

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

脊柱靱帯骨化症に関する調査研究

平成15年度総括研究報告書

主任研究者 中村 耕三

目 次

I. 班員構成	
脊柱靱帯骨化症に関する調査研究班	1
II. 総括研究報告書	
主任研究者 中村耕三 東京大学大学院医学系研究科整形外科	3
III. 分担研究報告書	
1. 後縦靱帯骨化症の遺伝子解析	11
理化学研究所・遺伝子多型研究センター変形性関節症関連遺伝子研究チーム 池川 志郎	
2. 細胞骨格の変化によるBMPの応答制御	13
大阪大学大学院医学系研究科器官制御外科学（整形外科） 樋口 周久、吉川 秀樹 大阪府立成人病センター生物学部門 伊藤 和幸	
3. OPLL靱帯細胞の骨芽細胞への分化制御機構の解明に関する研究	16
東京大学医科学研究所ゲノム情報応用診断 池田 龍二、吉田 健一、塚原 聡、坂本 佳子、井ノ上逸朗 弘前大学医学部薬理学 古川 賢一 山口大学医学部整形外科 田中 浩	
4. ラットを用いた脊柱靱帯への反復伸展ストレス負荷モデルの確立	22
九州大学整形外科 岩本 幸英、塚本 伸章、前田 健、三浦 裕正、志田 純一、細川 哲、 播広谷勝三 九州産業大学機械工学科 日垣 秀彦、蔵田 耕作	
5. 神経栄養因子に関する脊髄神経細胞の圧迫ストレス応答	29
福井大学医学部整形外科 内田 研造、馬場 久敏、小林 茂、彌山 峰史、角山 倫子	
6. 脊椎後縦靱帯骨化症の感受性遺伝子解析	35
弘前大学整形外科 田中 利弘、塚原 聡、古島 弘三、岡田 晶博、藤 哲 青森県立中央病院 原田 征行、 東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター整形外科 猪狩 勝則 鹿児島大学整形外科 小宮 節郎 弘前大学薬理学 岩崎 弘英、古川 賢一	

山口大学整形外科 田中 浩、河合 伸也 東京大学医科学研究所ゲノム情報応用診断部門 中島 敏晶、井ノ上逸朗	
7. 後縦靭帯骨化症患者由来脊柱靭帯細胞に対するメカニカルストレスの影響の トランスクリプトーム解析	39
弘前大学整形外科 岩澤 智宏、岩崎 弘英、澤田 利匡、岡田 晶博、藤 哲 弘前大学薬理学 古川 賢一、元村 成 弘前記念病院整形外科 植山 和正 青森県立中央病院 原田 征行 東京大学医科学研究所ゲノム情報応用診断部門 井ノ上逸朗	
8. 海綿骨由来の間葉幹細胞に関する研究	53
東京医科歯科大学医歯学総合研究科 四宮 謙一	
9. 耐糖能異常下における骨化関連因子の検討（経過報告）	54
東京医科大学整形外科学教室 渡辺 淳、山本 謙吾、木村 大、久保 宏介、今給黎篤弘	
10. 内軟骨性骨化において肥大軟骨細胞に発現する転写因子の解析	58
京都大学大学院医学研究科生体構造医学講座 関 賢二 京都大学大学院医学研究科感覚運動系外科学講座整形外科学 中村 孝志	
11. cDNAマイクロアレイを用いた慢性圧迫性脊髄障害における遺伝子発現解析	61
千葉大学医学部整形外科 腰塚 周平、大河 昭彦、国府田正雄、橋本 将行、山崎 正志、鎌田 尊人、 守屋 秀繁 千葉大学医学部機能ゲノム学 関 直彦、加藤 真樹	
12. 頸椎後縦靭帯骨化症における上行性脊髄誘発電位に関する研究	64
高知大学医学部整形外科 岸本 裕樹、谷 俊一、牛田 享宏、谷口慎一郎、坪屋 英志、池本 竜則	
13. SNPsを用いたCOL11A2遺伝子の関連解析および連鎖不平衡解析	67
徳島大学感覚運動系病態医学講座運動機能外科学 浜田 大輔、酒井 紀典、高田洋一郎、東野 恒作、加藤 真介、安井 夏生 徳島大学ゲノム機能研究センター遺伝情報分野 板倉 光夫	
14. 脊柱靭帯骨化症における靭帯骨化メカニズム 一糖代謝との関わりを細胞膜プロテオーム解析から究明する一	69
久留米大学医学部整形外科 永田 見生	

