

Fig.6 In vivo 実験 2. 組織学的評価:2-B. Neu-N / caspase-3-active2重免疫組織化学染色 (受傷後24時間) A,B,C: Control 群、D,E,F: G-CSF 群、A,D: Neu-N 染色、B,E: caspase-3-active 染色、C: A,B の merge 像、F: D,E の merge 像、G-CSF 群では2重染色陽性細胞が Control 群に比べて少ない。矢頭は各陽性細胞を示す。(bar = 50 μ m)

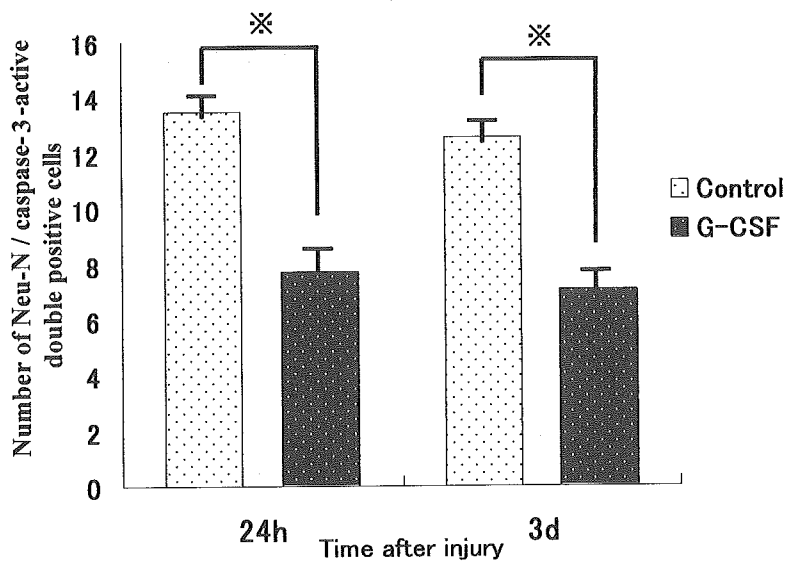


Fig.7 In vivo 実験 2. 組織学的評価:2-B. Neu-N / caspase-3-active2重陽性細胞数

受傷後24時間、3日のどちらのタイムコースにおいてもG-CSF群で二重陽性細胞の数は有意に減少している。(※:p<0.05, Bars: ±S. E.)

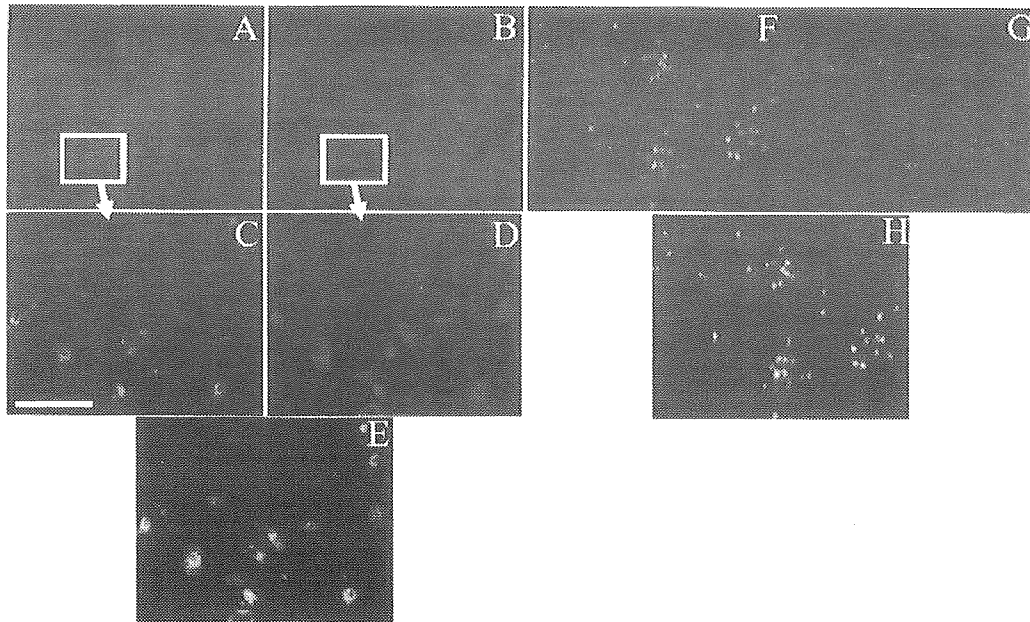


Fig.8 G-CSF 受容体 (G-CSFR)の存在 1.免疫組織化学染色

A, B, C, D, E: 正常マウス脊髄横断切片の免疫組織化学染色、F,G,H: 培養 CGN の免疫組織化学染色、A,B: ×40倍、C,D,E,F,G,H: ×400倍、A,C,F: Neu-N 染色、B,D,G: caspase-3-active 染色、E: C,D の merge 像、H: F,G の merge 像、正常脊髄、培養CGNともに Neu-N / G-CSFR 2重染色陽性細胞が存在。

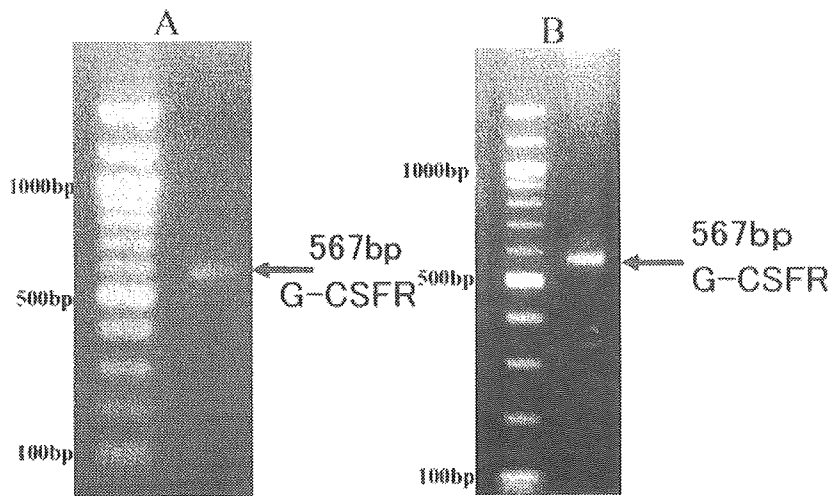


Fig.9 G-CSF 受容体 (G-CSFR)の存在 2. RT-PCR

A: 正常脊髄の RT-PCR、567bpにバンドが存在、G-CSFR mRNA と考えられる。B: 培養CGNの RT-PCR、567bpにバンドが存在、G-CSFR mRNA と考えられる。

