

200400358A

厚生労働科学研究研究費補助金

痴呆・骨折臨床研究事業

高齢者の腰痛症に係るより効果的かつ効率的な診断、治療、介護  
及びリハビリテーション等の確立に関する研究

平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 戸山 芳昭

平成17(2004)年4月

## 目 次

### I. 総括研究報告

高齢者の腰痛症に係るより効果的かつ効率的な診断、治療、介護およびリハビリテーション等の確立に関する研究 ----- 1

戸山 芳昭

### II. 分担研究報告

1. 腰部脊柱管狭窄診断基準ツールの開発に関する研究 ----- 6

菊地 臣一

2. 骨粗鬆性高齢者腰椎に対する新たな力学的評価法の確立に関する研究 ----- 8

中村 耕三

3. 電気生理学的手法を用いた新たな高齢者腰痛診断法の確立に関する研究 ----- 10

四宮 謙一

4. 椎間板変性機序解明に関する生化学的・分子生物学的研究 ----- 12

千葉 一裕

5. 再生医療を用いた高齢者腰痛症に対する新しい治療法の開発に関する研究 ----- 17

持田 譲治

6. 骨粗鬆症性脊椎圧迫骨折に対する新たな低侵襲治療法の開発に関する研究 ----- 19

武政 龍一

7. 高齢者脊椎圧迫骨折患者の介護およびリハビリテーションプログラムの確立に関する研究 ---- 21

市村 正一

8. 腰痛疾患患者に対する新しいQOL評価法（JLEQ）の開発に関する研究 ----- 23

藤野 圭司

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 24

高齢者の腰痛症に係るより効果的かつ効率的な診断、治療、介護  
及びリハビリテーション等の確立に関する研究

主任研究者：戸山 芳昭 慶應義塾大学医学部整形外科 教授

研究要旨：人口動態の変化や社会環境の変化に伴い、高齢化社会に突入した我が国では、高齢者の腰痛が大きな問題となっており、その病態と原因の解明、そして新たな診断、治療方法、さらには介護やリハビリテーションプログラムの確立が急務である。そこで、まず疫学的調査に基づき高齢者腰痛症の診断基準を設定し、次に有限要素法に基づいた脊椎骨強度の正確性を実証試験によって評価した。また病態解明を目的に、電気生理学的手法を用いて姿勢と腰痛の関係を検討し、椎間板退行変性に関与する分子について生化学的・分子生物学的解析をおこなった。さらに、細胞工学の応用による変性椎間板再生の予備実験をおこない、生体親和性バイオマテリアルを用いた新たな低侵襲治療法を検証し、脊椎圧迫骨折保存療法を臨床評価することによって、最適な介護およびリハビリテーションプログラムの作成をおこなった。

A. 研究目的

腰痛の原因は、退行性疾患、椎間板変性、筋力低下、姿勢異常など多岐にわたる。過去におこなわれた国民生活基礎調査では、実に国民の 1/3 以上の方が何らかの腰痛に悩まされており、腰痛は国民生活に直接的、間接的に重大な影響を及ぼしていると考えられる。本症を有する多くの国民を救済すべく、現在、第一線で積極的に研究活動を行っている班員を招集して、その病態と原因の解明、そして新たな診断、治療方法、さらには介護やリハビリテーションプログラムの確立について研究を進めた。

B. 研究方法

有限要素法解析モデルを用いた非侵襲の骨強度予測評価と、胸腰椎圧迫骨折患者における電気生理学的手法の有用性を検証し、生化学的、分子生物学的的手法による椎間板変性の病態解明を行った。また、腰部脊柱管狭窄と腰椎椎間板ヘルニアについて臨床疫学的データを収集し、診断基準作成の一助とした。変性椎間板に対する再生医療の基礎

検討、脊椎圧迫骨折に対するバイオマテリアルを用いた新しい椎体形成術の開発を行った。さらに、脊椎圧迫骨折保存療法例について臨床評価を行い、最適な初期治療と、介護およびリハビリテーションのプログラムを作成し、腰痛に対する予防検診および運動療法の効果を検討した。

C. 研究結果

腰痛患者の臨床症状から疾患予測についての臨床疫学的データを大規模に収集した。また、独自に試作した骨強度予測解析法を骨粗鬆性腰椎に応用できる方法へ改良した。その結果、マイクロ CT より構築した椎体中央部の矢状断および冠状断像では明瞭に椎体上方に骨折線がみられ、最小主ひずみ分布では椎体上方で圧縮ひずみが増大し、実際の骨折線部と一致していた。実証試験による骨折部位は、連続性がないため骨折線は表現していないが実際の骨折線上にあった。腰背部表面筋電図と経頭蓋磁気刺激・下肢誘発筋電図測定により胸腰椎圧迫骨折に伴う腰痛の原因は神経性ではなく筋肉性であることが明らかになった。平地歩行

での筋活動パターンでは、腰痛のない対照群では二重支配期となる立脚期初期と後期に活動のピークが見られ、左右交互のパターンを示したが、腰痛群では立脚期中期と遊脚期にも筋活動が盛んに起こり、左右交互の筋活動パターンは消失する傾向にあった。3次元培養法を用いて髄核細胞と線維輪細胞との基質代謝様式の違いを生化学的に解析すると、両細胞の基質代謝様式は異なり、加齢とともにTGF $\beta$ やTIMPの発現量は減少することが明らかになった。自家、同種骨髄間葉系幹細胞との共存培養法、in vivo での変性椎間板内への挿入法の確立、不死化椎間板細胞株の樹立に成功した。本邦独自の新しいコンセプトに基づき、リン酸カルシウムセメントを用いた椎体形成術を開発した。脊椎圧迫骨折保存療法例についての臨床データを収集しQOL評価をおこなうと、多椎体骨折、Ⅲ度骨粗鬆症、後壁損傷が骨折不安定性を増大させる成績不良因子であり、初期治療として硬性型フレームコルセットが有用であった。またQOL評価法としてのJLEQ(Japan Low-back pain Evaluation Questionnaire)は、RDQ(Roland-Morris Disability Questionnaire)と同程度の信頼性を有し、さらに詳細な腰痛評価が可能であった。

#### D. 考察

腰痛のために寝たきりや長期療養が必要となると、その治療費や介護費用は膨大で、患者自身の生活の質が大きく損なわれる。このため、高齢者の腰痛が予防でき、また低侵襲の治療が行われ、加えて社会復帰、自立に向けた効果的な介護・リハビリテーションプログラムが確立できれば、患者自身にとどまらず、社会、国にとっても大きなプラスとなり、また新たな労働力としての価値も生まれると考えられる。次年度は、ヒト腰椎新鮮

