

厚生労働科学研究費補助金  
長寿科学総合研究事業

高齢者の腰痛症に係る効果的な診断・治療・  
リハビリテーション等の確立に関する研究

平成 18 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 戸山 芳昭

平成 19 (2007) 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、介護及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. 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	5
中村 耕三	
2. 馬尾障害診断サポートツールの開発	9
菊地 臣一	
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	11
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	13
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	15
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	19
武政 龍一	
7. 腰椎牽引時に作用する荷重分布および腰椎挙動に関する研究	23
藤野 圭司	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	27
---------------------	----

# 総括研究報告

「高齢者の腰痛症に係る効果的な診断・治療・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きた。そこで、エビデンスに基づいた医療の視点から、効果的な診断基準やガイドラインの作製、蓄積した疫学的データの解析、および新たな治療方法の開発とリハビリテーションプログラムの確立が急務である。本年度は、1) CT/有限要素法による力学的骨強度評価の臨床応用、2) 馬尾障害診断サポートツールの開発、3) 腰背部表面筋電図を用いた他覚的な腰痛評価、4) VEGF を介する椎間板生存シグナルの分子生物学的解析、5) ヒト椎間板髄核と骨髄間葉系幹細胞の共存培養の確立、6) 椎体形成術の低侵襲術式への改良、7) 牽引時に腰椎に負荷される荷重と挙動の解析をおこない、高齢者の腰痛症についての臨床研究基盤の確立をすすめた。

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 以上の人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

1) 骨粗鬆症性脊椎骨折患者の定量的 CT データから 3 次元骨強度解析モデルを作製し、立位荷重と前屈位荷重のシミュレーションをおこなった。2) 蓄積した臨床疫学的データから馬尾障害診断サポートツールの開発をすすめた。3) 腰痛患者における腰背部表面筋電図所見の特徴を解析した。腰痛症の病態解明の一助として、4) 分子生物学的手法

により VEGF を介する椎間板の生存シグナルを解析した。また、5) ヒト椎間板髄核と骨髄間葉系幹細胞の共存培養を用いた椎間板再生医療の基礎検討、6) バイオマテリアルを用いた椎体形成術の低侵襲術式への改良を行った。さらに、7) 牽引した腰部のレントゲン像から腰仙椎アライメントを抽出し、椎体間距離の変化および各椎体に作用する力の解析を行った。

C. 研究結果

1) 予測骨折荷重は、前屈位荷重の条件で立位荷重の 7 割程度で骨折する例がみられた。また、最小主ひずみ分布は単軸圧縮に比べ立位荷重では後方に、前屈位荷重では前方に圧縮ひずみ分布が広がる傾向がみられた。前屈位での予測骨折荷重が低い症例では、立位/前屈位の予測骨折荷重が変わらない症例に比べ、前方の皮質骨シェルおよび皮質骨シェル近傍の海綿骨の骨密度が低い傾向にあった。

2) Logistic 多変量解析の結果、P 値<0.05 以下の変数のみをモデルに組み入れ、スコア 7 以上を陽

性とした場合、馬尾障害予測システムの感度は0.86、特異度は0.742、ROC曲線下面積は0.906であった。

3) 腰痛患者は健常者に比べて腰背筋が常に活動状態にあり、腰背筋の筋疲労度が大きく、杖支持により筋電図上も腰背筋の安静が得られた。また、腰痛体操によって腰背筋筋力訓練をおこなうことで筋疲労度が軽減した。

4) ラット髄核を用いたマイクロアレイでスクリーニングされた VEGF 遺伝子は、ヒト髄核でもすべての splice variant が発現していることが Real-time PCR で確認された。VEGF 受容体については、Flk-1 に比して Flt-1 の発現が有意に上昇しており、Flt-1-Fc によってラット髄核細胞のアポトーシスが誘導された。また、ラット髄核における VEGF の発現は加齢とともに mRNA レベルで漸減した。

5) ビーグル犬を用いた in vivo 実験では、骨髄間葉系幹細胞との共存培養で活性化された髄核細胞を挿入した椎間板は、画像上も組織学的にも変性の進行が抑制されており、椎間高の維持に有用であった。ヒト骨髄間葉系幹細胞との共存培養系も in vitro における髄核細胞の DNA 合成、PG 合成を著しく亢進することが明らかになった。