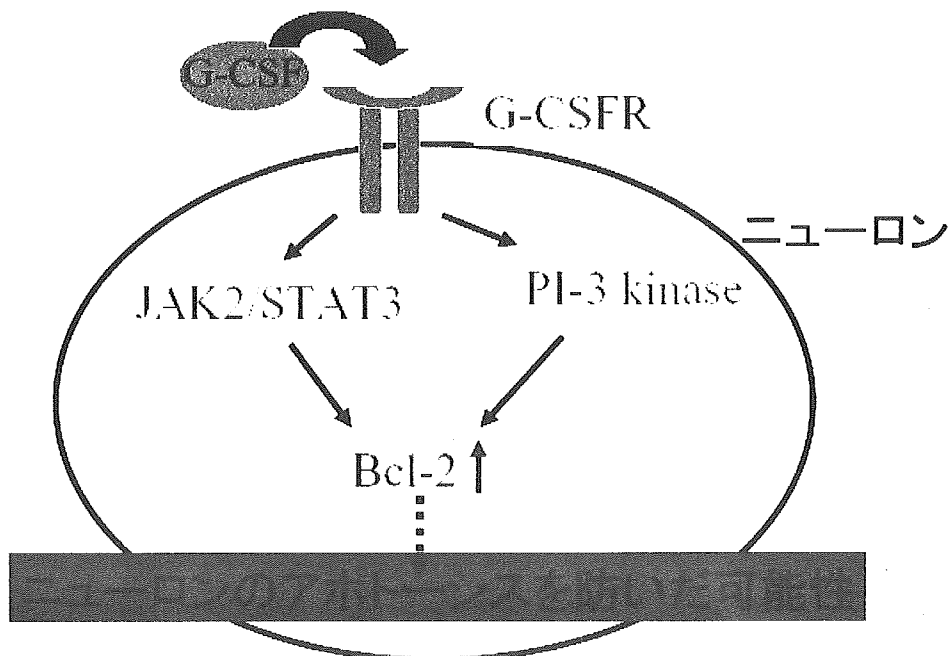


Fig.10 脊髄損傷におけるG-CSFの作用機序

頸髄損傷モデルに対する神経栄養因子発現アデノウィルスベクターを用いた 遺伝子逆行性導入

福井大学医学部 整形外科

中嶋 秀明、内田 研造、犬飼 智雄、彌山 峰史、佐藤 竜一郎、馬場 久敏

研究要旨 脊髄や motoneurons の機能を維持させるために、神経栄養因子を用いることは合理的なことであると考えられるが、より重要な点は、いかに効率的で安全に損傷脊髄内に神経栄養因子を導入するかという点であると考えられる。我々は、成頸髄損傷モデルを用い、頸髄に分布する副神経脊髄核の target organ である胸骨乳突筋から逆行性に adenovirus vector を用いて β -galactosidase (LacZ) gene が頸髄に導入可能であることを確認した後、神経栄養因子のひとつである BDNF 遺伝子を導入し、圧迫後残存ニューロンに対する生存維持、再生能力の賦活化効果について検討を行った。免疫染色、immunoblot analysis において、外因性に導入された BDNF は注入後 1-2 週をピークに頸髄前角細胞に発現し、少なくとも注入後 4 週まで発現が認められた。AdV-BDNF 注入ラットでは、AdV-LacZ 注入ラットに比べ、Nissl 染色陽性細胞数、ChAT および AchE 活性の減少が脊髄損傷後 2 週以降で抑制されていた。また、各染色陽性細胞は、特に損傷近傍部で活性が著明であった。adenovirus vector を用いた逆行性神経栄養因子遺伝子導入は、損傷脊髄に非侵襲的、選択的、効率的で、かつ長期間の神経栄養因子の神経保護効果が期待され、圧迫後残存 neuron に対する生存維持、再生能力の賦活化に寄与する可能性が示唆された。

A, 研究目的

神経栄養因子のひとつである brain-derived neurotrophic factor (BDNF) は、外傷後の神経細胞の生存と再生に寄与していることがよく知られており、前角細胞の細胞活性に関与しているとされている。損傷脊髄内において神経栄養因子の発現が低いことは、脊髄再生を困難にしている微小環境のひとつと考えられ、このことから、損傷脊髄に対する神経栄養因子補充療法は有効であると考えられている。しかしながら、その投与方法については様々な問題点が指摘されており、損傷脊髄内に遺伝子導入を行う direct in-vivo gene therapy では、その導入効率が高いものの、損傷範囲をさらに拡大させ、炎症反応や necrosis を助長させてしまうことが危惧される。そこ

で我々は、損傷脊髄に非侵襲的な方法として adenovirus vector を用いて神経栄養因子遺伝子を筋肉内に注入することで、逆行性に脊髄前角細胞内に神経栄養因子遺伝子を導入することを企図した (targeted retrograde gene delivery)。頸髄損傷モデルを用い、頸髄に分布する副神経脊髄核の target organ である胸骨乳突筋から逆行性に adenovirus vector を用いて神経栄養因子のひとつである BDNF 遺伝子を導入し、圧迫後残存ニューロンに対する生存維持、再生能力の賦活化効果について検討を行った。

B, 研究方法

β -galactosidase、mouse BDNF 遺伝子を組み込んだ非増殖型 adenovirus vector (AdV-LacZ, AdV-BDNF) を作製、精製した。ウイルス力価は 5×10^8 plaque forming units/ml に調製した。

SD rat (8-10wks, 250-300g) を用い、ネブプター麻酔下に、C3, 4 椎弓切除後、硬膜上に 35g, 5 分間の圧迫を与え頸髄圧挫モデルを作成した。損傷直後に胸骨乳突筋より AdV-BDNF 100 μ l をマイクロシリンジを用いて注入した。損傷後 AdV-LacZ 100 μ l を注入した rat を control とした。注入後 3 日、1 週、2 週、3 週、4 週にて灌流固定を行い評価した。組織学的には、頸髄全体の凍結連続切片 (横断、矢状断) にて BDNF の発現を免疫染色、LacZ の発現を X-gal 染色で調べた。頸髄を en bloc に摘出し、BDNF の発現程度を Western blotting にて評価した。また残存ニューロンの評価として、Nissl 染色、choline acetyltransferase (ChAT) による免疫染色、acetylcholine esterase (AChE) 染色での陽性細胞数 (前角の medial, ventrolateral, dorsolateral pool) の検討を行った。

C, 結果

(1) X-gal 染色

X-gal 染色陽性細胞は、上中位頸髄の前角部を中心に分布し (図 1)、AdV-LacZ 注入後 3 日目から 4 週まで、脊髄前角細胞および灰白質内の介在ニューロンで認めた。前角細胞の染色性 (β -galactosidase activity) は、導入後 1-2 週をピークに以後漸減した (図 2)。

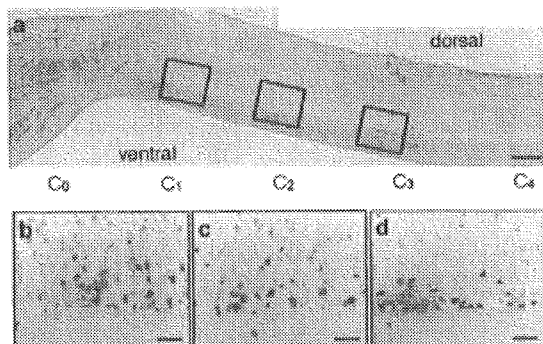


図 1 X-gal 陽性細胞の分布
(b:C1 area, c:C2 area, d:C3 area)

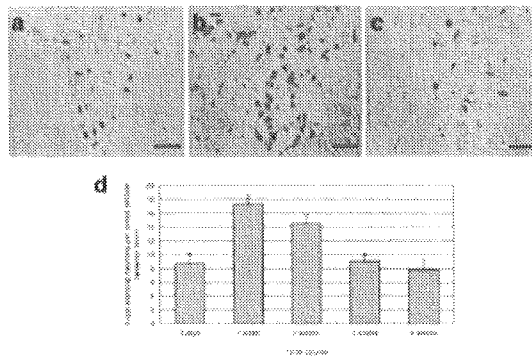


図 2 X-gal 陽性細胞数の経時的変化

(a: 3 日, b: 1 週, d: 4 週)