標本を用いた強度予測評価に基づき、骨粗鬆症患者を対象とした医師主導の自主臨床試験を行う。電気生理学的データを画像評価と比較対照し、姿勢と筋疲労の関係、神経障害の関与について検討する。椎間板の加齢、変性に関与する新規遺伝子をラットから採取した椎間板細胞を用いてマイクロアレイで網羅的にスクリーニングする。腰部脊柱管狭窄症の臨床症状と診察所見およびMRI所見をコード化し、感度と特異度の推定を行い、腰痛に関するアンケート調査を蓄積する。マウス動物モデルを用いて骨髄由来幹細胞が変性椎間板に局在すること、間葉系幹細胞との共存培養が髄核細胞を活性化することを明らかにする。リン酸カルシウムセメントを安全かつ効果的に椎体内に注入する方法の考案と、最適粉液比の決定をおこなう。その一方で、新しいQOL評価法として開発されたJLEQは、本邦における腰痛患者のQOL特性を極めて鋭敏に、かつ客観的・定量的に反映することが判明した。高齢者の脊椎圧迫骨折新鮮例に対する臨床調査を継続し、最適な初期治療法の確立と、その後のリハビリテーションプログラム、および全身的な介護プログラムの作成をめざす予定である。

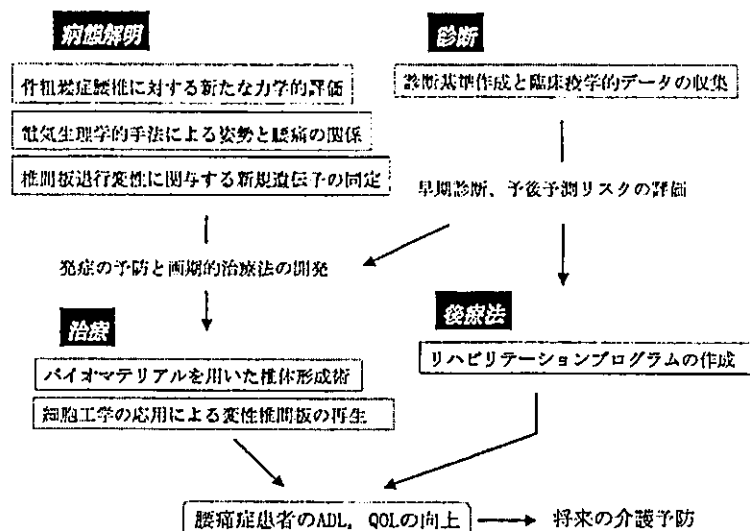
#### E. 結論

本研究班におけるこれらの成果を統合することによって、高齢者の腰痛が予防でき、また低侵襲の治療に加えて、社会復帰、自立に向けた効果的な指針を作成することで、国民の生活機能改善への一助とする。

#### F. 健康危険情報

特になし。

- 研究の概要 -



G. 研究発表

1. 論文発表

1. 別所雅彦, 大西五三男, 佐藤和強, 松山順太郎, 岡崎裕司, 中村耕三, CT を利用した有限要素法による大腿骨頸部の強度・骨折部位評価. 日本整形外科学会雑誌 78 巻 4 号 PageS429(2004.04)
2. 紺野慎一, 菊地臣一, 最新腰部脊柱管狭窄症診療マニュアル-腰部脊柱管狭窄症の概念と分類, Orthopaedics 17 巻 5 号 Page1-5(2004.05)
3. 菊地臣一, 診療ガイドラインの方向性, 臨床に役立つガイドラインとは-腰部椎間板ヘルニア 海外の診療ガイドラインの動向, 臨床整形外科 39 巻 8 号 Page1053-1056(2004.08)
4. 菊地臣一, 腰椎椎間板ヘルニアの診療ガイドライン-海外の腰痛診療ガイドライン策定の考え方, 脊椎脊髄ジャーナル 17 巻 10 号 Page945-950(2004.10)
5. 紺野慎一, 菊地臣一, 臨床研究に必要な Study Design 腰痛関連モデルの開発とアウトカムの検討, 日本整形外科学会雑誌 78 巻 8 号 PageS941(2004.08)
6. 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, 脊髄虚血障害, 冷却時の脊髄誘発電位および誘発筋電図の変化-大動脈置換術症例の術中モニタリングにおける検討, 日本整

形外科学会雑誌 78 巻 8 号 PageS899(2004.08)

7. 久留水彩, 小森博達, 川端茂徳, 大久保治修, 福岡優子, 富澤将司, 四宮謙一, 胸椎及び胸腰移行部手術例における術前下肢運動機能評価と術中下肢誘発筋電図との関連, 日本脊椎脊髄病学会雑誌 15 巻 1 号 Page163(2004.05)
8. Sato M, Yamamoto Y, Sakai D, Mochida J. Characterization of Intervertebral disc - Disc cells and Pericellular microenvironment. Clin Calcium. 2004 Jul;14(7):1084-9.
9. Sakai D, Mochida J, Yamamoto Y, Toh E, Iwashina T, Miyazaki T, Inokuchi S, Ando K, Hotta T. Immortalization of human nucleus pulposus cells by a recombinant SV40 adenovirus vector: establishment of a novel cell line for the study of human nucleus pulposus cells. Spine. 2004 Jul 15;29(14):1515-23.
10. Yamamoto Y, Mochida J, Sakai D, Nakai T, Nishimura K, Kawada H, Hotta T. Upregulation of the viability of nucleus pulposus cells by bone marrow-derived stromal cells: significance of direct cell-to-cell contact in coculture system. Spine. 2004 Jul 15;29(14):1508-14.
11. 酒井大輔, 中井知子, 持田譲治幹細胞から髓核, 線維輪細胞への in vitro での誘導に関する研