6) 直径 18mm の X 線透過性円筒レトラクターを両側の椎弓根直上に設置し、2つの portal を介して椎体内壊死骨や癒痕組織の搔爬をおこない CPC で充填する、いわゆる Biportal 椎体形成術を開発した。本法は、除痛効果および楔状椎体の矯正も良好であり、高齢者の骨粗鬆症性椎体骨折後の骨癒合不全症例に対する低侵襲治療として、安全で有用な術式であった。

7) 荷重 10kg と 30kg の間で腰椎および仙骨における傾斜角方向分力と傾斜角垂直方向分力の割合に変化は見られなかったが、重心間距離は 10kg 荷重負荷によって第 5 腰椎と仙骨間で拡張し、30kg 荷重負荷によって腰椎間で拡張した。すなわち、牽引荷重はそれぞれの椎体の横断面に対して垂直方向と平行方向両方の力を発生させており、垂直方向成分は椎間の距離変化を、平行方向成分は椎骨の屈曲に関与していた。

#### D. 考察

本年度の研究結果から、以下が明らかとなった。

1) 骨粗鬆症における椎体の骨折リスクは、骨密度を含めた骨強度だけでなく、椎体に掛かる荷重方向に依存することが明らかになり、骨折が起こりやすい荷重を考慮した日常生活指導が必要と考えられた。2) 感度と特異度の高い馬尾障害診断サポートツールが開発され、患者に分りやすい自記式問診票を用いた大規模な validation study への前段階が確立された。3) 腰背筋の筋活動および筋疲労と腰痛には相関があるので、筋活動を抑え、筋疲労を減少させるためには姿勢の安定が重要であり、腰痛体操による背筋力強化の有用性が示唆された。4) 無血管性の環境で代謝をおこなう椎間板組織において、VEGF はその受容体である Flt-1 を介して autocrine または paracrine な生存シグナルとして作用することが明らかになり、変性を抑制する治療法の一助となる可能性が示された。5) 骨髄間葉系幹細胞との共存培養は髄核細胞を機能的に活性化し、かつ安全な細胞移植療法と考えられた。6) 専用の手術器具を用いたシステムへの改良によって、椎体形成術は高齢者に対して低侵襲で良好な成績が得られる、さらに安定した術式となった。7) 腰椎の挙動には、腰痛発生原因の一つと考えられている前屈姿勢による椎間板圧縮に対して拮抗する働きが考えられることから、腰椎牽引は腰痛緩和にして有効に働いていることが示唆された。

今後、さらにエビデンスのある臨床データと病態解明につながる基礎的知見を蓄積し、疫学的アプローチで高齢者の腰痛を予防し、低侵襲の治療に加えて社会復帰、自立に向けた効果的なリハビリテーションプログラムを確立することで、患者自身にとどまらず、社会、国にとって有効な還元効果が期待できる。