(2) BDNF の免疫染色、Western blotting
免疫染色の経時的評価では、AdV-LacZ 注入ラットでは全経過において抗 BDNF 抗体陽性細胞が認められなかったが、AdV-BDNF 注入ラットでは、脊髄前角部に 4 週まで抗 BDNF 抗体陽性細胞を認めた。immunoblot analysis では、15 および 30 kDa の分子量上に抗 BDNF 抗体による major band を認めた。AdV-LacZ 導入ラットでは、損傷後 3 日目でわずかに内因性 BDNF と思われる band を認めるのみであったが、AdV-BDNF 導入ラットでは、損傷後 1-2 週を peak に損傷後 4 週まで、コントロールに比べ明らかに density の強い band を認めた (図 3)。

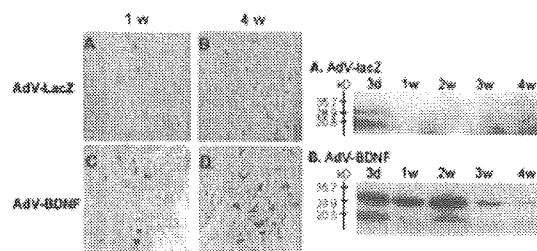
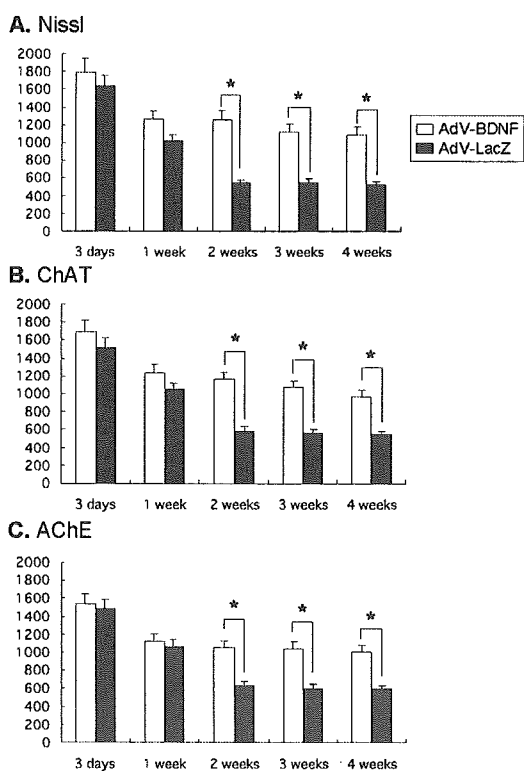
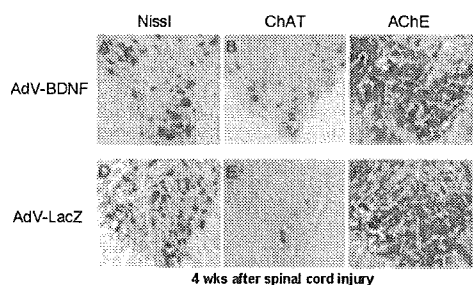


図 3 BDNF の発現程度の評価

(3) 残存ニューロンの評価

Nissl 染色では、損傷後 2 週以降で、AdV-LacZ 注入ラットに比べて、AdV-BDNF 注入ラットで有意に神経細胞数が保たれており、損傷によ

る motoneuron の減少が抑制されていた。BDNF による trophic effect は、ChAT 陽性細胞数、AChE 陽性細胞数においても確認され、AdV-LacZ 注入ラットに比べ、AdV-BDNF 注入ラットで特に注入後 2 週以降の損傷による cholinergic enzymes の活性の低下が抑制されていた (図 4)。



また、高位別の評価では、損傷部である C4 髄節レベルでは Nissl, ChAT, AChE 染色陽性細胞は著減していたものの、AdV-BDNF 導入ラットでは、損傷部を含めた近傍部では (C3-6) 頸髄頭尾側 (C1-2, 7-8) に比べ特に motoneuron が有意に保たれていた。ChAT 染色、AChE 染色

でも同様の傾向が認められた (図 5)。

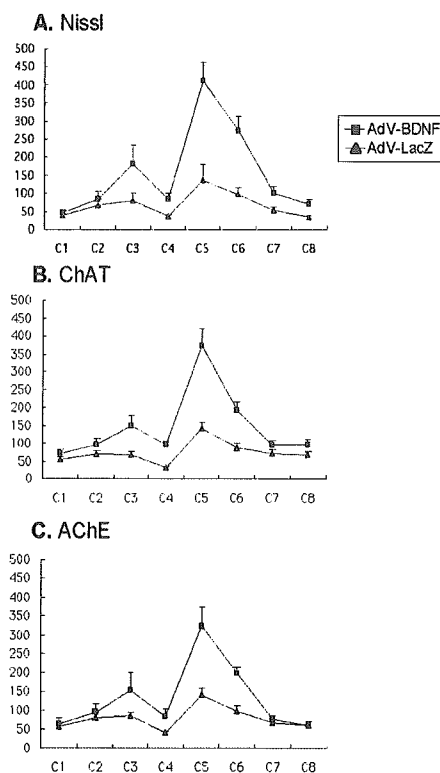


図 5 高位別残存ニューロンの評価

D, 考察

脊髄や motoneurons の機能を維持させるために、神経栄養因子を用いることは合理的なことであると考えられるが、より重要な点は、いかに効率的で安全に脊髄内に神経栄養因子を導入するかという点であると考えられる。今回の導入方法は、筋肉内から軸索流にのり、逆行性に前角細胞へ直接輸送する方法で、損傷脊髄に非侵襲的であり、免疫反応を最大限に抑制できることや apoptosis 助長効果がないことが報告されている。我々の研究では、AdV-BDNF 導入ラットにおいて、BDNF は注入後 1-2 週をピークに頸髄前角細胞に発現し、少なくとも注入後 4 週までの発現を確認した。immoblot analysis において、AdV-LacZ 注入ラットでは、注入後 3 日目まで内在性 BDNF と思われるわずかな band を認めたのみであること

を考えると、胸鎖乳突筋から外因性に注入された AdV-BDNF は、確実に頸髄に取り込まれたことが示唆される。導入経路としては、胸鎖乳突筋からの副神経を介して不可逆的な損傷を受けていない軸索から上位頸髄前角細胞に導入され、介在ニューロンなどを介しその他の部位へも導入されたものと考えられる。脊髄損傷に伴う軸索流の障害により、導入効率が低下することが危惧されるが、adenovirus が強力な retrograde tracer として働き、広範囲に細胞感染を生じさせたものと推察される。

脊髄損傷周囲での cholinergic enzymes (ChAT, AChE) の活性上昇と運動機能改善は相関があるとされている。また細胞生存の指標として、cholinergic enzymes は神経栄養因子発現以上に重要であるとも報告されている。AdV-LacZ 注入ラットでの結果から、内在性の神経栄養因子のみでは、頸髄前角細胞は生存、再生のための十分な trophic support を受けることや、十分な cholinergic enzymes の発現が望めないと考えられる。ところが AdV-BDNF 注入ラットでは、細胞死の抑制、cholinergic enzymes 活性上昇、長期間の neurotrophic support など、頸髄前角細胞に対して非常に有益な効果をもたらしていた。本研究においては、上中位頸髄前角細胞に分布する胸骨乳突筋を target organ に設定し、特に損傷部周囲での trophic 効果を期待した。胸骨乳突筋のみならず、損傷部位に応じた target organ の選択も可能であることも retrograde gene delivery の大きな利点のひとつと考えられる。