- 究. 日本脊椎脊髄病学会雑誌 15 巻 1 号 Page127 (2004. 05)
12. 酒井大輔, 持田諒治, 山本至宏, 岩品徹, 宮崎武志, 西村和博, 野村武変性椎間板内に移植された間葉系幹細胞は増殖, 分化し, 髄核細胞マーカーを発現する. 日本脊椎脊髄病学会雑誌 15 巻 1 号 Page125 (2004. 05)
13. 山本至宏, 酒井大輔, 宮崎武志, 岩品徹, 中井知子, 西村和博, 持田諒治間葉系幹細胞との細胞間接着共培養法により活性化した髄核細胞再挿入術の検討, 日本脊椎脊髄病学会雑誌 15 巻 1 号 Page124 (2004. 05)
14. 武政龍一, 谷俊一, 北岡謙一, 喜安克仁, 山本博司. 骨粗鬆症性椎体偽関節による遅発性脊髄・神経麻痺に対するリン酸カルシウム骨セメントを応用した脊柱再建術. 中国・四国整形外科学会雑誌 16 巻 1 号 Page115-121 (2004. 05)
15. 武政龍一, 山本博司, 谷俊一, 北岡謙一, 骨粗鬆症性椎体骨折の治療, 生体活性リン酸カルシウム骨セメントの椎体内注入補填による骨粗鬆症性椎体骨折修復術. 日本整形外科学会雑誌 78 巻 5 号 Page237-242 (2004. 05)
16. 辻崇, 千葉一裕, 今林英明, 藤田貴也, 三尾太, 戸山芳昭. 家兎椎間板の TIMP-3 発現における加齢性変化, 日本整形外科学会雑誌 78 巻 8 号 PageS1093 (2004. 08)
17. Yamazaki S, Ichimura S, Iwamoto J, Takeda T, Toyama Y., Effect of walking exercise on bone metabolism in postmenopausal women with osteopenia/osteoporosis., J Bone Miner Metab. 2004;22 (5):500-8.
18. 市村正一, 宮本隆, 里見和彦, 整形外科疾患における骨代謝マーカーの応用 骨粗鬆症における骨代謝マーカーの適正使用について, 東日本整形災害外科学会雑誌 16 巻 3 号 Page449 (2004. 08)
19. 市村正一, 宮本隆, 長谷川雅一, 里見和彦, 骨代謝マーカーを用いた骨粗鬆症治療の効果判定 骨密度から骨折予測まで 骨代謝マーカー測定値の施設間差・変動について, Osteoporosis Japan12 巻 2 号 Page214-218 (2004. 04)
20. 長谷川雅一, 市村正一, 里見和彦, 寶亀登, 中川智之, 児玉隆夫, 骨粗鬆症性椎体骨折患者の骨吸収マーカー (I 型コラーゲン N テロペプチド:NTX) の変化, 日本整形外科学会雑誌 78 巻 8 号 PageS1061 (2004. 08)
21. 市村正一, 里見和彦病態と治療-基礎からみた進歩 骨粗鬆症 骨粗鬆症における骨代謝マーカーの発展と臨床応用, 日本整形外科学会雑誌 78 巻 8 号 PageS970 (2004. 08)
22. 市村正一, 小川潤, 里見和彦, 朝妻孝仁, 骨吸収マーカーによるビスフォスフォネート治療の早期効果判定, 日本脊椎脊髄病学会雑誌 15 巻 1 号 Page330 (2004. 05)
23. 長谷川雅一, 市村正一, 里見和彦, 寶亀登, 児玉隆夫, 中川智之, 骨粗鬆症性椎体圧迫骨折の保存療法における X 線像の検討, 日本脊椎脊髄病学会雑誌 15 巻 1 号 Page192 (2004. 05)
24. 市村正一, 骨粗鬆症の薬物療法, その選択と効果判定骨粗鬆症治療のモニターと効果判定 骨代謝マーカーの利用法, 整形・災害外科 47 巻 4 号 Page327-336 (2004. 04)
25. 紺野慎一, 菊地臣一【最新腰部脊柱管狭窄症診療マニュアル】腰部脊柱管狭窄症の概念と分類. Orthopaedics (0914-8124) 17 巻 5 号 Page1-5 (2004. 05)
26. 菊地臣一【診療ガイドラインの方向性, 臨床に役立つガイドラインとは】腰部椎間板ヘルニア 海外の診療ガイドラインの動向. 臨床整形外科 (0557-0433) 39 巻 8 号 Page1053-1056 (2004. 08)
27. 菊地臣一【腰椎椎間板ヘルニアの診療ガイドライン】海外の腰痛診療ガイドライン策定の考え方. 脊椎脊髄ジャーナル (0914-4412) 17 巻 10 号 Page945-950 (2004. 10)
28. 紺野慎一, 菊地臣一. 臨床研究に必要な Study Design 腰痛関連モデルの開発とアウトカムの検討. 日本整形外科学会雑誌 (0021-5325) 78 巻 8 号 PageS941 (2004. 08)
2. 学会発表
1. 今井一博, 大西五三男, 中村耕三ほか: CT を用いた有限要素解析による脊椎椎体の骨折予測, 臨床応用に向けて精度の検討, 第 24 回骨形態計

測学会, 2004 年 6 月

2. 今井一博、大西五三男、中村耕三ほか：有限要素法非線形解析による脊椎椎体の圧縮強度予測, 第 6 回日本骨粗鬆症学会, 骨密度測定との比較, 2004 年 11 月

3. 松本卓也、大西五三男、中村耕三ほか：非線形有限要素解析は脊椎椎体骨折を予測できる, 第 13 回日本コンピューター外科学会 2004 年 12 月

4. 辻崇、千葉一裕、他：家兎椎間板の TIMP-3 発現における加齢性変化 第 17 回日本軟骨代謝学会 (2004. 3. 12-13, 東京)

5. 辻崇、千葉一裕ほか：家兎椎間板の TIMP-3 発現における加齢性変化, 第 19 回日本整形外科学会基礎学術集会 (2004. 10. 21-22, 東京)

6. Tsuji, T, Chiba K, et al: Tissue inhibitor of metalloproteinase-3 maintain the intervertebral disc homeostasis. The 44th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (2005. 2. 19-23, Washington DC)

7. Konno S, Kikuchi S et al: Diagnostic tool for lumbar spinal canal stenosis. The 6<sup>th</sup> WHO Collaborating Center International Symposium Musculoskeletal Diseases in the Elderly - *New Strategies for the Prevention and Treatment* - October 8, 2004 Sendai, Japan

H. 知的財産権の出願・登録状況

予定していない。

#### A. 研究目的

高齢化社会に伴い腰部脊柱管狭窄の症例は増加しており、高齢者の QOL を制限する最も多い原因の一つと考えられる。しかし、いまだにその診断基準すら存在していない。同様に、椎間板ヘルニアの診断基準もない。そこで、患者の症状（単一あるいはその組み合わせ）から、どの程度実質的な疾患を予測できるかについての臨床疫学的な研究を行なった。

#### B. 研究方法

標的状態（targeted condition）を以下のように定義し、研究デザインを作成した。すなわち、明らかに手術治療が必要な疾患あるいは緊急を要し、放置しておくとは非可逆的な状態を惹起するような腰痛を標的状態とした。

