual Meeting, December 14-18, 2002)

H. 知的財産権の出願・登録状況：なし

頸椎後縦靱帯骨化症に対する椎弓形成術後のX線学的検討 — 切断レベルと術式の相違について —

分担研究者 岩本幸英（九州大学整形外科教授）

共同研究者 前田健、志田純一、細川哲、播広谷勝三（九州大学整形外科）

芝啓一郎（総合せき損センター整形外科）

研究要旨

頸椎後縦靱帯骨化症に対し頸椎椎弓形成術が施行された症例において、C2 まで椎弓切断を要した症例は、術後頸椎前弯及び、可動域の減少が有意に大きかった。また、椎弓切断後の後方連続性の再建については、術後頸椎アライメントに有意な影響を与えなかった

A. 研究目的

頸椎後縦靱帯骨化症（以下 OPLL）による頸髄障害に対しては、本邦では椎弓形成術による後方からの除圧が標準的に行われている。頸椎症性脊髄症と比べ頸椎 OPLL においては、靱帯骨化の伸展に伴い C2 椎弓まで除圧を要する場合が少なくない。一方 C2 棘突起には頸半棘筋などの頸椎前弯アライメント保持に重要な筋群が付着しており、同部の除圧が頸椎アライメントなどに及ぼす影響が危惧される。今回第一に、椎弓形成術における C2 切断が術後の頸椎アライメント、及び可動域に及ぼす影響を検討した。

また、頸椎椎弓形成術は、椎弓を観音開きや片開きにより開いた後、後方椎弓の連続性を移植骨やスペーサーなどにより再建する方法と、再建しない方法とに分けられる。後方椎弓の連続性を再建する利点について、現在のところ明確な根拠は得られていない。今回

第二に、椎弓の後方連続性再建の有無が、術後臨床症状や、頸椎アライメント、可動域に影響を及ぼすか否かを、OPLL 症例に関して検討した。

B. 研究方法

頸椎 OPLL に対して、1990 年より 2000 年まで頸椎椎弓形成術が施行された症例のうち、術後 1 年以上 X 線動態撮影での経過観察が可能であった 87 例（男性 67 例、女性 20 例）を対象とした。手術時年齢は 39～77 歳（平均 58.3 歳）、術後経過観察期間は 1 年～8 年 8 ヶ月（平均 3 年 1 ヶ月）であった。

C2 を含めて椎弓を切断した症例は 35 例（C2 群）、男性 28 例、女性 7 例で、手術時平均年齢は 56.0 歳であった。C3 以下の切断、または C2 を dome laminectomy までに止めた症例が 52 例（C3 群）、男性 39 例、女性 13 例で、手術時平均年齢は 59.8 歳であった。

術式別には、椎弓を正中で切断した後、黒川法に準じてスペーサーにて椎弓の連続性を再建した症例が64例（再建群）、男性49例、女性15例、手術時平均年齢58.1歳であった。観音開きとした椎弓を岩崎法に準じそのまま両側の傍脊柱筋群に縫着した症例が23例（非再建群）、男性17例、女性6例、手術時平均年齢58.7歳であった。

頸椎アライメントは頸椎側面中間位 X 線像を用いて、C2 椎体下縁と C7 椎体下縁に沿う直線のなす角（C2-7 角）及び石原法に準じた前弯指数で評価した。また頸椎可動域は頸椎動態撮影側面像を用いて、C2 椎体後壁と C7 椎体後壁に沿う直線のなす角を各動態で計測し評価した。術後の神経学的評価は JOA スコアに基づいて行った。

統計学的検討は、t 検定、および Pearson 積率法にて行った。

（倫理面での配慮）

本研究は retrospective な研究であり、且つ術前後ともルーチン検査の範囲内で行われている。個人のプライバシーも十分に守られており倫理面では問題ないと思われる。

C. 研究結果

① C2 切断の有無による検討：

C2-7 角は術前 C2 群 14.8° C3 群 13.5° から術後 C2 群 6.4° C3 群 10.8° に減少し、前弯指数は術前 C2 群 8.8%、C3 群 7.1% から術後 C2 群 3.0%、C3 群 5.3% に減少した。術前後の C2-7 角、及び前弯指数の差（術前－術後）にて評価すると、C2-7 角の変化は

C2 群 7.7° C3 群 2.7° ($p < 0.01$) であり、前弯指数の変化は C2 群 5.8% C3 群 1.7% ($p < 0.01$) であった。即ち、C2 を切断した症例の方が有意に術後前弯減少を示した（図 1）。