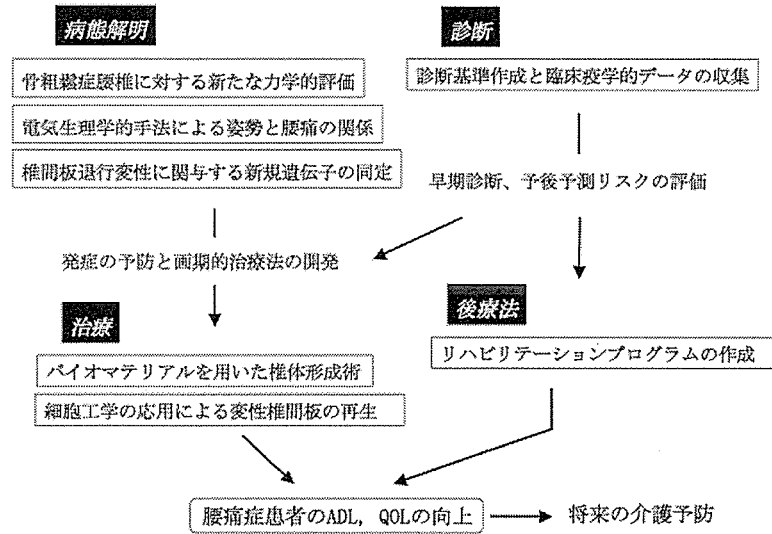
#### E. 結論

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

研究成果の刊行に関する別紙レイアウト参照。

H. 知的財産権の出願・登録状況

予定していない。

## 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

高齢者の腰痛症に係る効果的な診断・治療・リハビリテーション等の確立

分担研究報告書

骨粗鬆症性高齢者腰椎に対する新たな力学的評価法の確立

分担研究者：中村 耕三 東京大学大学院医学部整形外科 教授

研究要旨：近年、高齢者の人口比の増加に伴い骨粗鬆症の発症予防と診断方法の確立が急務となっている。現在の骨強度評価は、X線写真およびQCTやDXAにより評価されているのが現状である。しかし、X線写は骨強度を定量的に評価できず、骨密度測定は骨の立体的構造強度を定量評価できない限界がある。これらの方法を用いた骨粗鬆症の診断率は約7割程度であり、真の骨折危険度は骨の構造強度に相関するため、易骨折性を有する患者を必要十分に正確に診断するには不十分である。骨強度を十分な精度と再現性で定量的に評価するための新しい方法論が求められている。こうした背景から行われた、新鮮死体標本を用いた有限要素法力学的骨強度評価が実証実験と高い相関関係が示されたので、これを臨床応用し、日常生活動作における荷重条件での骨強度評価を行うことを目的とした。

#### A. 研究目的

近年、高齢者の人口比の増加に伴い骨粗鬆症の発症予防と診断方法の確立が急務となっている。現在の骨強度評価は、X線写真およびQCTやDXAにより評価されているのが現状である。しかし、X線写は骨強度を定量的に評価できず、骨密度測定は骨の立体的構造強度を定量評価できない限界がある。こうした背景から、有限要素法を用いて骨の力学的特性を評価する試みが行われており、CTのデータを用いて骨の力学的特性を評価する評価法の開発も行われた。そこで、定量的CTから出力されるデジタルデータを用いて、患者特有の骨密度分布をもつ立体的構造を再現し、コンピューターシミュレーションによる力学的骨強度評価を1) 摘出骨で行い、実証実験との相関関係を評価すること、2) 臨床応用し、骨粗鬆症に対する投薬加療の治療効果判定に用いることを目的とした。

#### B. 研究方法

対象は、未治療の原発性骨粗鬆症、女性患者7名、平均年齢60歳であった。倫理委員会の承認のもと、患者の同意を得て、第2腰椎の定量的CT撮

影と、DEXA撮影を行い、CTのdicomデータより有限要素法による強度解析を行った。解析による骨強度評価と、DEXAによる第2腰椎骨密度とを比較対照した。CT/有限要素法による強度解析は定量的CTのDICOMデータから、3次元骨強度解析モデルを作成した。荷重条件・拘束条件は、椎体上面を垂直圧縮し、椎体下面を完全拘束した単軸圧縮モデル(Imai, 2006)、立位・前屈位における椎体への過重負荷分布(Pollintine, 2004)を応用した、すなわち立位時には椎体の前方1/3:中央1/3:後方1/3を19:31:41に、前屈時には59:48:38に分配した荷重を椎体上面に、椎体下面を完全拘束した立位荷重、前屈位荷重モデルについてシミュレーションを行い、骨強度予測を行った。(図1)

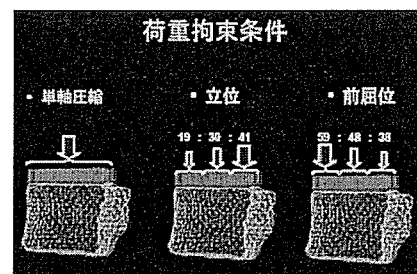




図1 荷重拘束条件

C. 研究結果

予測骨折荷重は単軸圧縮と立位荷重の条件では同様の傾向が見られたが、前屈位荷重の条件で立位荷重の7割程度で骨折する例がみられた。(図2)

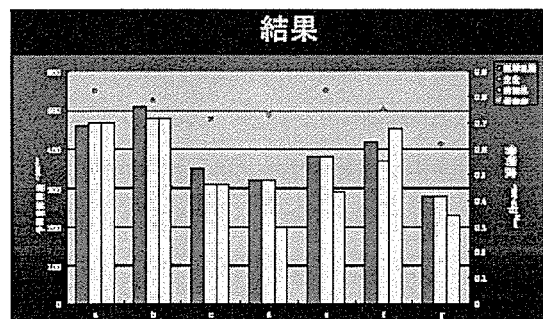


図2 骨密度・強度予測値の結果

また、骨折荷重時の最小主ひずみ分布は単軸圧縮に比べ立位荷重では後方に、前屈位荷重では前方に圧縮ひずみ分布が広がる傾向がみられた。(図3)