1. 神経根症状を有する椎間板ヘルニア
2. 神経根症状を有する腰部脊柱管狭窄症

福島県立医大と関連病院の症例のカルテのデータを用いて、Derivation セットを作成した。

Phase 1: Derivation

(1) 上記疾患 1、2 について確定診断がついた患者（手術例）をそれぞれ約 100 名ずつカルテより同定した。

(2) それらの患者のカルテから、患者の症状と診察所見および MRI の所見をコード化したものを入力した。

(3) この二つのデータより、それぞれの症状や所見（単一あるいは組み合わせ）の感度、特異度を推定した。

(4) これにより Derivation セットを完成させた。

Phase 2:バリデーション

診断のついていない腰痛患者の症状（単一あるいはその組み合わせ）について、1 から得られた

clinical prediction rule を用いて、3 種の疾患（あるいは疾患なし）を推定した。この推定を、診察所見や MRI 所見による専門医による総合的な診断をゴールドスタンダードとして、感度・特異度を確定した。

倫理面での配慮

本研究は、福島県立医科大学医学部倫理委員会の承認を得て行った。対象者に対してプロトコルを開示し、医師がその目的や危険について説明を行い、同意を得たうえで行った。

#### C. 研究結果

1) clinical prediction rule の作成  
derivation study の結果から、以下の問診票を作成した。

足のしびれや痛みの原因の一つに腰部脊柱管狭窄（ようぶせきちゅうかんきょうさく）という病気があります。以下の 1～10 の項目は、腰部脊柱管狭窄を診断するための項目です。項目を読みながら、あなたの症状を考えてみて下さい。あなたの症状にあてはまる場合には『はい』に、あてはまらない場合には『いいえ』に○をつけて下さい。

1. 太ももからふくらはぎやすねにかけて、しびれや痛みがある
2. しびれや痛みはしばらく歩くと強くなり、休むと楽になる
3. しばらく立っているだけで太ももからふくらはぎやすねにかけてしびれたり痛くなる
4. 前かがみになると、しびれや痛みは楽になる
5. しびれはあるが痛みはない
6. しびれや痛みは足の両側にある
7. 両足の裏側にしびれがある
8. おしりのまわりにしびれがでる



9. おしりのまわりにほてりがでる

10. 歩くと尿が出そうになる

上記の問診票 1～4 の感度は各々、95.5%、92.9%、86.6%、72.3%であった。問診票 5～10 は、馬尾障害の有無をチェックするための質問である。Clinical prediction rule を以下のように設定すると、本問診票の感度は98%であった。

Clinical prediction rule

1～4 全てが「はい」であれば、腰部脊柱管狭窄である。

1～4のうち、1つ以上「はい」でなおかつ5～10のうち2つ以上「はい」であれば、腰部脊柱管狭窄である。

2) validation study

下肢症状を有する 251 例に対し、問診票を配付し、感度と特異度を算出した。感度は 84%、特異度は 78%、positive prediction value は 88%、test-retest reliability は 87 %であった。

#### D. 考察

問診票による腰部脊柱管狭窄の診断ツールの開発を行った。現時点では、診断基準がないため、診断が不明確なまま漫然と保存的治療が行われていたり、不必要な手術が行われて、failed back となっている患者が少なくない。診断基準を確立することにより、より有効な治療が行えるようになると考えられる。本研究で開発した診断ツールは、感度と特異度が比較的高く、今後、プライマリケアレベルでのスクリーニングに有用であると考えられる。

#### E. 結論

問診票による腰部脊柱管狭窄の診断ツールの開発を行った。

健康危険情報

問題なし。

#### F. 研究発表

論文発表：なし

学会発表：Konno S, Kikuchi S et al: Diagnostic tool

for lumbar spinal canal stenosis. The 6<sup>th</sup> WHO Collaborating Center International Symposium Musculoskeletal Diseases in the Elderly- *New Strategies for the Prevention and Treatment* – October 8, 2004 Sendai, Japan

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

骨粗鬆性高齢者腰椎に対する新たな力学的評価法を確立する

分担研究者 中村 耕三 東京大学医学部整形外科 教授

A. 研究目的

高齢者における腰痛の原因の一つとして骨粗鬆症による脊椎の圧迫骨折が挙げられる。脊椎の圧迫骨折が起きると腰痛による長期臥床を余儀なくされるだけでなく、円背や下肢神経症状も引き起こす事があるため、ADLを著しく低下させる。骨粗鬆症は2000年には1200万人が罹患していると推定されている。超高齢化社会になりつつあるわが国においては今後患者数が一層増加するものと考えられ、十分な対策が必要である。現在、骨粗鬆症の診断にはX線写真と骨密度測定が用いられているが、骨折のリスクに直接関係している要因は骨形態・構造、骨質、骨密度分布、および力学負荷環境である。したがって非侵襲に骨強度が測定できる必要がある。本研究は、精確に脊椎骨強度を定量的に評価する方法を確立することを目的とする。我々は、構造物の強度計算にすぐれた方法である、有限要素法に着目しQCTを用いた有限要素法による骨強度解析の開発を行い、この方法の正確性を新鮮死体標本による実証試験から評価し実用性を検討した

B. 研究方法

1) 死後24時間以内に採取した31~83歳の男性、12椎体を使用し、前述のQCT/有限要素法による力学評価法と実証実験での骨折荷重・骨折部位の比較対照を行った。

2) QCT/有限要素法による力学評価法：採取した椎体を生食につけ、骨量ファントムとともにCT装置にて1mmスライスで撮影を行った。得られたQCTデータを解析ソフトウェアに転送し、海綿骨を1辺が2mmの四面体要素で構築し、四面体要素の表面に1辺が2mm、厚さ0.4mmの三角形平板を張り付けて皮質シェルを構築した。要素位置に対応するCT値から骨密度を算出し、材料特性に変換した。シミュレーションでの要素破壊の定義は、引っ張り側では最大主応力が臨界応力を越えた時、クラックが生じるとし、圧縮側ではDrucker-Prager相当応力が降伏応力を超えた時を降伏が生じ、かつ最小主ひずみが $3000\mu\epsilon$ 以下になったら圧壊が生じるとした。1要素が降伏した時を降伏、連続する2要素が圧壊した時を骨折と判定した。解析での荷重拘束条件は、圧縮試験と同条件とした。遠位部を拘束し、近位部から均等に面圧荷重する条件を設定した。

3) 実証実験：脊椎骨を分離後、椎弓根より後方を除去して椎体部分のみとした。椎間板および軟骨板を出来る限り除去して骨性終板と皮質シェルが残るようにした。荷重面および拘束面が平行となるように、歯科用レジンで拘束した。1分間に0.5mmの速度で圧縮を行った。圧縮方向が垂直であることを確認するため水準器を設置し、1分間に0.5mmの速度で圧縮を行った。圧縮ジグにボールジョイントを挿入して、椎体の圧壊変形に