E, 結論

adenovirus vector を用いた逆行性神経栄養因子遺伝子導入は、損傷脊髄に非侵襲的、選択

的、効率的で、かつ長期間の神経栄養因子の神経保護効果が期待され、圧迫後残存 neuron に対する生存維持、再生能力の賦活化に寄与する可能性が示唆された。

G, 研究発表

・論文発表

- (1) Nakajima, H., Uchida, K., Kobayashi, S., Kokubo, Y., Yayama, T., Sato, R., Baba, H. Targeted retrograde gene delivery into the injured cervical spinal cord using recombinant adenovirus vector. *Neurosci Lett* 385:30-35, 2005

・学会発表

- (1) Nakajima, H., Uchida, K., Kobayashi, S., Kokubo, Y., Yayama, T., Sato, R., Baba, H.: Targeted retrograde transfer of recombinant adenovirus vector mediated brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the rat cervical spinal cord contusion model. 44th Annual Meeting of International Spinal Cord Society, 2005, 10, Munchen.
- (2) Nakajima, H., Uchida, K., Xu, K., Kobayashi, S., Baba, H.: Adenovirus vector mediated brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene transfection attenuates loss of anterior horn cells in the mechanically compressed spinal cord of the spinal hyperostotic mouse (twy/twy): 44th Annual Meeting of International Spinal Cord Society, 2005, 10, Munchen.

- (3) Nakajima, H., Uchida, K., Kobayashi, S., Inukai, T., Yayama, T., Sato, R., Baba, H.: Targeted Retrograde Transfection of Adenovirus Vector Carrying Brain-derived Neurotrophic Factor Gene Activates Rat Anterior Horn Neurons to Survive and Suppresses Neuronal Apoptosis Following Cervical Spinal Cord Injury. 33th Annual Meeting of Cervical Spine Research Society, 2005, 12, San Diego.
- (4) 中嶋秀明, 内田研造, 小林茂, 小久保安朗, 彌山峰史, 佐藤竜一郎, 馬場久敏: 頸髄圧迫損傷に対する BDNF 遺伝子逆行性導入によるアポトーシス抑制. 第 34 回日本脊椎脊髄病学会, 2005, 6
- (5) 中嶋秀明, 内田研造, 小林茂, 彌山峰史, 佐藤竜一郎, 馬場久敏: 損傷脊髄に対するニューロトロフィン発現アデノウイルスベクターを用いた targeted retrograde gene transport の検討. 第 6 回運動器科学研究会, 2005, 8, 静岡.
- (6) 中嶋秀明, 内田研造, 犬飼智雄, 小林茂, 小久保安朗, 彌山峰史, 佐藤竜一郎, 馬場久敏: AdV-BDNF 遺伝子逆行性導入による圧迫後頸髄前角細胞のアポトーシス抑制効果. 第 20 回日本整形外科基礎学術集会, 2005, 10, 三重.
- (7) 中嶋秀明, 内田研造, 犬飼智雄, 小林茂, 馬場久敏: 逆行性遺伝子導入における頸髄前角ニューロンの target organs. 第 20 回日本整形外科基礎学術集会, 2005, 10, 三重.
- (8) 中嶋秀明, 内田研造, 犬飼智雄, 小林茂, 馬場久敏: 頸髄損傷モデルに対する adenovirus vector を用いた BDNF 逆行性導入の検討. 第 105 回中部整形外科災害外科学会. 主題「脊髄損傷の病態と治療」. 2005, 10
- H, 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
- 参考文献
- (1) Baba, H., Maezawa, Y., Imura, S., et al. Quantitative analysis of the spinal cord motoneuron under chronic compression: an experimental observation in the mouse. J Neurol 243 :109-116, 1996
 - (2) Baba, H., Maezawa, Y., Uchida, K., et al. Three-dimensional topographic analysis of spinal accessory motoneurons under chronic mechanical compression: an experimental study in the mouse. J Neurol. 244:222-229, 1997
 - (3) Uchida, K., Baba, H., Maezawa, Y., et al. Histological investigation of spinal cord lesions in the spinal

hyperostotic mouse (twy/twy):
morphological changes in anterior
horn cells and immunoreactivity to
neurotropic factors. J Neurol.
245 :781-793, 1998

- (4) Uchida, K., Baba, H., Maezawa, Y.,
et al. Increased expression of
neurotrophins and their receptors
in the mechanically compressed
spinal cord of the spinal
hyperostotic mouse (twy/twy). Acta
Neuropathol. 106:29-36, 2003

- (5) Uchida, K., Baba, H., Maezawa, Y.,
et al. Progressive changes in
neurofilament proteins and
growth-associated protein-43
immunoreactivities at the site of
cervical spinal cord compression in
spinal hyperostotic mice. Spine
27:480-486, 2002

- (6) Xu, K., Uchida, K., Nakajima, H., et
al. Targeted Retrograde Adenovirus
Vector Carrying Brain-derived
Neurotrophic Factor Gene Transfection
Prevents Loss of Mouse (twy/twy)
Anterior Horn Neurons *in vivo*
Sustaining Mechanical Compression.
Spine in press

立体視潜望鏡付き手術顕微鏡の開発

研究者 谷 俊一（高知大学医学部整形外科）

研究要旨

胸椎の後縦靭帯骨化症に対する前方除圧術は、解剖学的に側方からのアプローチを採らざるを得ないため、頸椎のように骨化巣を直視下で安全に処理することができず、不十分な視野での微細な掘削作業を強いられる。その問題点を解決すべく、光学的手法を駆使し、手術視野拡大を目指した立体視潜望鏡付き手術顕微鏡の開発を行ったので、その概要を報告する。

谷口慎一郎（高知大学医学部整形外科助手）
牛田 享宏（高知大学医学部整形外科講師）
井上真輔（高知大学医学部整形外科助手）
永野 靖典（高知大学医学部整形外科）
池本 竜則（高知大学医学部整形外科）
牛田 明夫（徳島文理大学工学部機械電子工学科教授）

A. 研究目的

近年、頸椎の後縦靭帯骨化症に対する手術療法は、顕微鏡下前方除圧固定術や椎弓形成術などで比較的安定した成績を得ることができるようになってきたが、胸椎における OPLL に対する手術加療は、未だ手術成績が不安定であり、悪化例の報告も散見される。その原因として、胸椎 OPLL に対する後方除圧は、胸椎部が後彎であるため頸椎後方手術におけるのと同様の除圧効果が期待できないことや、胸椎 OPLL に対する前方除圧は、必然的に側方からのアプローチとなるため、頸椎 OPLL のように手術顕微鏡を用いた安全な除圧操作が困難であることなどが考えられる。そこで、本研究は、新しい光学設計により、胸椎前方除圧用の手術顕微鏡を開発するものである。

B. 研究方法

宇宙工学分野における光学測定装置に関する技術力を有する共同研究者の工学的知識に我々の医学的知識を融合させて、立体視潜望鏡付き水平変倍式手術顕微鏡の設計、製作を行う。