15. 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	70
新潟大学大学院医歯学総合研究科	
川島 博行	
16. 分節型頸椎後縦靱帯骨化症に対する片開き式脊柱管拡大術の長期成績	71
—混合型・連続型との比較—	
慶応義塾大学整形外科	
小川 祐人、千葉 一裕、松本 守雄、中村 雅也、高石 官成、石井 賢、 戸山 芳昭	
17. 胸椎後縦靱帯骨化症の除圧術直後の麻痺悪化例	80
東北大学整形外科	
田中 靖久、国分 正一、小澤 浩司、松本不二夫、相澤 俊峰	
18. 頸椎後縦靱帯骨化症（以下OPLL）の保存的経過症例の検討	87
山口大学医学部整形外科	
金子 和生、田口 敏彦、斉木 正彦、豊田耕一朗、加藤 圭彦、河合 伸也	
19. 胸椎後縦靱帯骨化症に対する後方除圧固定術	90
—術後症状の推移および脊柱アラインメントについての解析—	
千葉大学医学部整形外科	
山崎 正志、大河 昭彦、新羽 正明、橋本 光宏、政木 豊、守屋 秀繁	
20. 頸胸椎OPLLに対する広範囲脊柱管拡大術の術後成績	98
和歌山県立医科大学整形外科教室	
中川 幸洋、吉田 宗人、川上 守、安藤 宗治、橋爪 洋、南出 晃人、 谷口 亘	
21. 胸椎靱帯骨化症に対する手術成績の検討に関する研究	102
国立病院岡山医療センター	
中原進之介	
22. 胸椎OPLLの手術的治療 —術中モニタリングについて—	103
名古屋大学大学院医学系研究科機能構築医学専攻運動・形態外科学講座整形外科学	
松山 幸弘、辻 太一、吉原 永武、酒井 義人、中村 博司、石黒 直樹	
23. 胸椎後縦靱帯骨化症に対する脊髄全周除圧術の治療成績	111
Circumspinal decompression for thoracic ossification of posterior longitudinal ligament	
金沢大学整形外科	
川原 範夫、村上 英樹、羽藤 泰三、粟森世里奈、富田 勝郎	
24. 頸椎OPLL術後患者に対するBASFIによるADL評価の試み	115
滋賀医科大学整形外科	
森 幹士、松末 吉隆	
滋賀医科大学臨床検査部	
茶野 徳弘、岡部 英俊、	
25. 胸椎黄色靱帯骨化症の手術成績と予後に与える要因に関する研究	118
富山医科薬科大学整形外科	
川口 善治、金森 昌彦、石原 裕和、信清 正典、阿部由美子、関 庄二、 木村 友厚	
26. 鹿児島県における頸椎後縦靱帯骨化症患者申請の実態調査	124
鹿児島大学大学院運動機能修復学講座整形外科学	
松永 俊二、林 協司、米 和徳、小宮 節郎	

27. 胸椎後縦靭帯骨化症に対する椎弓切除術の治療成績	128
鹿兒島大学大学院運動機能修復学講座整形外科	
林 協司、松永 俊二、米 和徳、小宮 節郎	
28. 胸椎後縦靭帯骨化症に対する後方進入前方除圧術：成績不良例の検討	130
北海道大学保健管理センター	
鐘 邦芳	
北海道大学整形外科	
伊東 学、小谷 善久、角家 健、室田 栄宏、三浪 明男	
29. 胸椎後縦靭帯骨化症に対するNavigation Surgery	133
東京大学医学部整形外科	
星地亜都司、竹下 克志、阿久根 徹、川口 浩、河村 直洋、中村 耕三	
IV. 胸椎後縦靭帯骨化症の手術治療検討会	
1. 胸椎OPLL術後悪化例の検討	139
日本大学整形外科	
徳橋 泰明、小田 博、西村 太一、龍 順之助	
駿河台日本大学整形外科	
松崎 浩巳	
2. 胸椎OPLLに対する段階的後方進入脊髄除圧術の問題点とその対策	140
埼玉医科大学総合医療センター整形外科	
平林 茂、斎木 都夫、阿部 良二、都築 暢之	
3. 胸椎後縦靭帯骨化症に対する後方進入前方除圧術：成績不良例の検討	141
北海道大学保健管理センター	
鐘 邦芳	
北海道大学整形外科	
伊東 学、小谷 善久、角家 健、室田 栄宏、三浪 明男	
4. 胸椎後縦靭帯骨化症の除圧術直後の麻痺悪化例	142
東北大学整形外科	
田中 靖久、国分 正一、小澤 浩司、松本不二夫、相澤 俊峰	
5. 胸椎OPLLに対する脊髄モニタリングを考慮した後方法の治療戦略について	143
山口大学整形外科	
金子 和生、田口 敏彦、豊田耕一朗、加藤 圭彦	
6. 胸椎 OPLL・OLF の電気生理学的病態診断と手術例の検討	144
福井大学医学部器官制御医学講座整形外科学領域	
馬場 久敏、彌山 峰史、中嶋 秀明、内田 研造、小久保安朗、久保田 力、	
佐藤竜一郎、角山 倫子	
7. 胸椎後縦靭帯骨化症術後成績不良例の検討	145
京都府立医大大学院運動器機能再生外科学（整形外科）	
三上 靖夫、長谷 齊、小倉 卓、久保 俊一	
堀川病院整形外科	
茶谷 賢一	
8. 当院における胸椎OPLLの手術成績	146
京都大学大学院医学研究科整形外科	
藤林 俊介、根尾 昌志、坂本 武志、中村 孝志	