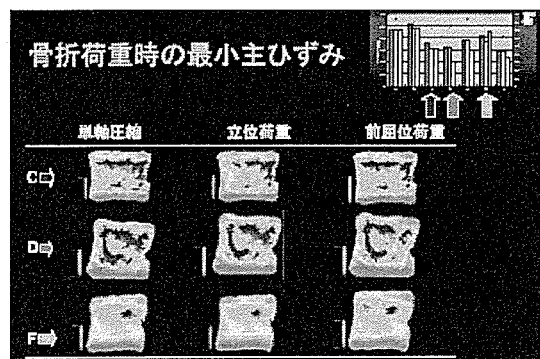


図3 最小主ひずみ分布

前屈位での予測骨折荷重が低い症例では、立位/前

G. 研究発表

1. 論文発表

1. M. Bessho, I. Ohnishi, J. Matsuyama, T. Matsumoto, K. Nakamura, PREDICTION OF STRENGTH AND STRAIN OF THE PROXIMAL FEMUR BY A CT BASED FINITE ELEMENT METHOD. 52<sup>nd</sup> Meeting of Orthopaedic Research Society. Chicago 2006 (0224) Transactions Vol. 31, Chicago, IL, 2006
2. Imai, K., Ohnishi, I., Bessho, M. and Nakamura, K., Nonlinear finite element model

屈位での予測骨折荷重が変わらない症例に比べ前方の皮質骨シェルおよび皮質骨シェル近傍の海綿骨の骨密度が低い傾向にあった。(図4)

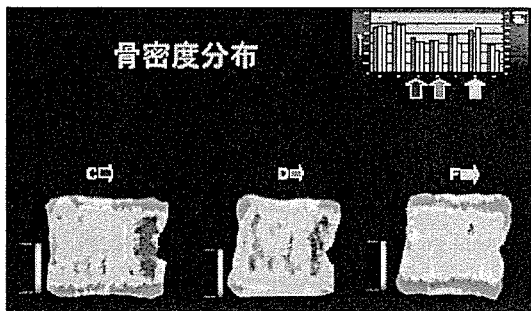


図4 骨密度分布

D. 考察

骨粗鬆症における椎体の骨折リスクは、骨密度分布や骨形態などの骨強度だけでなく、椎体に掛かる荷重方向によって変化する。日常生活の荷重では骨粗鬆症の椎体の骨折リスクは説明できない (Homminga J, *Bone*, 2004) との報告にあるように、骨折が起こりやすい荷重方向を見極め、骨折リスクを考慮した生活指導ができれば国民の生活機能改善への一助となりうる。

E. 結論

CT/有限要素法による強度解析は日常生活動作における骨強度評価に応用できる可能性がある

F. 健康危険情報

特になし。

predicts vertebral bone strength and fracture site. *Spine* 2006;31:1789-94.

3. Masahiko Bessho, Isao Ohnishi, Juntaro Matsuyama, Takuya Matsumoto, Kazuhiro Imai, Kozo Nakamura, Prediction of strength and strain of the proximal femur by a CT-based finite element method, *Journal of Biomechanics* 2006, (in press)

2. 学会発表

1. 松本卓也、大西五三男、中村耕三ほか：CT/有

有限要素法による手術計画への可能性 Lag screw 刺入高位による大腿骨頸部の 応力・ひずみの検討、日本コンピュータ外科学会、2006年10月

2. 松本卓也、大西五三男、別所雅彦、中村耕三：Assessment of the Lag Screw Bone Interface by a CT Based Linear Finite Element Analysis.

第79回日本整形外科学、2006年6月

3. 別所雅彦、大西五三男、中村耕三ほか：Prediction of Strength and Strain of the Proximal Femur by CT based Finite Element Method.