つれてジグが傾斜し接点荷重とならず面圧荷重を保つようにした。実証試験での骨折荷重値は荷重変位曲線での降伏荷重および骨折荷重とした。骨折荷重値および骨折部位について、解析と実証試験を比較対照した。

#### C. 研究結果

降伏荷重では、相関係数 0.949、回帰直線の傾き 0.8614 であった。骨折荷重では相関係数 0.987、回帰直線の傾き 1.1056 であった。

解析による骨折部位は、椎体上方の要素で、連続性がないため骨折線は表現していないが骨折線上にあった。マイクロ CT より構築した椎体中央部の矢状断および冠状断像では、明瞭に椎体上方に骨折線がみられた。また解析では、最小主ひずみ分布では椎体上方で圧縮ひずみが増大しており、骨折線部と一致していた。

#### D. 考察

有限要素法による椎体骨折の予測を実証試験で検証した先行研究は 3 件ある。弾性解析しか行われておらず、骨折の定義や骨折部位と骨折荷重を同時に検証しているものは見られなかった。

#### E. 結論

有限要素法非線形解析で、高い精度で降伏荷重および骨折荷重を予測できた。破壊要素の位置および最小主ひずみ分布で骨折部位を予測できた。有限要素法の非線形解析は椎体骨折強度・部位を予測できると考えられる。

#### F. 健康危険情報

問題なし。

#### G. 研究発表

##### 学会発表

1. 第 24 回骨形態計測学会：今井一博、大西五三男、中村耕三ほか：CT を用いた有限要素解析による脊椎椎体の骨折予測：臨床応用に向けて精度の検討、2004 年 6 月
2. 第 6 回日本骨粗鬆症学会：今井一博、大西五三男、中村耕三ほか：有限要素法非線形解析による脊椎椎体の圧縮強度予測：骨密度測定との比較、2004 年 11 月
3. 第 13 回日本コンピューター外科学会：松本卓也、大西五三男、中村耕三ほか：非線形有限要素解析は脊椎椎体骨折を予測できる、2004 年 12 月 12 日

##### 知的財産権の出願・登録状況

予定していない。

#### H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

電気生理学的手法を用いた新たな高齢者腰痛診断法の確立

分担研究者：四宮 謙一 東京医科歯科大学医学部整形外科 教授

A. 研究目的

本研究の目的は、腰痛を有する患者の腰背部表面筋電図を測定し、腰背部筋活動と腰痛の関係を明らかにし、腰痛の病態を解明すると同時に、腰痛程度や治療上の患者指導、治療の効果判定における他覚的評価法としての可能性を検討することにある。

B. 研究方法

65歳以上の腰椎疾患または腰痛を有する患者を対象とする。対象となる患者に入念な説明を行い、同意を得た上で検査をおこなった。測定の前に腰痛に関するアンケート、VAS（Visual Analogue Scale）、JOAスコア（日本整形外科学会腰痛疾患治療成績判定基準）にて自覚的評価を行う。通常の診察と同様に診察時に問診と身体所見を記録し、必要な検査（画像検査、血液検査など）を行った。筋電図測定はポータブル型筋電計を使用し、腰背筋は第1/2および第4/5腰椎棘突起間レベルで正中より両側に3cm外側の多裂筋直上に表面電極を取り付けて測定を行った。筋電図測定は立位安静時、座位安静時、歩行時、立位前後屈動作の繰り返しを行い、前屈・後屈は最大位とした。これらの動作は決められた時間内に勢いをつけず行うよう指導した。以上の測定を、腰椎固定ベルトを使用する場合としない場合の二通りで行った。

C. 研究結果

椅子に座った状態では腰痛が少なく、立位で腰痛の出現する患者では、上位腰椎、下位腰椎ともに座位での筋活動は少なく、立ち上がると筋放電が著しく増加した。平地歩行での筋活動パターンでは、腰痛のない対照群では二重支配期となる立脚期初期と後期に活動のピークが見られ、左右交互のパターンを示したが、腰痛群では立脚期中期

と遊脚期にも筋活動が盛んに起こり、左右交互の筋活動パターンは消失する傾向にあった。また、平地歩行では腰痛のため日常杖を使用している患者では杖を使用することにより腰背部筋活動量の減少を認めた。同様に立位で腰痛がある場合でも、前方に手をつき楽な姿勢をとることで腰背部筋活動は減少した。しかし、腰椎後弯症にて後屈で腰痛の増強する患者でも後屈時に筋活動が低下するいわゆる flexion relaxation 現象が認められる場合や、腰部固定帯にて立位での自覚的腰痛が軽減し、立位持続可能時間も延長するにもかかわらず筋電図上では明らかな変化を認めない場合も認めた。

D. 考察

表面筋電図は筋活動を反映しており、腰背部筋電図は腰背筋負荷を表しているといえる。今回の結果から、生理的に筋肉負荷を必要とする動作で筋活動量が増加する場合と異なり、腰痛患者においては腰痛の強くなる姿勢を制限するため、筋活動が増加することがわかった。また反対に腰痛の軽減する姿勢で筋活動は軽減する傾向にあり、腰痛と腰背部筋活動量の相関関係が明らかとなった。しかし、腰痛の程度と筋活動量が相関しない場合もあった。つまり、後弯変形など的高齢者腰痛症例では、躯幹をコルセットなどの支持により負荷した場合には腰痛は減少するが姿勢を維持するための筋活動は減少しないことも明らかとなった。このように腰痛症例では基本的には痛みを避けるために筋活動が増加するが、後弯などによる筋への過剰負荷による疲労性の腰痛の原因を検討する必要がある。そこで、来年度の研究課題としては、高齢者における姿勢の変化を考慮に入れて腰痛と筋電図変化との関係を考察することが必要であると考え。即ち腰椎の可動性や歩行中の姿勢変化が筋電図に及ぼす影響を考慮することで腰

痛と筋電図の関係を追求することが出来ると考え  
る。(高齢者の姿勢が原因での腰痛症例に対して  
は、術前術後あるいはトレーニング前後の  
VAS, SF36 などの自覚症評価、IC の距離などの客  
観的な評価が科学的には必要だと思われる。)

#### E. 結論

腰痛を有する患者では異常筋電図が見られるこ  
とが多いが、腰痛と筋電図異常は必ずしも相関せ  
ず、姿勢の変化などの因子を考慮に入れて検討す  
る必要があると考えられた。