ROM については、術前 C2 群 33.4°、C3 群 37.8° から術後 C2 群 14.0°、C3 群 21.3° に減少した。術前後における可動域の差（術前－術後）にて評価すると、C2 群 19.9°、C3 群 16.5° ($p = 0.01$) であり、C2 群の方で術後拘縮傾向が強かった（図 2）。

図 1

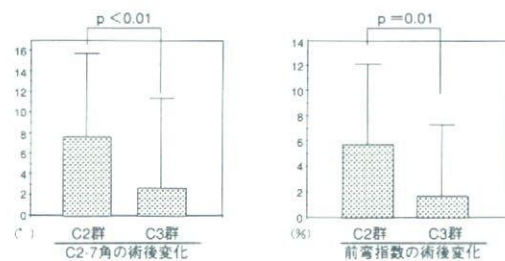
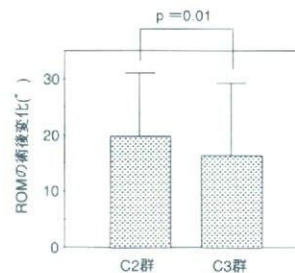


図 2



JOA 点数の改善率は、C2 群において術前平均 10.1 点から術後平均 13.8 点に改善した。平均改善率は 48.0% であった。C3 群において術前平均 10.4 点から術後平均 13.7 点に改善した。平均改善率は 51.2% であった。両群間で有意差はなかった ($p = 0.71$)。頸椎アラ

イメントおよび頸椎可動域と JOA 点数の改善率に有意な相関は認めなかった。

②術式の相違による検討：

術後頸椎アライメント変化（前弯減少）を、C2-7 角、前弯指数それぞれの術前後の差（術前－術後）で評価した。C2-7 角の変化は再建群で 5.6°、非再建群で 2.1°（ $p=0.10$ ）、前弯指数の変化は再建群で 3.7°、非再建群で 2.4°（ $p=0.37$ ）であった。即ち、術後アライメント変化に関しては、術式による有意差は C2-7 角、前弯指数とも認められなかった。可動域に関しては、術前再建群 35.7°、非再建群 39.3° から術後再建群 16.2°、非再建群 26.1° に減少した。術前後の差（術前－術後）で評価すると、再建群 19.6°、非再建群 13.2° であり（ $p<0.01$ ）、術後再建群で有意に拘縮傾向が強かった。

また、術式間で、JOA 点数の改善率に有意差は無かった（ $p=0.40$ ）。

D. 考察

頸椎後縦靭帯骨化症においては、骨化の範囲によっては C2 を含めた椎弓割断をせざるを得ないことが少なくない。C2 棘突起には頸半棘筋、下頭斜筋、大後頭直筋などの頸椎アライメント保持に重要な筋群が付着しており、C2 を広く剥離し割断するのに多少の不安を感じる術者も少なくないであろう。今回の調査結果より、C2 割断は術後頸椎前弯の減少および頸椎可動域の低下を助長する可能性が示唆された。C2 割断が頸椎アライメントに及ぼす影響として、C2 棘突起から椎弓にかけて広く剥離展開し割断することで、剥

離した筋群、靭帯の再付着の障害となり、術後頸椎前弯が減少するのではないかと考えられた。但し今回の調査では、C2 群/C3 群間に JOA 点数の改善率には差が無かった。即ち、C2 割断によりもたらされる術後後弯化の増強は、臨床的な不利益に直接関連していなかった。むしろ統計学的な有意差が無いにしても、潜在的には頸椎後弯化が脊髄の障害をもたらす可能性は否定できないが、術後アライメントにこだわるあまり、除圧範囲を無理に縮小することがあってはならない。あくまで十分な脊髄の除圧を得ることが第一条件であろう。

頸椎椎弓割断後、後方の椎弓連続性を再建する意義については、いまだその EBM は得られていない。推定される意義としては、棘上靭帯、項靭帯などの再接着の母床、捻れに対する椎間安定性の供給、後方からの肉芽進入による脊柱管再狭窄の防止、など考えられるが、その根拠は未だ不明瞭である。今回、頸椎術後アライメントに焦点を当て比較検討したが、少なくともこの点に関しては、スベーターによる後方連続性の再建は有効性が認められなかった。ただ、C2 群に絞り再建群/非再建群を比較すると、術後 C2-7 角、及び前弯指数の変化が再建群 vs 非再建群で 7.0° vs 10.4°（ $p=0.32$ ）、5.1% vs 8.8%（ $p=0.16$ ）であり、有意差はないものの、再建群で術後変化が少ない（術後前弯が保たれている）傾向にあり興味深い。C2 割断を要する場合は、C2 の後方椎弓連続性の再建がアライメント保持に有効なのかもしれない。可動域に関しては、周囲軟部組織との癒着が