第79回日本整形外科学、2006年6月

4. 別所雅彦、大西五三男、松本卓也、松山順太郎、大橋暁、中村耕三：CT/有限要素法・QCTによる大腿骨近位部の強度評価 薬剤効果判定の予備的研究について、骨折治療学会 2006年7月

5. 松本卓也、大西五三男、別所雅彦、大橋暁、中村耕三：CT・CAD/有限要素法を用いた大腿骨転子部骨折に対する骨接合術のための術前計画、骨折治療学会 2006年7月

6. 別所雅彦、大西五三男、大橋暁、松本卓也、松山順太郎、中村耕三：CT/有限要素法は、DEXA法よりも大腿骨近位部の強度評価をより正確に予測する -新鮮死体標本での評価-、骨粗鬆症学会 2006年11月

7. 別所 雅彦、大西 五三男、松本 卓也、大橋 暁、松山 順太郎、中村 耕三：新鮮死体大腿骨標本のCT/有限要素法による骨ひずみ予測の正確性の検証、コンピュータ外科学会 2006年10月

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

予定していない。

馬尾障害診断サポートツールの開発

分担研究者：菊地 臣一 福島県立医科大学 副理事長兼附属病院長

研究要旨：馬尾障害を伴う腰部脊柱管狭窄は、それ自体既に重症であるので、いたずらに経過観察を行い、手術の時期を逸することのないように注意する必要がある。そこで、プライマリーケアレベルで馬尾障害を見逃さないために、馬尾障害診断サポートツールの開発を試みた。対象は下肢症状を有する症例 469 例である。自覚症状、他覚所見、および MRI 所見をデータシート化し、一人の医師が golden standard となり、馬尾障害を有する腰部脊柱管狭窄か否かの判定を行った。Logistic 解析による多変量解析を行い、 $\beta$  相関係数を算出し、各因子の重みづけを行い、ROC 解析を行い、診断の cut off 値を求めた。多変量解析の結果、P 値<0.05 以下の変数のみをモデルに組み込み、腰部脊柱管狭窄（馬尾障害あり）を予測するためのスコアリング・システムを作成した。

A. 研究目的

腰部脊柱管狭窄は高齢者に多く認められる腰椎変性疾患である。本邦では、高齢化社会に伴い増加の一途を辿っており、腰痛全体の約 3-5% を占める。腰部脊柱管狭窄は、神経根型、馬尾型、混合型の 3 型に分類できる。神経根型では、自然治癒例が少なからず存在する。これに対し、馬尾障害例（馬尾型と混合型）では、症状の悪化をみる症例が多い。したがって、馬尾障害例の場合は、それ自体既に重症であるので、いたずらに経過観察を行い、手術の時期を逸することのないように注意する必要がある。そこで、我々は、プライマリーケアレベルで馬尾障害を見逃さないために、馬尾障害診断サポートツールの開発を試みた。

B. 研究方法

対象は下肢症状を有する症例 469 例である。平均年齢 65 歳、男女比は 54 : 46 である。以上の症例の自覚症状、他覚所見、および MRI 所見をデータシート化し、一人の医師が golden standard となり、馬尾障害を有する腰部脊柱管狭窄か否かの判定を行った。Logistic 解析による多変量解析を

行い、 $\beta$  相関係数を算出し、各因子の重みづけを行い、ROC 解析を行い、診断の cut off 値を求めた。

C. 研究結果

多変量解析の結果、P 値<0.05 以下の変数のみをモデルに組み入れた（表 1）。本モデルの Hosmer-Lemeshow test は 4.21 であった。スコア 7 以上を陽性とした場合の、LSCS（馬尾障害あり）予測スコアリングシステムの感度が 0.86，特異度は 0.742 であった。ROC 曲線下面積は 0.906 であった。

Characteristic	Regression			Risk Score Assigned *
	$\beta$ -coefficient	p-value	95% CI	
年齢		0.0016 †		
60 <	Reference			0
60-70	1.36	0.012	0.31 - 2.69	2
70 <=	1.65	<0.001	0.43 - 2.51	2
女性	0.79	0.018	0.14 - 1.44	1
会陰部のしびれ(+)	2.51	<0.001	1.59 - 3.2	3
膀胱・直腸症状(+)	2.62	<0.001	1.55 - 3.7	3
立位により下肢症状が悪化	1.32	<0.001	0.61 - 2.04	2
前屈で下肢症状が軽減	1.62	<0.001	0.95 - 2.3	2
その他の馬尾症状(+) <sup>‡</sup>	2.91	0.004	0.91 - 4.91	3
糖尿病無し	1.38	0.006	0.39 - 2.38	2

表 1.