#### 健康危険情報

問題なし。

#### F. 研究発表

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

予定していない。

椎間板変性機序解明に関する生化学的・分子生物学的研究

分担研究者 千葉 一裕 慶應義塾大学整形外科・助教授

研究要旨 腰・下肢痛の原因となる椎間板変性の機序解明を目的として培養椎間板細胞による細胞外基質代謝の生化学的に、また、基質代謝に影響を及ぼすと思われる基質タンパク分解酵素やその阻害因子の遺伝子発現や、各種液性因子による発現への影響につき分子生物学的に解析した。髄核細胞は線維輪細胞に比し細胞周囲基質分画に基質分子集積量が乏しく、加齢によりその集積量はさらに低下した。一方、TGF-1 $\beta$  や TIMP-3 などの増殖因子ならびに基質分解酵素阻害因子は線維輪に比し髄核でより高度に発現しており、その発現は加齢とともに急速に減少した。以上の結果から、髄核は増殖因子や基質分解酵素阻害因子を発現することで椎間板の恒常性を保っている可能性があること、加齢によるこれら因子発現の減少が髄核細胞の細胞周囲基質における基質集積に影響を及ぼしており、それが椎間板変性の発端となる可能性があることが示唆された。

A. 研究目的

急速な高齢化社会の到来により、腰痛、下肢痛を訴える患者は増加の一途をたどっている。しかし、腰・下肢痛発現の重要な一因とされる椎間板変性の機序は未だに解明されていない。本研究の目的は細胞の形質発現を維持可能な浮遊培養法 (suspension culture) を用いて椎間板細胞を培養し、その基質代謝ならびに代謝に影響を及ぼす種々の因子につき詳細な生化学的解析を行い椎間板変性の機序解明に寄与する知見を得ることである。

また、椎間板細胞の基質代謝にはさまざまな基質分解酵素やサイトカイン、増殖因子などが複雑に関与していると考えられていることから、本研究では椎間板における基質分解酵素と活性阻害因子の遺伝子ならびにタンパクの発現や、その発現に対するサイトカイン、増殖因子の影響を分子生物学的解析し、その椎間板変性における役割と意

義の解明もあわせて行なう。

B. 研究方法

1) 細胞の分離並びに培養法：日本白色家兎から無菌的に採取した髄核ならびに線維輪を 0.4% プロナーゼおよび 0.025% コラゲナーゼにより消化、細胞を分離し、1.2% アルジネートに  $2 \times 10^6$ /ml の密度で浮遊させた。この細胞浮遊液を注射器に装着した 22 ゲージ針より 102mM 塩化カルシウム溶液内へ滴下し、カルシウム架橋形成により硬化した半固形の球状ビーズを作成した。この細胞を包含したアルジネートビーズを 10% 牛胎児血清添加 DMEM/F-12 培養液内で 37°C、5% O<sub>2</sub> の条件で培養を行った。

2) 細胞外基質の分画化：経時的に一定数のビーズを回収し、カルシウムキレート剤を含む緩衝液でビーズを溶解したのち遠心分離 (1000 回転 x10

分)により細胞外基質を傍細胞ならびに細胞周囲基質の両者に相当する cell-associated matrix (CM) と細胞間領域基質に相当する further removed matrix (FRM)の2分画に分離した。

3) 細胞外基質成分の定量: 培養後1、2、3、4週と経時的にビーズを回収し、カルシウムキレート剤 (EDTA, クエン酸ナトリウム) を含む緩衝液でゲルを溶解したのち、回収した基質分画あるいは髄核、線維輪組織を蛋白分解酵素パバインにより消化、可溶化した上で、総プロテオグリカン量を dimethyl- methylene blue(DMB)色素法、ケラタン硫酸およびヒアルロン酸量を enzyme-linked immnosorbent assay (ELISA)、またコラーゲン量の指標としてヒドロキシプロリン量を、さらにコラーゲン分子内架橋の指標としてピリジノリン量を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)によりそれぞれ定量した。各時点での DNA 量を Hoechst33258 色素を用いた蛍光法により測定し、各測定値を標準化した。

4) 椎間板基質合成能の定量: 培養ビーズあるいは椎間板を  $^{35}\text{S}$  硫酸含む培養液中にて一定時間標識した後、上述のごとく細胞あるいは組織を分離、可溶化し、 $^{35}\text{S}$  標識されたグリコサミノグリカンを実シアンブルー色素を用いた急速濾過法で定量し、プロテオグリカン合成能を測定した。同様に  $^3\text{H}$  プロリンにて標識した後、組織を 6N 塩酸でアミノ酸レベルまで加水分解し、 $^3\text{H}$ -ヒドロキシプロリンを HPLC により定量し、コラーゲン合成能を測定する。

5) プロテオグリカンの性状とコラーゲンサブタイプの分析: 4 M 塩酸グアニジンによりプロテオグリカンを抽出、G-50 カラム、DEAE イオン交換クロマトグラフィーで精製後、Sephrose CL2B カ

ラムにてゲル濾過により、新生プロテオグリカンの分子量を含めた性状解析を行う。組織中のコラーゲンを塩析し、ペプシン消化後、ポリアクリルアミドゲル電気泳動によりサブタイプを決定する。

6) mRNA 発現の分子生物学的解析: (1) 4 週令および 160 週令の日本白色家兎椎間板における TIMP-3 の免疫染色、(2) 半定量的 RT-PCR を用いて、4 週令および 160 週令の家兎椎間板脊索性髄核における TGF- $\beta$ 1 および TIMP-3 の mRNA 発現、(3)TGF- $\beta$ 1 および IL-1 を各濃度 (0, 0.1, 1, 10ng/ml) 存在下に髄核を 24 時間器官培養した後の TIMP-3 mRNA の発現、(4)TIMP-3 各濃度 (0, 0.5, 5, 50nM) 存在下に髄核を 24 時間器官培養した後の type II collagen および Aggrecan mRNA の発現について検討を行なった

### C. 研究結果

日本白色家兎椎間板より分離した、髄核ならびに線維輪細胞はアルジネートゲル内で、3次元形態をよく保ち、活発に細胞外基質産生を行った。また髄核、線維輪細胞ともに細胞に近接した細胞周囲領域基質ならびに細胞より離れた位置に存する領域間基質の2つの異なる分画からなる細胞外基質を形成することが確認された。細胞周囲領域基質には DNA あたりより高濃度のプロテオグリカンならびにコラーゲンが集積した。特に線維輪細胞の細胞周囲基質においてコラーゲンの分子間架橋を形成するピリディノリンおよびデオキシピリディノリンが高濃度集積した。また髄核細胞は主に2型コラーゲンを、線維輪細胞は1型と2型の両者を産生、細胞周囲に集積した。以上より、アルジネートゲル内に懸架された椎間板細胞はその遺伝形質発現を極めて良好に保持することが確