9. 胸椎後縦靭帯骨化症に対する後方進入前方除圧術の検討 —術後悪化例を中心に	147
新潟大学大学院医歯学総合研究科整形外科学分野	
平野 徹、長谷川和宏	
新潟中央病院整形外科	
山崎 昭義	
10. 胸椎OPLLに対する前方除圧固定術の治療成績	148
岐阜大学整形外科	
大西量一郎、細江 英夫、杉山 誠一、若林 英、清水 克時	
11. 当科における胸椎OPLL症例の手術成績の検討	149
東京女子医科大学整形外科学教室	
山本 直也、加藤 義治、小橋 宏江、伊藤 達雄	
12. 当科における胸椎OPLL前方固定術の検討	150
自治医科大学整形外科	
木村 敦、中間 季雄、東 高弘、税田 和夫、星野 雄一	
13. 胸椎部鋸歯状OPLLの前方手術後に麻痺が悪化した例の検討	151
聖マリアンナ医科大学整形外科学教室	
笹生 豊	
14. 胸椎後縦靭帯骨化症に対する椎弓切除術の治療成績	152
鹿児島大学大学院運動機能修復学講座整形外科	
林 協司、松永 俊二、米 和徳、河村 一郎、小宮 節郎	
15. 胸椎後縦靭帯骨化症（OPLL）に対する棘突起縦割式脊柱管拡大術	153
—他の方法との比較—	
久留米大学整形外科	
永田 見生、佐藤 公則、安藤 則行、朴 珍守	
16. 胸椎OPLLに対する頸胸椎広範囲椎弓形成術の手術成績と問題点	154
香川大学整形外科	
岡 史朗、有馬 信男、渋谷 整、菅田 吉昭	
香川県立白鳥病院整形外科	
増本 眞悟	
17. 胸椎後縦靭帯骨化症に対する手術成績	155
大阪大学整形外科	
向井 克容、細野 昇、坂浦 博伸、石井 崇大、吉川 秀樹	
18. 胸椎後縦靭帯骨化症に対する一期的後方進入脊髓前方除圧および	
後方固定術の問題点	156
弘前大学整形外科	
岡田 晶博、横山 徹、油川 修一、斉藤 啓、沼沢 拓也、藤 哲	
弘前記念病院整形外科	
植山 和正	
19. 過去10年間鳥取県で行われた胸椎OPLL手術症例の成績と問題点	157
鳥取大学整形外科	
永島 英樹、山根 弘次	
鳥取赤十字病院整形外科	
高橋 敏明	
鳥取県中部医師会立三朝温泉病院整形外科	
森尾 泰夫、石井 博之、楠城 啓朗	

	山陰労災病院	
	村田 雅明、山根 逸郎	
20.	術後C8麻痺が発生した胸椎後縦靭帯骨化症の1例	158
	福岡大学	
	檜田 伸一、森下雄一郎、内藤 正俊、松嶋 潮	
21.	胸椎OPLLの術中モニタリング —術後悪化例—	159
	東京医科歯科大学整形外科	
	星野 優子、小森 博達、川端 茂徳、大久保治修、富澤 将司、四宮 謙一	
22.	胸椎OPLLに対する片開き式脊柱管拡大術の治療成績	
	—特に術後悪化症例について—	160
	東京医科大学整形外科	
	駒形 正志 稲島 勇仁	
23.	胸椎OPLLの術後悪化例の検討とその回避方法	161
	名古屋大学整形外科	
	松山 幸弘、辻 太一、吉原 永武、酒井 義、中村 博司、石黒 直樹	
24.	胸椎後縦靭帯骨化症に対する脊髄全周除圧術の治療成績	
	Circumspinal decompression for thoracic ossification of posterior	
	longitudinal ligament	162
	金沢大学整形外科	
	羽藤 泰三、川原 範夫、村上 英樹、粟森世里奈、富田 勝郎	
25.	当科における胸椎OPLLの治療戦略	163
	和歌山県立医科大学整形外科	
	中川 幸洋、吉田 宗人、川上 守、安藤 宗治、橋爪 洋、南出 晃人	
26.	当科における胸椎OPLLの治療方針 —合併症と術後悪化例について—	164
	獨協医科大学越谷病院整形外科	
	木家 哲郎、浅野 聡、飯田 尚裕、金子 智則、野原 裕	
27.	胸椎OPLL後方手術例の検討 —MRIによる脊髄面積と臨床成績との関連—	165
	弘前大学整形外科	
	沼沢 拓也、岡田 晶博、横山 徹、油川 修一、斎藤 啓、藤 哲	
	弘前記念病院整形外科	
	植山 和正	
28.	異なる手術療法を行った上位胸椎部後縦靭帯骨化症の3症例	166
	高知大学運動機能学講座	
	牛田 享宏、北岡 謙一、武政 龍一、谷口慎一郎、谷 俊一	
29.	胸腔鏡視下OPLL摘出術の初期経験	167
	昭和大学整形外科	
	平泉 裕	
30.	胸椎OPLLに対するインストルメンテーション制動下後方除圧術	168
	筑波大学臨床医学系整形外科	
	金岡 恒治、坂根 正孝、馬見塚尚孝、落合 直之	
31.	頸胸椎椎弓切除後、急速な麻痺の悪化をきたした胸椎後縦靭帯骨化症の一例	169
	慶應義塾大学整形外科	
	山 智、松本 守雄、千葉 一裕、戸山 芳昭	

32. 胸椎部後縦靭帯骨化症術後悪化例の検討	170
東京大学整形外科	
星地亜都司、竹下 克志、川口 浩、河村 直洋、腰塚 裕、東川 晶郎、	
緒方 直史、中村 耕三	
V. 研究成果の刊行に関する一覧表	171