（倫理面への配慮）

現在は顕微鏡の試作段階であり、倫理的な問題はないと考えられる。

C. 研究結果

胸椎前方胸膜外アプローチにおいて、胸膜や大動静脈を前方に剥離して胸椎前方を展開後、除圧操作を行う段階で、胸膜と胸椎椎体の間にできるスペースに潜望鏡のごとく対物鏡を進ませ、胸椎を前方から直視しながら、しかも明るく拡大された立体的視野のもとに除圧操作が行えるように、以下の要件を満たす立体潜望鏡が必要と考えた。

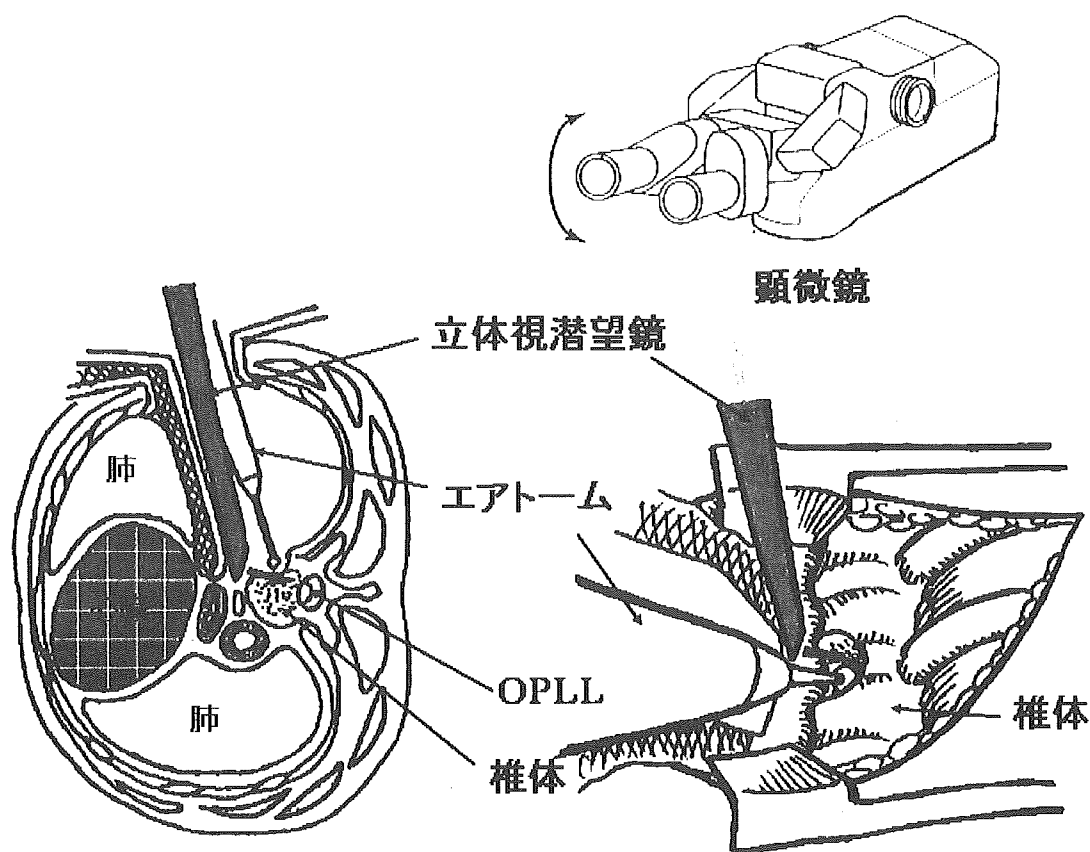


図 1

(1) 潜望鏡として高解像度の光学系で、左右上下が反転せず立体的に観察可能であること。(2) 深く進入するので滅菌が可能であること。(3) 深く進入するまでは顕微鏡の下側に収納され、使用時に繰り出すことが可能であること。(4) 術野が明るく焦点深度が大きいこと。

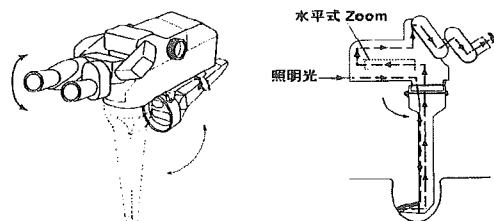
上記項目を必要条件とした上で、現実にはどのような設計が可能となるか、研究者が一堂に会して開発会議を開き、本研究がめざす立体視潜望鏡付き手術顕微鏡が満たすべき要件とその実現の可能性につき、再三にわたって意見の摺り合わせを行ってきた。

その結果、以下のような構想で合意して

いる。

(1) 立体視潜望鏡は術野に深く進入するまでは顕微鏡の下側に収納され、使用時に繰り出すことが可能であり、しかも滅菌できるように脱着可能に設計する(左下図)。

(2) 高解像度の光学系で、左右上下が反転せず立体的に観察可能であり、しかも術野が明るく焦点深度が大きくなるよう設計する。そして、変倍光学系を縦型から水平式にする必要がある(下図)。



現在、実現に向けて試験機を製作中である。

D. 考察

胸椎 OPLL に対する手術成績の向上は急務であり、昨年4月に開かれたOPLL研究班事業の「胸椎 OPLL の手術療法検討会」において、限局性の胸椎 OPLL には前方除圧が望ましいと考えられるものの安全な前方除圧操作が必ずしも容易でないことが指摘された。その理由のひとつに、胸椎前方アプローチは頸椎の場合と異なり、心臓や肺の存在のために側臥位で行わねばならず、術者は胸椎椎体やその後方にある OPLL を正面から直視できず、従って安全な除圧操作に不可欠な手術顕微鏡を用いることが困難なことがあげられる（文献1、2）。

我々は頸椎 OPLL において、たとえ占拠率が高く硬膜骨化を合併していても、顕微鏡視下に行えば脊髄合併症を生じることなく安全に前方除圧が行えることを明らかにしてきた（文献2、3）。その際、脊髄誘発電位による障害部位診断や脊髄モニターが的確で安全な手術に有用であることを明らかにした（文献4-12）。

これらの経験をもとに私たちは、胸椎を前方から直視できる顕微鏡を開発すれば、胸椎 OPLL の手術成績は格段に向上すると考えるに至った。立体視潜望鏡付き水平変倍式手術顕微鏡が完成すれば、胸椎 OPLL はもちろんのこと、胸椎椎間板ヘルニアや胸腰椎破裂骨折などによる脊髄圧迫に対して前方除圧が安全に行え、手術成績が格段に向上することが期待される。さらに本顕微鏡は、脊椎脊髄手術においてブラインドとなる部位を明るく拡大された立体的視野と

して直視しながら操作ができることから、これまで危険とされてきた後方アプローチによる脊髄前方除圧を安全に行えるなど、脊椎脊髄外科に変革をもたらす可能性も期待される。

立体視潜望鏡付き水平変倍式手術顕微鏡は世界的にまだ例がない。内視鏡は立体視ができない欠点がある。潜望鏡で立体視をめざしたものは側視型延長鏡筒の名称（特願 2004-1842）で出願されているが、世界で使用されている事例は未だ存在しない。また、従来の手術顕微鏡では変倍光学系（ズーム）が縦型であるため、広いワーキングディスタンス（作動距離）が確保できなかったが、今回開発する顕微鏡は変倍光学系を水平式にするため、従来と比較して約100mmのスペースを顕微鏡の下側に確保することが可能となり、広いワーキングスペースを持ちながら、立体視が可能な潜望鏡を搭載した世界初の手術顕微鏡となる。