D. 考察

多変量解析の結果、P 値<0.05 以下の変数のみをモデルに組み込み、LSCS（馬尾障害あり）を予測するため

のスコアリング・システムを作成した。  
Hosmer-Lemeshow test は、モデルの当てはまりをみる統計手法であり、 $P > 0.05$  の場合、モデルの当てはまりが良いといえる。さらに、ROC 曲線下面積は 0.7 以上であり、今回のスコアリング・システムは識別力があると考えられる。本結果をもとに、患者に分かりやすい自記式問診票を作成し、大規模な validation study を行う必要がある。

#### E. 結論

プライマリーケアレベルで馬尾障害を見逃さないために、感度と特異度の比較的高い馬尾障害診断サポートツールを開発した。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. 紺野慎一 菊地臣一 大谷晃司：高齢者における腰部脊柱管狭窄の術後 QOL 臨床整形外科 40 (4) : 359-63、2005

##### 2. 学会発表

1) Konno S, Kikuchi S: Development of diagnostic tool for lumbar spinal canal stenosis 32th Annual Meeting, International Society for the Study of the Lumbar Spine. New York, USA, May 2005

2) 紺野慎一 菊地臣一：高齢者腰部脊柱管狭窄症の治療法の選択とその成績 高齢者腰部脊柱管狭窄の治療 第54回東日本整形災害外科学会 シンポジウム 9月 東京

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

予定していない。

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

高齢者の腰痛症に係る効果的な診断・治療・リハビリテーション等の確立

分担研究報告書

### 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 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科整形外科学 教授

研究要旨：腰痛の有病率は40%以上とされ、また90%以上の人が生涯のうちに腰痛を持つことがあるとの報告がある。特に高齢化社会となった現在では腰痛患者のうち高齢者の割合が多く、高齢者の腰痛は日常生活の活動度を低下させて患者本人の健康状態を損なうだけでなく、医療費や介護など社会的にも負担が大きくなることが多い。腰痛のメカニズムとしては不明な点も多く、慢性腰痛症など治療に難渋し経過が長くなる場合も少なくない。治療が長期の経過をたどる原因として、腰痛を客観的に評価する方法がなく、治療効果の判定が患者本人の訴えのみに拠ることなどが考えられる。本研究では、腰椎疾患を有する患者を対象として、腰背部表面筋電図を測定することで腰痛疾患と腰痛の関係を筋電図学的に考察し、腰痛を客観的に評価する方法を検討するものである。

#### A. 研究目的

本研究の目的は、腰痛を有する患者の腰背部筋活動を表面筋電図を用いて測定し、腰痛を他覚的に評価することである。また、慢性腰痛患者にはいわゆる腰痛体操を指導し、体操による腰痛と筋電図から得られた腰背筋筋疲労度の変化を検討した。

の安静が得られた。高度脊椎後弯症患者の後弯矯正手術後には腰痛が軽減するとともに立位安静時の背筋筋活動も減少した。慢性腰痛患者に対して腰痛体操を指導し腰背筋筋力を鍛えることで自覚的腰痛が減少し、筋電図上でも筋疲労度は軽減した。

#### B. 研究方法

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多裂筋上に表面電極を取り付けて測定を行う。筋電図測定は立位・座位安静時、歩行時、立位前後屈動作時などに測定し、立位で体の前に2kgの重りを持った姿勢を3分続けて測定した表面筋電図の波形について、平均周波数、平均パワー周波数の変化で筋疲労を評価した。

#### D. 考察

腰背筋の筋活動および筋疲労と腰痛には大きな相関がうかがえた。筋活動を抑え、筋疲労を減少させるためには姿勢の安定が重要であり、腰痛体操による背筋力強化や高度後弯症患者には手術的な矯正治療も姿勢の安定化により腰痛軽減につながったものと考えられる。

#### C. 研究結果

腰痛を有する患者では健常者に比べて腰背筋が常に活動状態にあり、腰背筋の筋疲労度が大きかった。寄りかかりや杖の仕様など前屈に抗する支えを用いることで腰痛は軽減し筋電図上も腰背筋

#### E. 結論

腰痛を客観的に評価することは、治療方針の確認、変更を容易にし、治療を無駄に長引かせることを防ぎ、また、患者の治療に対するモチベーションを上げることで治療効果にも好循環をもたらすと考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