I 班員構成

脊柱靱帯骨化症に関する調査研究班

区分	氏名	所属等	職名
主任研究者	中村耕三	東京大学大学院医学系研究科整形外科	教授
分担研究者	吉川秀樹	大阪大学大学院医学系研究科器官制御外科学(整形外科)	教授
	井ノ上逸朗	東京大学医科学研究所ゲノム情報応用診断部門	客員助教授
	池川志郎	理化学研究所・遺伝子多型研究センター	チームリーダー
	岩本幸英	九州大学医学部整形外科	教授
	馬場久敏	福井大学医学部器官制御医学講座整形外科学領域	教授
	木村友厚	富山医科薬科大学医学部整形外科	教授
	小宮節郎	鹿児島大学医学部整形外科	教授
	藤 哲	弘前大学医学部整形外科	教授
	鑑 邦芳	北海道大学保健管理センター	教授
	四宮謙一	東京医科歯科大学医学部整形外科	教授
	戸山芳昭	慶應義塾大学医学部整形外科・脊椎脊髄外科	教授
	国分正一	東北大学大学院医学系研究科医科学専攻外科病態学講座体性外科学分野整形外科学	教授
	田口敏彦	山口大学医学部生体機能統御学・整形外科	助教授
	米延策雄	国立大阪南病院整形外科	副院長
中村孝志	京都大学大学院医学研究科	教授	
守屋秀繁	千葉大学医学部整形外科	教授	
研究協力者	谷 俊一	高知大学整形外科	教授
	吉田宗人	和歌山県立医科大学整形外科	教授
	安井夏生	徳島大学医学部整形外科	教授
	中原進之介	国立病院岡山医療センター整形外科	医長
	今給黎篤弘	東京医科大学整形外科	教授
	石黒直樹	名古屋大学医学部整形外科	教授
	富田勝郎	金沢大学医学部整形外科	教授
	松末吉隆	滋賀医科大学整形外科	教授
	永田見生	久留米大学医学部整形外科	教授
	川島博行	新潟大学大学院医歯学総合研究科細胞機能制御学分野	教授
事務局		東京大学医学部整形外科 〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1 TEL: 03-5800-8859 FAX: 03-5800-8858	
経理事務 担当者	朝野英彦	東京大学医学部附属病院事務部管理課 〒113-8655 東京都文京区本郷7-3-1 TEL: 03-5800-9753 FAX: 03-5800-8727 E-mail: asanoh@adm.h.u-tokyo.ac.jp	

II 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総括研究報告書

脊柱靭帯骨化症に関する調査研究

主任研究者 中村 耕三 東京大学大学院医学系研究科整形外科教授

研究要旨 脊柱靭帯骨化症に対して、基礎研究として原因遺伝子のさらなる絞り込みと原因候補のタンパク質等の検討、臨床研究としてはガイドラインの作成によって、疾患の病態解明と診療体系の確立を意図するものである。共同研究機関より提供された匿名化されたゲノム DNA を用いて、一塩基多型 (SNP: single nucleotide polymorphism) を含む DNA 多型を利用した大家系によるノンパラメトリック連鎖解析ならびに罹患同胞対連鎖解析、相関解析を行うことで疾患関連遺伝子を探索し、その機能解析を行う。全血液サンプルが 768 に達し、現在罹患同胞対サンプルを中心に収集している。また、骨化に関連したタンパク質機能解析も行っていく。ガイドラインでは文献査読が終了し、ガイドライン原案がほぼ策定された。今後学会での検証ならびに診断基準の見直しを図っていく。

分担研究者			
吉川秀樹	大阪大学大学院医学系研究科 器官制御外科学（整形外科）教授	田口敏彦	山口大学医学部生体機能統御学・整形外科助教授
井ノ上逸朗	東京大学医科学研究所ゲノム情報応用診断部門客員助教授	米延策雄	国立大阪南病院副院長
池川志郎	理化学研究所・遺伝子多型研究センターチームリーダー	中村孝志	京都大学大学院医学研究科教授
岩本幸英	九州大学整形外科教授	守屋秀繁	千葉大学医学部整形外科教授
馬場久敏	福井大学医学部整形外科教授	研究協力者	
木村友厚	富山医科薬科大学医学部整形外科教授	谷 俊一	高知大学整形外科教授
小宮節郎	鹿児島大学医学部整形外科教授	吉田宗人	和歌山県立医科大学整形外科教授
藤 哲	弘前大学医学部整形外科教授	安井夏生	徳島大学医学部整形外科教授
鏡邦芳	北海道大学保健管理センター教授	中原進之介	国立病院岡山医療センター整形外科医長
四宮謙一	東京医科歯科大学医学部整形外科教授	今給黎篤弘	東京医科大学整形外科教授
戸山芳昭	慶應義塾大学医学部整形外科・脊椎脊髄外科教授	石黒直樹	名古屋大学医学部整形外科教授
国分正一	東北大学大学院医学系研究科医科学専攻外科病態学講座体性外科学分野整形外科教授	富田勝郎	金沢大学医学部整形外科教授
		松末吉隆	滋賀医科大学整形外科教授
		永田見生	久留米大学医学部整形外科教授
		川島博行	新潟大学大学院医歯学総合研究科細胞機能制御学分野教授

A. 研究目的

脊髄麻痺を引き起こす疾患は患者および家族への身体および精神的障害が甚大である。それらの麻痺性疾患のうち慢性発症ではとくに脊柱靭帯骨化症は多発する骨化巣、時間経過にともなう麻痺の進行という特異な病態を有する。さらに一部の患者では麻痺が重篤化し介護・福祉面での社会への負担も大きい。

原因については過去の特定疾患研究班において数々の画期的な解明がなされてきたが、原因遺伝子の同定には至っておらず、原因タンパク質の特定もされていない。さらに治療の必要性・有用性を検定する際に必要となる自然経過の研究は未だ散発的であり、また疾患の進行を予測する指標の選定も充分には行われていない。また診断基準は作成されているが、診断確定に至るまでに必要な診察・検査のアルゴリズムは含まれていない。すなわち診断の手順や個々の症例に則したテイラーメイド的治療法を目指した包括的なガイドラインはこれまで策定されていない。