E. 結論

胸椎前方除圧術を安全かつ確実に行うべく、胸椎を前方から直視しつつ明るく拡大された立体的視野が得るための立体潜望鏡付き顕微鏡の開発を行った。

G. 研究発表

1. 牛田享宏、北岡謙一、武政龍一、谷口慎一郎、谷俊一：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例。脊柱靭帯骨化症に関する調査研究—平成15年度総括研究報告書、166、2004

2. 谷 俊一、牛田享宏、石田健司、居相浩之、野口政隆、山本博司：高度の後縦靱帯骨化症に対する手術療法の安全性に関する臨床的研究。脊柱靱帯骨化症に関する調査研究－平成 14 年度総括研究報告書、124-127、2003
3. Tani T, Ushida T, Ishida K, Iai H, Noguchi T, Yamamoto H: Relative safety of anterior microsurgical decompression versus laminoplasty for cervical myelopathy with a massive ossified posterior longitudinal ligament. *Spine* 27: 2491-2498, 2003.
4. Ishida K, Tani T, Ushida T, Zinchuk VS, Yamamoto H: Recovery of spinal cord conduction after surgical decompression for cervical spondylotic myelopathy: serial somatosensory evoked potential studies. *Am J Phys Med Rehabil* 82, 130-136, 2003.
5. Tani T, Ushida T, Taniguchi S, Kimura J: Age related shift in the primary sites of involvement in cervical spondylotic myelopathy from lower to upper levels. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 73: 316-318, 2002.
6. Tani T, Kishimoto H, Tuboya E, Kimura J: Electrophysiologic assessment of shoulder girdle weakness in patients with cervical spondylosis: prognostic value of supraclavicular stimulation. *J Clin Neuromus Dis* 4: 11-18, 2002
7. Tani T, Ushida T: Spinal cord evoked potentials near the site of conduction block and a model simulation using solid angle approximation. In Mano Y, Okada M (eds): *Electrophysiology and Kinesiology*. Monduzzi Editore, Bologna, pp89-93, 2000.
8. 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*, 82-B: 269-274, 2000.
9. Ushida A, Yamagami Y, Nishio Y, Kinouchi I and Inoue Y: An Efficient Algorithm for Finding Multiple DC Solutions Based on SPICE-Oriented Newton Homotopy Method, *IEEE Computer Aided Design*, Vol. 21, 2002.
10. .Sumitomo K and Ushida A: A Design Method for Cellular Neural Network Templates Using Fuzzy Inference and a Modified Least Squares Method, *Journal of Signal Processing*, Vol. 5, No. 2, pp. 161-170, 2001.
11. Tani T, Ushida T: Spinal cord evoked potentials near the site of conduction block and a model simulation using solid angle

approximation. In Mano Y, Okada M (eds): Electrophysiology and Kinesiology. Monduzzi Editore, Bologna, pp89-93, 2000.

12. 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*, 82-B: 269-274, 2000.

頰椎後縦靱帯骨化症 (OPLL) における頰椎椎弓形成術後の骨化巣の変化に関する研究

第 2 報 骨化巣の幅の増大についての検討

How is the progression of the ossification in OPLL after cervical laminoplasty?

Part II : Increase of the ossification area in axial width

研究者 川口善治、堀 岳史、木村友厚 富山大学医学部整形外科学

研究要旨

頰椎後縦靱帯骨化症 (OPLL) に対し頰椎椎弓形成術を施行し、5 年以上経過した症例 55 例を対象として OPLL の骨化幅の増大の特徴を検討した。計測には OPLL 骨化巣画像計測ソフトウェア作図ツール version2J (アレイ株式会社) を用いた。その結果、OPLL の幅が増大する危険因子に関しては、若年発症の連続型および混合型 OPLL で骨化幅増大の頻度が高いという特徴があった。また C3 level の OPLL の存在が、骨化幅増大の危険因子として有意であった。さらに、OPLL の幅が厚くなる症例では、骨化巣の長軸方向への伸展を有意に認めた。したがって、若年発症の連続型、混合型の OPLL 患者に対しては、長軸方向への伸展だけでなく、骨化巣の幅が厚くなる事に留意する必要がある、それにとまなう神経障害の出現にも注意すべきであると考えられた。

A. 研究目的

後縦靱帯骨化症 (OPLL) は頰椎椎弓形成術後に骨化巣が伸展することが知られている。骨化伸展が起こる例の特徴として、連続型、混合型であること、また手術時年齢が若年である特徴があった。また長軸方向への骨化伸展の様式は、およそ 3 群に分けられ、Group 1: 連続型、混合型の若年者にみられる、術直後の伸展は緩徐であるが、後に骨化伸展が急速になる経過をたどる例。Group 2: 連続型、混合型の高齢者にみられる、術直後の伸展は急速であるが、後に緩徐になる経過をたどる例。Group 3: 分節型にみられる、顕著な伸展がみられない例に分類できることを報告した。しかし、OPLL の骨化巣幅の増大については、その変化が長軸方向の変化に比べ

乏しいことより、十分な検討がなされていない。本研究の目的は、OPLL の骨化巣の幅の推移を検討し、骨化巣の幅の増大に関連する因子を検討することとした。

(倫理面への配慮)

今回の研究は、術後定期的なフォローアップの際に診察を行った上でレントゲンを撮影し、それを資料としているものであり、倫理面での問題はないと考えている。

B. 研究方法

1985 年から 1997 年まで OPLL に対し頰椎椎弓形成術を施行し、5 年以上経過した症例 113 例から、計測に適切なレントゲンが確認できた 55 例を対象とし

た。男性 38 例、女性 17 例、手術時平均年齢は 56.7 歳(42-75 歳)であった。術前の OPLL のタイプは、連続型 13 例、分節型 17 例、混合型 23 例、限局型 2 例であった。骨化巣の計測には OPLL 骨化巣画像計測ソフトウェア作図ツール version2J(アレイ株式会社)を用いた。まず、症例ごとに術前、術後 6 ヶ月、1 年、3 年、5 年、10 年以上の頸椎単純 X 線側面像を選択し、スキャナーにてコンピューターに取り込み、ソフトウェア上で、骨化巣の幅の変化、頸椎アライメントを測定した。

1) 術後 5 年の時点で骨化巣の幅が 2mm 以上厚くなったものを増大ありと判断し、手術時年齢、性別、OPLL のタイプ、長軸方向への伸展の有無、項靭帯骨化の有無、前縦靭帯骨化の有無、二重 OPLL の有無、術前 C2-C6 のアライメント、C3 level の骨化巣の存在、以上の要因と OPLL の伸展の関連を検討した。

2) 骨化巣の幅が 2mm 以上厚くなっているものを骨化巣幅増大群とし、その特徴を検討した。

C. 研究結果

増大群 12 症例(21.8%)、非増大群 43 症例(78.2%)であった。増大群の骨化巣は術後平均 3.5mm(2-8.5mm)厚さを増していた。

1) OPLL の幅の増大に関与していた因子は、OPLL のタイプ、年齢、長軸方向への伸び、C3 level の骨化巣の存在であった。タイプでは連続型、混合型に骨化増大が多く、また年齢の若い症例で高頻度に骨化巣の増大が認められた。また、長軸方向へ骨化伸展がみられる症例に骨化巣の幅の増大が有意に多く認められた。一方、項靭帯骨化の有無、前縦靭帯骨化の有無、二重 OPLL の有無、頸椎アライメント骨化増大との関連は認められなかった。