増すためか、再建群において術後可動域の低下が有意に大きかった。JOA 改善率においても再建群／非再建群間に有意差はなく、椎弓連続性再建の意義は証明できなかった。

E. 結論

頚椎 OPLL にて椎弓形成術を施行した 87 例に対し、C2 割断の有無、及び後方椎弓の連続性再建の有無に着目して、術後頚椎アライメント、及び可動域変化を検討した。

C2 まで椎弓を割断した症例は、C3 以下の割断例と比べ術後前弯減少と可動域低下の程度が有意に大きかった。JOA 点数の改善率には両者差はなかった。また、スペーサーを用いた後方椎弓連続性再建は、術後頚椎アライメント、及び JOA 点数の改善率には関与していなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Maeda T, Arizono T, Saito T, Iwamoto Y:

Cervical alignment, range of motion and instability after cervical laminoplasty.

Clin Orthop 401:132-138, 2002

2. 学会発表

第 56 回西日本脊椎研究会

第 75 回日本整形外科学会・学術集会

第 31 回日本脊椎脊髄病学会

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

後縦靭帯骨化症患者に対する頸椎en bloc laminoplasty術後 10年以上の長期成績

川口善治（富山医科薬科大学医学部整形外科）、金森昌彦（富山医科薬科大学医学部整形外科）、
石原裕和（富山医科薬科大学医学部整形外科）、杉森一仁（富山医科薬科大学医学部整形外科）、
木村友厚（富山医科薬科大学医学部整形外科）

【研究要旨】

頸椎 en bloc laminoplasty を施行し、10 年以上を経過した（平均追跡期間 13.0 年）頸椎後縦靭帯骨化症（OPLL）患者 49 例を対象とし、JOA スコアを用いた臨床成績および X 線学的所見について調べた。その結果、最終調査時の JOA スコア改善率は 50%と保たれており、良好な臨床成績が得られていた。経過中 JOA score の低下した症例は 13 例存在し、その主な原因は OPLL の進行などであった。X 線学的所見では術後頸椎後彎変形、頸部可動域制限が問題としてあげられ、これらと関連する項部愁訴に対する対策が必要と考えられた。

A. 研究目的

頸椎椎弓形成術は脊柱管狭窄状態に基づく圧迫性脊髄障害に対して優れた臨床成績が確認され、我が国では普遍的になりつつある術式である。当科でも頸椎 en bloc laminoplasty を開発し 1981 年以来本法を施行してきた。本研究は、頸椎後縦靭帯骨化症（OPLL）患者に頸椎 en bloc laminoplasty を施行し 10 年以上経過観察した長期成績の分析から、その問題点を明らかにし、OPLL における本術式の意義と適応について検討することを目的とした。

B. 研究方法

頸椎 en bloc laminoplasty を施行し 10 年以上を経過し直接検診または電話による調査が可能であった OPLL 患者 49 例を対象とした。男性 34 例、女性 15 例、手術時平均年齢は 55.8 歳であり、術後経過観察期間は平均 13.0 年であった。これらの症例はすべて同じ術式を施行し、後療法として床上安静 2 週間、SOMI brace 6 週間、その後頸椎カラー 6 週間の合計約 3 ヶ月の外固定を行った。成績の分析は、臨床所見と X 線学的所見の推移より行った。臨床成績は JOA score の経時的推移にて行い、経過中 JOA score が低下した例についてはその原因を検討した。X 線学的所見は有効脊柱管前後径の変化、頸椎アライメント、頸椎可動域、椎間癒合数を調べた。尚、臨床成績については対照として同じ期間に頸椎 en bloc laminoplasty を行った頸椎症性脊髄症患者