原因については過去の特定疾患研究班において数々の画期的な解明がなされてきたが、原因遺伝子の同定には至っておらず、原因タンパク質の特定もされていない。さらに治療の必要性・有用性を検定する際に必要となる自然経過の研究は未だ散発的であり、また疾患の進行を予測する指標の選定も充分には行われていない。また診断基準は作成されているが、診断確定に至るまでに必要な診察・検査のアルゴリズムは含まれていない。すなわち診断の手順や個々の症例に則したテイラーメイド的治療法を目指した包括的なガイドラインはこれまで策定されていない。

本研究は、脊柱靭帯骨化症に対して、これまでの特定疾患研究班の研究成果を踏まえ

つつ、基礎研究として原因遺伝子のさらなる絞り込みと原因候補のタンパク質等の検討、臨床研究としてはガイドラインの作成を行うことで、病態解明と診療体系の確立を意図するものである。

B. 研究方法

原因遺伝子の解明は言うまでもなく遺伝子治療などの脊柱靭帯骨化症の根本治療への第一歩であるが、平成12年度厚生省特定疾患研究事業・脊柱靭帯骨化症に関する調査研究班報告書に明らかのように脊柱靭帯骨化症を集中的に診療している大学病院ですら各施設あたりの診療患者数は限られている。したがって各参加施設の協力によりサンプル数を増やすこととする。分子遺伝学・分子生物学的方法により集まったサンプルを解析し、OPLLの疾患遺伝子を同定する。共同研究機関より提供された匿名化されたゲノムDNAを用いて、一塩基多型(SNP: single nucleotide polymorphism)を含むDNA多型を利用した大家系によるノンパラメトリック連鎖解析ならびに罹患同胞対連鎖解析と相関解析を中心とする遺伝学的解析を行い、疾患関連遺伝子を探索し、その機能解析を行う。また、骨化に関連したタンパク質機能解析も行っていく。

ガイドライン作成は日本整形外科学会による整形外科・脊椎外科疾患領域のガイドライン作成の一環としても行われる。文献検索・取得には国際医学情報センターに一部委託しつつ、リサーチクエスションの設定後、文献を査読しガイドラインを策定する。ガイドラインは仮策定後、日本脊椎脊髄病学会・日本整形外科学会での評価ならびに検証を行う。また現時点での診断・治療における問題提起を行い、単施設の研究では困難であった研究課

題に対する多施設研究の設定を検討する。同時に将来的には診断基準の見直しも検討する。

また脊柱靭帯骨化症のなかでも胸椎後縦靭帯骨化症は重篤な神経症状をきたす場合が多く、外科的治療法についても安定した治療成績が得にくい病態であるが、罹患数が少ないため、実態把握さえ充分でない状況が続いている。したがって来年度における実態調査の準備を行った。

また各施設の基礎的研究として大阪大学の吉川・樋口らは骨化進展の一機構と思われる機械的ストレスによる細胞骨格変化を調べた。医科学研究所の池田・井ノ上らは OPLL 患者靭帯細胞を骨芽細胞へ分化させた際に発現上昇する遺伝子の同定より、OPLL の骨化制御機構の解明を目指した。九州大学の岩本・塚本らは生体ラットの尾椎を対象とした独自の刺激装置を開発し、靭帯局所への伸張メカニカルストレスによる異所性骨化について検討した。福井大学の内田・馬場らは機械的圧迫ストレス存在下における脊髄神経細胞およびグリア系細胞の神経栄養因子発現を免疫組織化学的に調べた。弘前大学の田中・藤らは感受性遺伝子の網羅的同定を目指し、ゲノム全域連鎖解析を行った。弘前大の岩澤・藤らはメカニカルストレスを加えた培養脊柱靭帯細胞における遺伝子発現の差異をトランスクリプトーム解析で捕らえた。東京医歯大の四宮は海綿骨からコラゲナーゼ処理して遊離する細胞の増殖能・多分化能を検討した。東京医大の渡辺・今給黎らは、糖代謝異常下における骨化関連因子の経時的変化を調査した。京都大学の関と中村らは内軟骨性骨化において肥大軟骨細胞に発現する転写因子の解析を行った。千葉大の腰塚・守屋らは慢性圧

迫脊髄において正常脊髄と比較して発現量が増加あるいは減少している遺伝子の検索を行った。高知大学の岸本・谷らは脊髄索路症状を伴う頸椎後縦靭帯骨化症において術中に記録した上行性脊髄誘発電位(SCEP)によって明らかとなった伝導ブロックの程度と重症度や改善率との関係、伝導ブロックのレベルと OPLL の関係について検討した。徳島大学の浜田・安井らは遺伝要因の一因として COL11A2 遺伝子に着目し、散発 OPLL 症例および非 OPLL 症例を対象に SNPs を用いた関連解析、連鎖不平衡解析を行った。久留米大の永田は脊柱靭帯骨化組織を細胞膜と細胞質に分離し各々のプロテオーム解析を行った。新潟大の川島はマウス靭帯株細胞モデルにして靭帯細胞の骨芽細胞との相違について検討した。