2) 増大群 12 症例のうち、椎体レベルで見ると 22 椎体で骨化巣が厚くなっており、C2 で 8 例、C3 で 4 例、C4 で 5 例、C5 で 2 例、C6 で 2 例であった。経

時的に骨化巣の厚さを検討したが、増大のスピードについては明らかな特徴は見出せなかった。また、C2 level の骨化巣は長軸方向に伸展するに伴い厚くなっていく傾向があった。

D. 考察

OPLL の幅が増大する危険因子に関しては、若年発症の連続型および混合型 OPLL に骨化幅増大の頻度が高いという特徴があり、長軸方向の伸展に関与する因子と同じであった。また C3 level の OPLL の存在が骨化幅増大の危険因子として有意であった。さらに、OPLL 骨化巣の幅が厚くなる症例では、長軸方向への伸展を有意に認めた。したがって、若年発症の連続型、混合型の OPLL 患者に対しては、長軸方向への伸展だけでなく、骨化巣の幅が厚くなる事に留意する必要があり、それにとともなる神経障害の出現にも注意すべきである。

E. 結論

若年発症の連続型、混合型の OPLL 患者では、長軸方向への伸展だけでなく、骨化巣の幅が厚くなる事に留意する必要があり、それにとともなる神経障害の出現にも注意すべきである。

F. 健康危険情報

頸椎椎弓形成術後に OPLL の骨化巣は伸展するが、その経過には特徴がある。

G. 研究発表

論文発表

1. Kawaguchi Y, Kanamori M, Ishihara H, Nakamura H, Sugimori K, Tsuji H, Kimura T: Progression of ossification of the posterior longitudinal ligament following cervical laminoplasty. J Bone Joint Surg 2001;83-A:1798-802.

2. Kawaguchi Y, Kanamori M, Ishihara H, Ohmori K,

Nakamura H, Kimura T: Minimal 10-year followup after en bloc cervical laminoplasty. Clin Orthop 2003;411:129-39.

3. 川口善治, 金森昌彦, 石原裕和, 中村 宏, 杉森一仁, 木村友厚: 頤椎 en bloc laminoplasty 術後の後縦靱帯骨化巣の推移と臨床症状との関連. 別冊整形外科 45:192-196, 2004.

学会発表

1. 堀 岳史, 川口善治, 金森昌彦, 石原裕和, 安田剛敏, 阿部由美子, 木村友厚: 頤椎椎弓形成術後に OPLL の骨化巣はどのように伸展するか? 第 34 回日本脊椎脊髄病学会, 平成 17 年 6 月, 仙台.

2. Hori T, Kawaguchi Y, Kimura T: How does the ossification area of the posterior longitudinal ligament progress after cervical laminoplasty? 33th Cervical Spine Research Society. 2005, 11, San Diego. (2nd Clinical Award)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

本研究においては予定なし。

2. 実用新案登録

本研究においては予定なし。

3. その他

本研究においては予定なし。

下肢軽症を呈する頸髄症の歩行動作解析

北出一平¹⁾, 佐々木伸一¹⁾, 嶋田誠一郎¹⁾, 小川真裕美¹⁾, 亀井健太¹⁾
久保田雅史¹⁾, 川原英夫²⁾, 小林茂³⁾, 内田研造⁴⁾, 馬場久敏⁵⁾

- 1) 福井大学医学部附属病院リハビリテーション部 理学療法士
- 2) 福井大学医学部附属病院リハビリテーション部 助手
- 3) 福井大学医学部附属病院リハビリテーション部 助教授
- 4) 福井大学医学部器官制御学講座整形外科学領域 講師
- 5) 福井大学医学部器官制御学講座整形外科学領域 教授

研究要旨

下肢軽症な頸髄症における歩行動作を、3次元動作解析装置を用いて時間距離因子、運動学的因子および運動力学的因子の観点から検討した。症例は同年代の健常例に比べ、歩幅が狭く、遅い歩行速度であった。関節角度では骨盤傾斜角度、膝屈曲角度の減少などが見られ、遊脚期移行時に股関節屈曲モーメントが低下、また立脚期および遊脚期移行時に膝関節伸展モーメントが低下し、それに伴い関節パワーの減少も認めた。軽度下肢症状の頸髄症の歩行特性は、下肢各関節の歩行時における運動力学的因子をも含み検討した結果、遠位関節よりも骨盤・股・膝関節までの中枢側関節周囲筋群に影響を受けていることが示唆された。

A. 研究目的

3次元歩行解析評価は歩行障害の定量化を図るために有用であり、長年骨関節系疾患やスポーツの場面において利用されている。頸髄症は主症状の一つにMyelopathy gaitが挙げられており、近年では神経症状を有する脊髄系疾患に対しても3次元歩行解析評価は重要視されている。しかしながら、頸髄症に対する歩行解析¹⁻⁵⁾では時間距離的因子、関節角度からみた運動学的因子、そして筋活動からの検討は散見されるものの、運動力学的因子や力学的病態を動的機能面まで着目し、定量化した研究は未だみられない。

また、頸髄症は臨床重症度を反映する因子が明らかでない為、歩行解析にも重症度分けした報告が少数である。保存療法を適応とする症例の症状を把握し、アプローチ法やリハビリテーションプログラムを効率的且つ具象的に選択する必要がある。その為今回、JOAにて分類した下肢軽症の頸髄症に対し、3次元動作解析装置を用いて時間距離因子、運動学的因子および運動力学的因子の観点から歩行動作を検討した。

B. 研究方法

1) 対象

術前の頸髄症患者15例(以下、C群)を対象とした。C群の年齢は62.8±10.2歳(49~76歳)、身長158.1±5.2cm、体重59.4±8.2kgであった。性別の内訳は男性10例、女性5例であり、疾患内訳は頸椎性脊髄症10例、頸椎後縦靭帯骨化症5例であった。下肢の重症度分類は、Maezawaら¹⁾の判定基準(日本整形外科学会頸髄症治療成績判定基準(以下、JOAスコア)における上肢機能を除いた11点満点)を使用した。これは10点以上をgroup I(軽度)、7-9点をgroup II(中等度)そして6点以下をgroup III(重度)と判断され、今回は全例下肢軽症のgroup Iであった。また、健常者40例(男性20例、女性20例)をN群とした。年齢は63.5±8.3歳(50~74歳)、身長157.2±9.6cm、体重58.4±11.4kgであった。両群いずれも下肢関節に著明な傷害は見られなかった。また、両群において年齢、身長および体重に有意差は見られなかった。両群に対しては、研究の趣旨を十分に説明し、インフォームドコンセントを得た。

2) 使用機器および手順

歩行解析には6台のカメラと4枚の大型床反力計(AMTI社製)を同期した3次元動作解析装置VICON 370(Oxford

metrics 社製) を用いた。赤外線反射マーカ―部位は仙骨部 (両上後腸骨棘中央)・両側の上前腸骨棘・大腿外側下 1/3 部・膝関節裂隙・下腿外側中央部・外果・第 2 中足骨頭の皮膚上とし、歩行は裸足にて自由歩行とした。