認められた。また、プロテオグリカン、コラーゲン共に髄核細胞に比し線維輪細胞で合成が盛んであり、プロテオグリカンは主に細胞周囲に、逆にコラーゲンは主に領域間分画に集積する事が判明した。髄核と線維輪細胞では合成直後の新生プロテオグリカンの基質分画間の移動速度が著しく異なり、前者では細胞周囲から領域間分画へ急速に移動したが、後者では細胞周囲に比較的長く保持された。一方でプロテオグリカンの半減期はいずれの細胞でも細胞周囲で著しく短かく(12-14日)、細胞間領域では著しく長かった(80日以上)。コラーゲンは髄核、線維輪細胞いずれにおいても早期に細胞周囲から領域間分画に移行し、さらに急速に培養液中へと放出された。一方で細胞周囲に残存したコラーゲンは定常状態となり著しく長い半減期を有していた。IL-1はプロテオグリカンの分解を早め、基質代謝回転を負に傾け、また逆にBMP-7は椎間板細胞による基質合成能を高め、基質代謝回転率を正に傾けることが判明した。これら生理活性物質の影響は細胞膜に近接して存在する細胞周囲基質においてより顕著であった。

一方、分子生物学的解析実験の結果を要約すると、(1) TIMP-3の免疫染色では4週令の髄核と線維輪の両方に陽性細胞を認めたが160週令では認めなかった。(2) 160週令の髄核では4週令と比較し、TGF- $\beta$ 1およびTIMP-3のmRNAの発現が統計学的に有意に低下していた。(3) TGF- $\beta$ 1は濃度依存性にTIMP-3 mRNAの発現を増加したがIL-1は明らかな影響を与えなかった。(4) TIMP-3(50nM)はtype II collagenおよびAggrecanのmRNAの発現を統計学的に有意に増加させることが判明した。

#### D. 考察

髄核細胞で細胞周囲よりプロテオグリカンが早期に失われることは椎間板変性が髄核部より始まることの一因とも考えられた。また、加齢によってもIL-1による細胞周囲分画を主とした基質分解亢進と類似した変化がみられることより、IL-1を含めた何らかのサイトカインが椎間板の加齢現象ひいては変性に関連している可能性が示唆された。また、遺伝子発現の解析結果より、加齢に伴いTGF- $\beta$ 1とTIMP-3の発現は共に低下しており、さらにin vitroでTIMP-3の発現はTGF- $\beta$ 1で濃度依存性にupregulateされることから、in vivoでの加齢性変化における脊索性髄核のTIMP-3の発現低下の一因としてTGF- $\beta$ 1の低下が考えられた。TIMP-3は他のTIMPと性質が異なり細胞外基質への結合親和性が高いこと、またADAMTS4,5やADAM17のinhibitorであることが報告されている。また、TIMP-3は基質分解の抑制のみならず合成維持にも影響し、脊索性髄核でのこれらの因子の発現低下が椎間板変性の引きがねとなる可能性が示唆された。

#### 参考文献

- 1) Buckwalter JA. Spine Update. Aging and degeneration of the human intervertebral disc. Spine 1995;20:1307-14.
- 2) Amour A, Slocombe PM, Webster A, et al. TNF-alpha converting enzyme (TACE) is inhibited by TIMP-3. FEBS Lett. 1998;435:39-44.
- 3) Cats-Baril WL, Frymoyer JW. Identifying patients at risk of becoming disabled because of low-back pain. The Vermont Rehabilitation Engineering Center predictive model. Spine 1991;16:605-7.



- 4) Chandrasekhar S, Esterman MA, Hoffman HA. Microdetermination of proteoglycans and glycosaminoglycans in the presence of guanidine hydrochloride. *Anal Biochem* 1987;161:103-8.
- 5) Chelberg MK, Banks GM, Geiger DF,
- 6) Chiba K., Andersson G.B.J., Masuda K. and Thonar E.J.-M.A. : Metabolism of the extracellular matrix formed by intervertebral disc cells cultured in alginate. *Spine* 1997; 22: 2885-2893.
- 7) Chiba K., Andersson G.B.J., Masuda K., Momohara S., Williams J.M., Thonar E.J.-M.A: A comparison of the effectiveness of intervertebral disc tissues and cells exposed to chondroitinase ABC and chymopapain to reform a matrix. *Orthop. Trans.* 22: 150, 1997.
- 8) Chiba K., Andersson G.B.J., Masuda K., Otten L., Pietryla D., Wang L., Momohara S., Thonar E.J.-M.A. : Age-related changes in the metabolism of cells from the nucleus pulposus and annulus fibrosus of adolescent and skeletally mature rabbits. *Orthop. Trans.* 20: 792-793, 1996.
- 9) 千葉一裕 : 各種科学物質が椎間板およびその周囲組織に及ぼす影響に関する実験的研究 : *日整会誌* 67: 1055-1069, 1993.
- 10) Eyre DR. Biochemistry of the intervertebral disc. *Int Rev Connect Tissue Res* 1979;8:227-91.
- 11) Gomez DE, Alonso DF, Yoshiji H, et al. Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions. *Eur J Cell Biol.* 1997;74:111-22.
- 12) Häuselmann HJ, Aydelotte MB, Schumacher BL, Kuettner KE, Gitelis SH, Thonar EJ. Synthesis and turnover of proteoglycans by human and bovine adult articular chondrocytes cultured in alginate beads. *Matrix* 1992;12:116-29.
- 13) Humzah MD, Soames RW. Human intervertebral disc: structure and function. *Anat Rec* 1988;220:337-56.
- 14) Johnstone B, Bayliss MT. The large proteoglycans of the human intervertebral disc. Changes in their biosynthesis and structure with age, topography, and pathology. *Spine* 1995;20:674-84.
- 15) Maldonado BA, Oegema TJ. Initial characterization of the metabolism of intervertebral disc cells encapsulated in microspheres. *J Orthop Res* 1992;10:677-90.
- 16) Masuda K, Shirota H, Thonar EJ. Quantification of <sup>35</sup>S-labeled proteoglycans complexed to alcian blue by rapid filtration in multiwell plates. *Anal Biochem* 1994;217:167-75.
- 17) McDevitt CA. Proteoglycans of the intervertebral disc. In: P Ghosh, ed. *The Biology of the intervertebral disc*. Boca Raton, FL: CRC Press Inc., 1988:151-70.
- 18) Mok SS, Masuda K, Hauselmann HJ, Aydelotte MB, Thonar EJ. Aggrecan synthesized by mature bovine chondrocytes suspended in alginate. Identification of two distinct metabolic matrix pools. *J Biol Chem* 1994;269:33021-7.
- 19) Pearce RH, Grimmer BJ, Adams ME. Degeneration and the chemical composition of the human lumbar intervertebral disc. *J Orthop Res* 1987;5:198-205.
- 20) Su S, DiBattista JA, Sun Y, et al. Up-regulation of tissue inhibitor of metalloproteinases-3 gene expression by TGF-beta in articular chondrocytes

is mediated by serine/threonine and tyrosine kinases. J Cell Biochem. 1998;70:517-27.