（CSM）31 例（男 17 例、女 14 例、手術時平均年齢 56.6 歳）を用いた。

C. 研究結果

臨床成績：術前の JOA score は平均 8.6 点、術後 1 年の改善率は 56.4%、3 年で 57.8%、5 年で 59.1%、最終調査時には 50%であった。OPLL 群の改善度は、CSM 群（最終調査時 63%）と比較しやや劣る傾向にあったが有意差はなかった。経過中 JOA score の低下した症例は 13 例存在した。その主な原因は OPLL の進行（3 例）であり、その他、胸椎レベルでの OPLL の拡大（1 例）、他のレベルでの脊椎疾患（3 例）、糖尿病性神経症（1 例）、下肢循環障害による神経症状の悪化（1 例）、膝変形性関節症により全人工関節置換術を施行した例（1 例）であった。

X 線学的所見：術前の有効脊柱管前後径の最小値は平均 9.2mm であったが、術後 13.5mm に拡大した。拡大された脊柱管は経過観察中に僅かに減少する傾向にあったが、椎弓の落ち込みによる再狭窄が原因で臨床的問題を引き起こした例はいなかった。C2-7 のなす角度より計測した頸椎前弯角度は、術前が 11.2 度から調査時 1.7 度となり、術後後彎をきたす傾向にあった。-10 度以下の後弯をとる症例は術前 1 例から術後 6 例となった。これら術後後彎を呈した症例の JOA スコアの改善は悪い傾向にあった。頸椎可動域は術前 30° であったが調査時に

は 6.1° となり、術前の 20% に減少した。その原因は術後の椎間癒合であり、平均で 3.7 椎間が癒合し、その中でも C2-3 の癒合頻度が最も高かった。また術後頸椎可動域が少ない症例で項部愁訴を多く認める傾向にあった。

D. 考察

頸椎椎弓形成術は脊柱管狭窄状態に基づく圧迫性脊髄症に対して、後方からの脊髄除圧と頸椎柱再建を同時に行うために開発された。本術式は術後 10 年以上の経過観察でも多くの例で神経症状の改善が維持されていたことから、脊髄除圧という目的は長期的にも達せられているといえる。しかし、OPLL の進行により神経症状の悪化をきたす例があり、このような例では前方除圧を考慮する必要があると思われる。

頸椎柱の再建は脊髄腔へ癒痕組織が侵入することを防止する効果があるが、術後に頸椎後彎変形の進行、頸部可動域制限、項部愁訴の残存が問題となる。可動域制限の原因の多くは椎弓の癒合であり、浮上側および蝶番側の骨移植は最小限にすることが望ましいと考えられた。また後彎変形の進行や術後項部愁訴残存に対しては後療法が重要であり、術後早期より頸部の ROM 訓練や筋力訓練を積極的にすすめるべきと考えられた。

E. 結論

頸椎椎弓形成術は術後 10 年以上の経過観察でも多くの例で神経症状の改善が維持されていた。しかし術後の問題点として、OPLL の進行による神経症状の悪化、頸椎後彎変形の進行、頸部可動域制限、項部愁訴の残存があげられ、これらの対策が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

・ Kawaguchi Y, Kanamori M, Ishihara H, Nakamura H, Sugimori K, Kimura T: Progression of ossification of the posterior longitudinal ligament following en bloc cervical laminoplasty. J Bone Joint Surg 83A:1798-1802, 2001.

・ Kawaguchi Y, Kanamori M, Ishihara H, Nakamura H, Sugimori K, Kimura T: Minimum 10-year followup after en bloc cervical laminoplasty. Clin Orthop. (in press)

G. 知的財産権の出願 なし

頸椎後縦靱帯骨化症患者における予後不良因子の検討

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），
久木田 信（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において脊髄症状が発現するか否かは予後を左右する重要な因子である。本研究では頸椎後縦靱帯骨化症患者において脊髄症状を呈した患者と呈さなかった患者について種々の因子を解析して脊髄症状発症の危険因子を検討した。手術的治療を行った患者 80 名と保存的治療を行った患者 167 名の計 247 名について解析した。初診時に脊髄症状を呈さなかった患者はその後の追跡調査で 30% に新たに脊髄症状を呈していた。靱帯骨化による残余脊柱管径が 6mm 未満の症例は全例脊髄症状を呈していたが、6mm 以上の症例では残余脊柱管径と脊髄症状の有無には相関はなかった。しかし、残余脊柱管径が 6mm 以上の症例で脊髄症状の有る症例は無い症例に比べ頸椎の可動域が有意に大きかった。本症における脊髄症状発現には静的因子に加えて動的因子の関与が重要である。