解析には VICON Clinical Manager (Oxford metrics 社製) を用いて、時間距離因子としてケイデンス (steps/min)、歩行速度 (m/sec)、ストライド長 (m)、運動学的因子として下肢矢状面関節角度 (°)、そして運動力学的因子として下肢矢状面関節モーメント (Nm/kg)、下肢矢状面関節パワー (W/kg) を算出した。各 5 回の試行における両側下肢の結果を解析し、全体の平均値を求めた。統計処理には、ノンパラメトリック Mann-Whitney U テストを用い、危険率 5% 未満を有意水準とした。

C. 研究結果

1) 時間距離因子 (図 1)

ケイデンス、歩行速度およびストライド長ともに、C 群が N 群に比べ有意に低値を示した。

2) 運動学・運動力学的因子 (図 1・2)

[骨盤帯]

C 群は、最大側方傾斜角度が N 群に比べ有意に低値を示したものの、前後傾斜角度に明瞭な変化は認められなかった。

[股関節]

C 群の矢状面角度は N 群に比べ明瞭な変化は見られなかった。モーメントに関して C 群の最大屈曲モーメント値は低値を示し、関節パワーは両群ともに同様な波形を示したものの、C 群の各ピーク値が N 群に比べ低値を示した。

[膝関節]

屈曲角度および伸展モーメントは両群ともに 2 峰性の曲線を示したが、両項目の 2 峰ともに C 群が N 群に対し低値であった。また、遊脚期移行時および遊脚後期で伸張性収縮形態を示したものの、C 群のピーク値が N 群に比べいずれも低値であった。

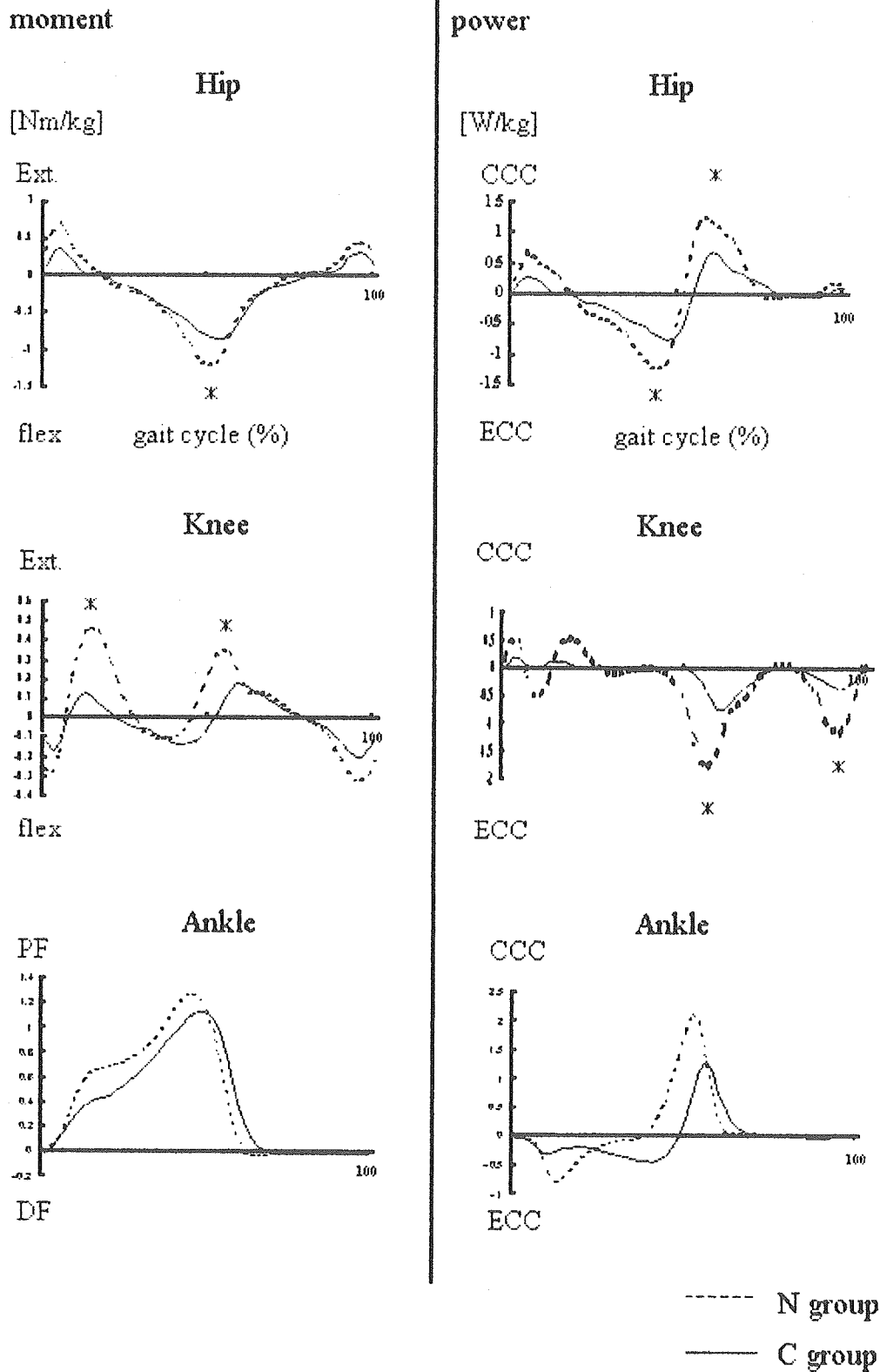
[足関節]

関節角度、関節モーメントそして関節パワーは、両群ともに同様な波形を示し、明瞭な変化は見られなかった。

	C group	N group	Significance
Cadence (steps/min)	107.0 ± 8.2	122.4 ± 16.3	p < 0.05
Walking speed (m/sec)	0.80 ± 0.2	1.31 ± 0.3	p < 0.05
Stride length (m)	0.84 ± 0.2	1.21 ± 0.2	p < 0.05
Pelvic obliquity (deg)*	2.0 ± 2.8	3.5 ± 3.2	p < 0.05
Extension of the hip (deg)*	9.6 ± 9.2	11.7 ± 8.3	n.p
Flexion of the knee (deg)* (stance phase)	14.1 ± 6.2	24.0 ± 7.9	p < 0.05
Flexion of the knee (deg)* (swing phase)	43.1 ± 11.6	60.2 ± 6.7	p < 0.05
PF** of the ankle (deg)* (swing phase)	-2.4 ± 8.4	3.3 ± 6.4	p < 0.05

* peak value ** plantar flexion

図 1 時間距離・関節角度データ



*p<0.05

図2 各下肢矢状面関節の一歩行周期における運動学・運動力学的データ

D. 考察

頸髄症は主症状の一つに Myelopathy gait が挙げられるが、一般的に頸髄症の歩行は歩行速度が乏しく、スムーズさに欠け非規則的であるとしか特徴づけられていないのが現状である。近年、その歩行障害も歩行解析により定量化されつつあり、時間距離因子^{1,2,5)}からの検討では歩行速度や歩幅の減少、立脚期率の増加などが報告されている。また、関節角度の変化^{1,3)}から一般的に膝関節立脚期の伸展角度の増加、屈曲角度の減少そして足関節