- 21) Thompson JP, Oegema TJ, Bradford DS. Stimulation of mature canine intervertebral disc by growth factors. Spine 1991;16:253-60.
- 22) Thonar EJ, Schnitzer TJ, Kuettner KE. Quantification of keratan sulfate in blood as a marker of cartilage catabolism. J Rheumatol 1987;Suppl 14:23-4.
- 23) Vernon-Roberts B. Disc pathology and disease states. In: P Ghosh, ed. The Biology of the Intervertebral Disc. Boca Raton: CRC Press Inc., 1988:73-120.

#### E. 結論

髄核は増殖因子や基質分解酵素阻害因子を発現することで椎間板の恒常性を保っている可能性があること、加齢によるこれら因子発現の減少が髄核細胞の細胞周囲基質における基質集積に影響を及ぼしており、それが椎間板変性の発端となる可能性がある

#### F. 健康危険情報

該当せず

#### G. 研究発表

1. 辻崇、千葉一裕、他：家兎椎間板の TIMP-3 発現における加齢性変化 第 17 回日本軟骨代謝学会（2004.3.12-13、東京）
2. 辻崇、千葉一裕、他：家兎椎間板の TIMP-3 発現における加齢性変化 第 19 回日本整形外科学会基礎学術集会（2004.10.21-22、東京）
3. Tsuji, T, Chiba K, et al: Tissue inhibitor of

metalloproteinase-3 maintain the intervertebral disc homeostasis The 44th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (2005.2.19-23, Washington DC)

#### H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

#### A. 研究目的

高齢者の腰痛の原因は多彩であるが、その半数以上が椎間板変性の進行によって引き起こされる。通常に加齢変化の速度以上にその変性が進行した場合には腰痛、下肢痛などの愁訴をとまなう疾患となる可能性が高い。椎間板変性は非可逆的な過程とされるが、その変性過程を時間的に遅延させる、あるいは再生方向へシフトさせる可能性について検討することは重要である。

各種椎間板変性疾患の手術時における椎間板母髄核部温存型の手技より、画像上、臨床上に良好な結果が得られてきている。この事実を基礎動物実験に応用した結果、髄核細胞が線維輪細胞を活性化させること、また活性化させた髄核細胞の変性椎間板内への再挿入によって、椎間板変性が明らかに遅延することが判明した。しかし今後の臨床応用を考える際には再挿入する髄核細胞を質、量ともに高める必要がある。本研究では骨髄間葉系幹細胞に注目し、髄核細胞の活性化への影響、さらに髄核組織そのものの導出の可能性を検討する。

#### B. 研究方法

実験1 骨髄間葉系幹細胞による髄核細胞の活性化ならびに椎間板変性抑制について：日本白色家兎を用いて骨髄間葉系幹細胞による髄核細胞の活性化を3つの培養系で比較検討した。髄核細胞( $1 \times 10^4$ 個)の monoculture (N群)、同数の骨髄間葉系幹細胞との通常の coculture (M群)、細胞間接着を伴う両細胞の coculture (CI群)の3群にわけ培養後の状態を検討する。M群、CI群で得られた活性化髄核細胞を同一団体に作成した変性椎間板内に再挿入し、その後の変性過程の変化を観察する。

実験2 骨髄間葉系幹細胞からの椎間板組織の

導出について：日本白色家兎の骨髄間葉系幹細胞と髄核細胞(共に  $1 \times 10^4$  個)を monoculture し、髄核細胞と細胞間接着を伴う coculture した骨髄間葉系幹細胞の細胞特性を各種染色性で比較検討する。また骨髄間葉系幹細胞を変性椎間板内に再挿入した際の細胞の様態を検討する。

#### C. 研究結果

結果1：in vitro の培養の結果 CI 群では N 群に比べ細胞数は約 10 倍に、単位細胞あたりの DNA 活性は約 20 倍に、プロテオグリカンの活性は約 15 倍に増大した。変性椎間板への活性化髄核の再挿入では CI 群、M 群の順に椎間板変性過程の抑制がみられ、細胞間接着を用いた coculture によって活性化された髄核細胞が変性椎間板のその後の変性進行を効果的に抑制することが明らかとなった。

結果2：髄核細胞と細胞間接着を伴う coculture を行った骨髄間葉系幹細胞の染色性は I 型 collagen に+-、II 型 collagen に2+, ケラタン硫酸プロテオグリカンに2+, アグレカンに+となり、骨髄間葉系幹細胞が元々有する染色性上の特性から髄核細胞の特性に明らかに変化することが示された。また、変性椎間板内に挿入された骨髄間葉系幹細胞は8週時には髄核腔中央部に存在し、48週では線維輪内層に向け明らかに増殖していた。さらにその細胞染色性も in vitro で示したと同様に髄核細胞様の変化を示していた。

#### D. 考察

骨髄間葉系幹細胞との細胞間接着を伴う coculture で活性化された髄核細胞は、再挿入された変性椎間板内でその後の椎間板変性進行を明らかに抑制していた。自らの髄核細胞を体外で活性化して変性椎間板内に戻すこの手法は、人への

臨床応用の可能性が極めて高い方法と考えられ、現在その実施に向けてのプロジェクトが、本学倫理委員会の承認を得て進行中である。

また、骨髄間葉系幹細胞の変性椎間板内での椎間板様組織への可塑性の事実は、活性化髄核の再挿入法と同様に人椎間板変性抑制の一法として応用される可能性があると考えられた。

#### E. 結論

椎間板変性進行は高齢者の腰痛の原因のひとつであり、かつ大きな割合を占める。この変性抑制のために椎間板細胞再生的なアプローチが極めて有効であると考えられる。

#### 健康危険情報

問題なし。

#### F. 研究発表

1. Yamamoto Y, Mochida J, Sakai D, et al.  
Upregulation of the viability of nucleus pulposus cells by bone marrow-derived stromal cells: significance of direct cell-to-cell contact in coculture system. Spine 2004; 14: 1508-1514

2. Sakai D, Mochida J, Yamamoto Y, et al.  
Transplantation of mesenchymal stem cells embedded in Atelocollagen gel to the intervertebral disc: a potential therapeutic model for disc degeneration. Biomaterials 2003; 24: 3531-41

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

Patent Cooperation Treaty(米国、カナダ、日本)出願中 (2003年2月25日出願)