臨床研究では慶応大学の小川・千葉らは分節型頸椎後縦靭帯骨化症に対する片開き式脊柱管拡大術の長期成績を報告した。東北大の田中・国分らは胸椎後縦靭帯骨化症での手術悪化例について検討した。山口大の金子・田口らは頸椎後縦靭帯骨化症の平均 11.7 年の保存的経過症例を検討した。千葉大の山崎らは胸椎後縦靭帯骨化症に対する後方除圧固定術における術後症状の推移および脊柱アラインメントについて解析を行なった。和歌山県立医大の中川・吉田らは頸胸椎にわたる広範囲 OPLL に対する広範囲脊柱管拡大術手術成績について調査した。国立病院岡山医療センターの中原らは胸椎靭帯骨化症に対する手術成績について検討した。名古屋大の松山・石黒らは術中脊髄機能モニタリング法について報告した。金沢大の川原・富田らは胸椎後縦靭帯骨化症に対する脊髄全周除圧術の治療成績を検討した。滋賀医科大の森・松末らは頸椎後縦靭帯骨化症において体の硬さによる ADL 障害を訴えるも

の多いことに着目し、日常生活に関するADL評価をおこなった。富山医薬大の川口・木村らは胸椎黄色靭帯骨化症の術後成績を調査した。鹿児島大の松永・小宮らは診療科別による申請状況の実態を知る目的で鹿児島県における頸椎後縦靭帯骨化症患者申請の実態調査を行った。鹿児島大学の林・小宮らは胸椎後縦靭帯骨化症に対する椎弓切除術の成績を調査した。北海道大学の鑑らは胸椎後縦靭帯骨化症に対する後方進入前方除圧術での成績不良例の検討を行なった。東京大学の星地・竹下らは星地・竹下らは鋸歯状の胸椎後縦靭帯骨化症の除圧手術におけるナビゲーションシステムを検討した。

(倫理面での配慮)

血液サンプルに関しては、血液採取に当たって研究の目的などを説明後、書面による同意を得る。またプライバシーの漏洩に注意し、各サンプルをコード化して収集、管理・保存を行い、氏名など個人情報が血液サンプルと関連付けが不可能なように扱うこととしている。「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成13年3月29日 文部科学省 厚生労働省 経済産業省)」に従う。検体の提供者からは、書面によるインフォームドコンセントを取得し、特に、個人情報の保護に留意する。

C. 研究結果 および D. 考察

ゲノム解析については各施設での倫理委員会への研究申請ならびに承認はほぼ終了し、現在血液収集が計768例行われた。また罹患同胞対が6家系、大家系が2家系追跡予定されている。候補遺伝子20遺伝子について、相関解析を行なった。カイ2乗検定、またはFisher検定でのP値が有意水準(0.05)を満たしたものはなかった。今後連鎖解析の

ためのサンプル収集を引き続き行っていく予定である。

一方、タンパク質機能解析については、BMP-2のシグナル伝達経路のMAPKシグナルの骨芽細胞分化への影響を、MEK阻害剤、MEK活性型およびドミナントネガティブcDNA導入法により検討し、MAPKシグナル伝達経路抑制によるBMP応答性の亢進、骨芽細胞の分化・石灰化促進作用を明らかにした。また、内軟骨性骨化に不可欠のSox9を組織特異的・時間特異的に欠失させたマウスの脊椎骨を検討した結果、下位胸椎および腰椎が完全に欠損し、Sox9は脊椎骨形成においても必須であることを明らかにした。更に、マウス歯周靭帯細胞株PDL-L2を樹立し、転写因子Msx2が骨芽細胞分化抑制にかかわっていること、脊柱靭帯骨化部でMsx2遺伝子発現の低下と骨化とが関連することを明らかにした。

ガイドライン策定に関してはガイドライン委員として田口敏彦助教授(山口大)、松永俊二講師(鹿児島大)、岩崎幹季副部長(大阪労災病院)、田中雅人助手(岡山大学)が選ばれ、米延策雄副院長を中心としてガイドライン委員会が作られた。本症の診療上の判断において求められるリサーチクエスチョンを4章、12節、約100項目設定し、リサーチクエスチョンを分析し、これに対するエビデンス検索のためのキーワード設定をおこなった。設定したキーワードによる文献一次検索により、日本語文献約800篇、英語文献約400篇を選定した。さらに弁別・取捨選択をおこなって採用した文献を査読委員に委ね、エビデンステーブルを作成した。現在各委員によるサイエンティフィックステートメントがほぼ完成し委員会において校閲が行われている。これらは現在進行している日本整形外科学会による整形外科・脊椎

外科疾患領域のガイドライン作成の一環でもあり、特に頸椎症性脊髄症および腰椎椎間板ヘルニアガイドラインとの整合性にも配慮している。今後、日本脊椎脊髄病学会などでの評価検討を行う予定である。

吉川・樋口らはアクチン重合阻害剤の一時処理により、骨芽細胞はアクチンストレスファイバーの消失とその再構築がなされること、このときの骨芽細胞分化マーカーの上昇とオステオカルシン分泌上昇、細胞外基質石灰化亢進は BMP2 存在下で増強されたことを報告した。これは細胞骨格の変化により BMP 応答性が亢進し、異所性骨化を導くことが推測され、機械的ストレスによる細胞骨格変化が脊柱靭帯骨化症進展の成因の一つである可能性を示している。池田・井ノ上らはヒト間葉系幹細胞 (human Mesenchymal Stem Cell; hMSC)、OPLL 患者の靭帯細胞におけるマイクロアレイ解析で PLZF に着目し、その発現レベルの経時的パターンを調べた。さらに遺伝子発現抑制実験及び強制発現に成功し、PLZF が CBFA1 の上流で働き、骨芽細胞分化に重要な因子であり、OPLL の治療につながる可能性を示した。岩本・塚本らは生体ラットの尾椎に反復する伸張ストレスを負荷することで、異所性骨化および後縦靭帯に沿って新生軟骨の出現を捕らえ、OPLL の成因のうち外的因子として靭帯局所への伸張メカニカルストレスがある可能性を示した。内田・馬場らは機械的ストレスによって引き起こされるニューロンへの刺激伝達障害、アストロサイトによる神経栄養因子産生が誘因となり、各遺伝子発現パターンが変化し、その結果 autocrine, paracrine mechanism により、ニューロン生存、維持機構が作動している可能性を示した。田中・藤らはゲノム全域連鎖解析で、21 番染色体テロメア