A. 研究目的

頸椎後縦靱帯骨化症患者において脊髄症状が発現するか否かは予後を左右する重要な因子である。明らかな靱帯骨化を認めても長期間脊髄症状を呈さない患者がいれば、一方では比較的軽度の靱帯骨化でありながら早期に脊髄症状を呈する患者もあり本症の脊髄症状発現は静的因子のみでは解決できない³⁾。本研究では頸椎後縦靱帯骨化症患者において脊髄症状を呈した患者と呈さなかった患者について種々の因子を解析して脊髄症状発症の危険因子を検討した。

B. 研究方法

対象は 1967 年より当院において頸椎後縦靱帯骨化症として診断した患者 247 例であり、初診時すでに脊髄症状を呈していた

107 例と初診時脊髄症状がみられずその後 10 年以上経過した頸椎後縦靱帯骨化症患者 140 例である。初診時すでに脊髄症状を呈していた 107 例中 80 例には手術的治療を行った。初診時年齢は 45 歳-72 歳の平均 61.4 歳であり、性別は男性 180 例、女性 67 例である。初診時の骨化型は連続型 63 例、分節型 104 例、混合型 74 例、その他型 6 例であった。保存的に治療し臨床症状とレ線変化を継続的に観察した症例の 167 例の追跡期間は最短 10 年より最長 32 年の平均 19.6 年であった。

（倫理面での配慮）

研究対象者については診療の過程において本研究の目的と意義についてインフォームドコンセントを与え研究への協力と研究結果を公表することの同意を得た。また、研

究対象者に不利益や危険が生じることを排除することを説明し了解を得た。

C. 研究結果

初診時に脊髄症状を呈していなかった 140 例中 25 例 (18%) が追跡期間中に新たに脊髄症状を発現した。Kaplan-Meier 法²⁾による脊髄症状非発現率は 30 年で 70%であった。残余脊柱管径と脊髄症状発現の関係では靭帯骨化による残余脊柱管径が 6mm 未満の症例は全例脊髄症状を呈していた。残余脊柱管径が 14mm 以上では脊髄症状は発現しなかった。しかし、残余脊柱管径が 6mm 以上の 14mm 未満の症例では残余脊柱管径と脊髄症状の有無には相関はなかった (図 1)。残余脊柱管径が 6mm 以上の 14mm 未満の症例では頸椎の可動域が脊髄症状発現の症例で有意に大きかった (表 1)。脊髄症状発現と種々の因子の相関を logistic regression analysis で解析すると骨化進展、骨化型、年齢、性別、追跡期間、外傷の有無には相関は認められず、残余脊柱管径と頸椎可動域で相関が認められた。

D. 考察

今回の調査結果から臨床症状の推移を長期間観察しても脊髄症状が発生せずに人生を終えることができる患者も多数存在することがわかった。しかし、本症に起因する脊髄症状のために著しい日常生活動作の障害を呈している患者がいることも事実である^{1)・5)・8)}。従ってどのような患者が脊髄症状を発現し、どのような患者は脊髄症状を発現しないのか分かれば本症患者にとって極めて有用な情報を提供できる。今回の研

究では残余脊柱管径が 6mm 未満の症例は全例脊髄症状を呈しており、靭帯骨化による脊柱管狭窄の程度はやはり重要な因子であることがわかった。しかし、大部分の患者でみられる残余脊柱管径が 6mm 以上の 14mm 未満程度の骨化においては静的因子よりむしろ動的因子が脊髄症状発現に関係しているといえる。本症患者においては軽微な頸部の外傷により重篤な頸髄損傷を呈することがあることは以前より報告されており、動的危険因子からの回避も本症患者の予後にとって重要であると考え^{4)・6)}。また、本研究では静的圧迫因子を頸椎単純レ線写真による残余脊柱管径計測により検討したが今後靭帯骨化による脊柱管狭窄の病態を CT⁷⁾や MRI を用いてより詳細に検討する必要がある。

E. 結論

本症における脊髄症状発現には静的因子に加えて動的因子の関与が重要であり、今後この両者の因子の詳細な解析が必要である。

[参考文献]

- 1) Bakay LH, Cares HL, Smith RJ : Ossification in the region of the posterior longitudinal ligament as a cause of cervical myelopathy. J Neurol Neurosurg Psychiat 33:263-268,1970
- 2) Kaplan EL, Meier P : Nonparametric estimation from incomplete observation. J Am Stat Assoc 53:457-481,1958
- 3) 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