領域に最も強い連鎖のあることを明らかにした。さらに SNPs を用いた患者・対照関連解析を行い *COL6A1* での OPLL への関与の可能性を示した。岩澤・藤らは培養脊柱靭帯細胞にメカニカルストレスを加え、それによる遺伝子発現の差異を cDNA マイクロアレイを用いたトランスクリプトーム解析によりこれまでに報告された遺伝子に加え endothelin-1 が同程度の発現増加を認めたことを報告した。さらに RT-PCR 法や ELISA 法などの分析により、OPLL 患者由来細胞ではメカニカルストレスにより ET-1 の発現が mRNA レベル・タンパクレベルとともに増加し、ET 受容体 A や PGI₂ の介在するパラクライン機構を介して、靭帯の骨化機構が促される可能性を示した。四宮は海綿骨からコラゲナーゼ処理して遊離する細胞は、骨髄液由来接着系細胞と同等の増殖能と多分化能を有することを示し、海綿骨は間葉幹細胞源として有用であることを報告した。渡辺・今給黎らは rhBMP-2 を Rat 下肢筋層間に挿入することで、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的変化を検討、報告した。関と中村らは内軟骨性骨化において肥大軟骨細胞に発現する転写因子の解析を行ない、スネイル・ファミリー転写因子 (Snail, Slug) が肥大軟骨細胞に強く発現していること、また、軟骨細胞の細胞外基質である 2 型コラーゲンとアグリカンの遺伝子発現を制御していることを見だし、Snail/Slug は骨形成に重要な機序の一つである細胞外マトリックスの転換を調節している分子であると考えられることから、骨化性病変の予防と治療法を開発する上で Snail/Slug が有用な標的分子の一つであることを報告した。腰塚・守屋らは慢性圧迫性脊髄障害モデルとして *ttw mouse* に対して cDNA マイクロア

レイを用い、慢性圧迫脊髄において正常脊髄と比較して発現量が増加あるいは減少している遺伝子の検索をおこない、16の候補遺伝子について発現量の減少を確認した。現在、これらの遺伝子の脊髄組織における発現について解析を進めており、今後、これらの遺伝子の機能について検討進めていくとのことであった。岸本・谷らは上行性脊髄誘発電位(SCEP)によって明らかとなった伝導ブロックの程度と重症度や改善率との関係、伝導ブロックのレベルとOPLLの関係について検討し、完全ブロックの症例は麻痺の程度は他の症例と差はなかったが、ブロック判定不能群と比べ麻痺の改善率が有意に高く、罹病期間も有意に短かったこと、伝導ブロックは71%の症例でOPLLの最大占拠高位に一致して起こっていたことを報告した。浜田・安井らはCOL11A2遺伝子とOPLLの関連を検証したが、今回の解析ではOPLL症例が75例と少数であったこともあり疾患と遺伝子多型との相関は検出できなかったと報告した。永田は発現タンパク質としてIRS,IGF,グルコース輸送タンパク質などが可溶性細胞膜に存在し、可溶性細胞質には存在しなかったことを示した。川島は靭帯細胞ではRunx2の転写活性が抑制されることにより、骨芽細胞への分化ならびに石灰化が抑制されていることを示した。また、OPLL患者の靭帯骨化部ではMsx2の著明な減少が認められたところから、Msx2発現量減少の原因究明がOPLLの発症と治療に必須であると報告した。また、靭帯細胞は、骨芽細胞とは異なり、メカニカルストレスを負荷しても骨芽細胞の分化マーカーを発現したり石灰化したりすることはなかったことからメカニカルストレスの受容とシグナル伝達においても特異な機構が働いている可能性を示した。

小川・千葉らは頸椎分節型OPLLに対する片開き式脊柱管拡大術の長期成績は非分節型に比べ劣っていることを報告し、非分節型に比べ頸椎可動域が保たれていることがその原因の一つとして推測した。田中・国分らは胸椎OPLLで易損性の高い脊髄に対して椎弓切除と後方instrumentationを行う例では、脊髄除圧の椎弓切除術を他の手術操作に優先することを推奨した。金子・田口らは頸椎後縦靭帯骨化症平均11.7年の保存的経過症例では、骨化の進展の有無やSACの変化に関しては、JOA score不変例と低下例に有意な差は認めなかったが、JOA不変例では、低下例と比較し、有意に頸椎可動域が制限されていることを示した。山崎らは胸椎後縦靭帯骨化症に対する後方除圧固定術において後弯矯正率と術後成績の間に有意な相関はなかったことと、症状は術後緩徐に改善したことから、後方インストゥルメンテーション固定の主な効果は、後弯矯正ではなく制動であると推察した。中川・吉田らは頸胸椎にわたる広範囲OPLLに対する広範囲脊柱管拡大術12例の手術成績について、術前JOA scoreは1/11から9/11、平均4.4/11であり、術後JOA scoreは4/11から11/11、平均7.2/11であり、改善率は0から100%で矢状面アライメントも保持されていたと報告した。中原らは胸椎靭帯骨化症に対する手術成績について臨床評価によるレベル診断は約2割に可能であり、CTM画像によるレベル判断は約4割の症例で行われていたことを報告した。松山・石黒らは脊髄誘発電位(SCEP)・頭蓋刺激脊髄導出法・脊髄刺激筋導出法などの問題点を指摘し、現時点では経頭蓋高頻度電気刺激による筋電位導出法(CMAP法)が現実的であるとし、実際の有効例を提示した。川原・富田らは脊

Ⅲ 分担研究報告書

髓全周除圧術の後方手術後に症状の改善に乏しい場合には前方除圧固定を行うことが望ましいと報告した。森・松末らは既存の functional index のうち同様に脊柱の骨化をきたす疾患である強直性脊椎炎での日常生活の評価基準 (Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index; BASFI) を用い、OPLL 患者での ADL を評価し、BASFI を用いる事の有用性を検討し、将来のより理想的な OPLL 患者の ADL 評価基準の確立につき検討した。川口・木村らは胸椎黄色靭帯骨化症の患者 22 名の術後成績を調査し、予後に及ぼす要因について検討し、術前深部感覚障害の認められた例の改善率は有意に劣っていることを明らかにした。松永・小宮らは鹿児島県における頸椎後縦靭帯骨化症患者申請の実態で、整形外科からの申請に比べ脳神経外科からの申請患者は軽症である傾向があることを示した。林・小宮らは 22 例の JOA スコアによる改善率は 35.4% であり、術直後悪化例を 4 例認めたので、胸椎 OPLL に対する椎弓切除術の成績は良好とはいえ、術式の検討が必要であると報告した。鏡らは胸椎後縦靭帯骨化症に対する後方進入前方除圧術について除圧効果は大きい、手術のリスクは大きく、後方除圧のみでは脊髄症状の改善が期待できない例に限定されるべきであることと、骨化靭帯の摘出は骨化巣の形態を検討して適応をきめるべきであることを報告した。星地・竹下らは鋸歯状の胸椎後縦靭帯骨化症の除圧手術におけるナビゲーションシステムの有用性を報告した。

E. 結論

ゲノム研究は今後、罹患同胞対のサンプルが十分な数に達した時点で、解析を行っている。

く。

ガイドライン策定は査読・策定が近日完了するので、以後は学会での検証ならびに今後の施設研究の設定と診断基準の見直しを図っていく。

F. 健康危険情報

現在、介入をおこなう研究は行われておらず、またゲノム研究においては「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成 13 年 3 月 29 日 文部科学省 厚生労働省 経済産業省)」に従っており、検体の提供者からは、書面によるインフォームドコンセントを取得し、特に、個人情報の保護に留意している。

後縦靱帯骨化症の遺伝子解析

分担研究者 池川 志郎

理化学研究所・遺伝子多型研究センター

変形性関節症関連遺伝子研究チーム・チームリーダー

研究要旨 後縦靱帯骨化症 (Ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine: OPLL) の原因の解明のために、まずその遺伝的要因を明らかにしようとしている。罹患同胞対法 (sib-pair linkage analysis) による連鎖解析 (linkage analysis)、相関解析 (association analysis) により OPLL の疾患を同定すべく、サンプルを収集し、基盤整備を行っている。

A. 研究目的

OPLL の遺伝的要因を明らかにすること。

B. 研究方法

1. OPLL 罹患大家系から genomic DNA を収集し、non-parametric linkage analysis を行い、遺伝子座位を同定する。

2. OPLL 罹患同胞から、genomic DNA を収集し、罹患同胞対法による連鎖解析を行う。既に、過去の厚生労働省特定疾患対策研究事業にて、鹿児島大、弘前大を中心に収集済みの 140 罹患同胞対 (pair) に加えて、新たに、日本全国の約共同研究機関より、200 pair の OPLL 罹患同胞対を収集する。non-parametric linkage analysis を行い、遺伝子座位を同定する。

3. 罹患同胞対法により限局化したゲノム上の領域の候補遺伝子、及びモデル疾患、モデル動物などの既存の知識を元に決定した候補遺伝子について、相関解析 (case-control association study) を行う。相関の得られた遺伝子について、高密度遺伝子多型地図を作成し、連鎖不平衡マッピング (linkage disequilibrium mapping) を行い、疾患感受性多型を同

定する。

(倫理面への配慮)

本研究の遂行にあたっては、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成13年3月29日文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)に従っている。検体の収集を含めた研究計画については、理化学研究所、及び各検体の収集施設において予め倫理委員会の承認を得ている。検体は、書面によるインフォームド・コンセントを取得後に収集している。

C. 研究結果

1., 2. 連鎖解析の基盤となるゲノム全域をカバーする多型マーカー (micro-satellite marker) については、東京女子医大・リュウマチ痛風センター、猪狩勝則先生の協力のもと、新たに日本人特異的な多型マーカーのセットを整備した。この多型マーカーのセットの有用性は、家族性の変形性関節症に対する連鎖解析でこれを用いて、遺伝子座位を同定できたことで検証済みである。目下のサンプルの収集状況は下記のとおり。19施設が参加している。