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

(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特になし

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

高齢者の腰痛症に係る効果的な診断・治療・リハビリテーション等の確立

分担研究報告書

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に、無血管性環境において代謝をおこなう椎間板細胞の生存シグナルを解析した。ラットおよびヒト髄核細胞は、VEGF 受容体のうち Flk-1 に比して Flt-1 の発現が有意に上昇しており、その発現パターンは Flk-1 LacZ マウス、Flt-1 LacZ マウスにおいても同様であった。また、Flt-1-Fc を用いたアポトーシス誘導実験の結果、VEGF はその受容体である Flt-1 を介して autocrine または paracrine に髄核に対する抗アポトーシス作用を有することが明らかになった。また加齢とともにその発現が減少することから、VEGF は椎間板の恒常性維持に寄与する可能性が示された。

#### 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。本研究の目的はマイクロアレイによって椎間板で同定された遺伝子の機能解析をおこない、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。

#### B. 研究方法

1) ラット椎間板を用いてマイクロアレイをおこない、髄核細胞と線維輪細胞において高発現している分子をスクリーニングし、Real-time PCR で再現性を確認した。

2) Flk-1 LacZ マウス、Flt-1 LacZ マウスの尾椎より椎間板組織切片を作製し、LacZ 染色をおこない、内在性の VEGF 受容体の局在を解析した。

3) ラット髄核細胞の培養系に Flt-1-Fc を添加

し、annexin V にてアポトーシス誘導を評価した。

4) ラット椎間板組織を用いて MRI T2 強調画像の撮像と VEGF の免疫染色をおこない、加齢に伴う変化を評価した。

#### C. 研究結果

マイクロアレイの結果、VEGF がラット髄核に高発現していることを見出した。Real-time PCR では、ラットおよびヒトの髄核細胞において、すべての splice variant を含む VEGF 遺伝子が発現していた。そこで、細胞内領域を有する VEGF 受容体の遺伝子発現を定量すると、Flk-1 に比して Flt-1 の発現が有意に上昇しており、その発現パターンは Flk-1 LacZ マウス、Flt-1 LacZ マウスにおいても再現性が確認された。Flt-1-Fc をラット髄核細胞の培養系に添加し annexin V にてアポトーシスへの影響を検討すると、VEGF シグナルを抑制することによりアポトーシスが誘導された。さら

に、ラット椎間板は加齢とともに髄核における MRI T2 強調画像の信号強度が低下するとともに、VEGF の発現も mRNA レベルで漸次減少した。

#### D. 考察

椎間板変性にいたる分子メカニズムは詳細に解明されていなく、無血管性の環境で代謝をおこなう椎間板細胞における生存シグナルの伝達系に関する報告はこれまでない。VEGF は髄核細胞に対して、その受容体である Flt-1 を介して autocrine または paracrine な抗アポトーシス作用を有すると考えられた。また加齢とともにその発現が減少することより、VEGF が椎間板変性の抑制に寄与する可能性が示された。

#### E. 結論

ラット髄核において VEGF 受容体の Flt-1 が高発現していることを見出し、培養系を用いた機能解析の結果、VEGF シグナルの抑制は annexin V にて検出されるアポトーシスを誘導することが明らかになった。VEGF は椎間板髄核における生存シグナルとして無血管性環境における恒常性維持に関与することが示唆された。

#### F. 健康危険情報

該当せず

#### G. 研究発表

1) Seki S, Kawaguchi Y, Mori M, Mio F, Chiba K, Mikami Y, Tsunoda T, Kubo T, Toyama Y, Kimura T, Ikegawa S.; Association study of COL9A2 with lumbar disc disease in the Japanese population. J Hum Genet. 51(12), 1063-7,

2006.

- 2) Morisue H, Matsumoto M, Chiba K, Matsumoto H, Toyama Y, Aizawa M, Kanzawa N, Fujimi TJ, Uchida H; A novel hydroxyapatite fiber mesh as a carrier for recombinant human bone morphogenetic protein-2 enhances bone union in rat posterolateral fusion model. Spine 31(11), 1194-200, 2006.
- 3) Fukuda K, Okada Y, Yoshida H, Aoyama R, Nakamura M, Chiba K, Toyama Y.; Ischemia-induced disturbance of neuronal network function in the rat spinal cord analyzed by voltage-imaging. Neuroscience 140(4) 1453-65, 2006.
- 4) Horikoshi T, Maeda K, Kawaguchi Y, Chiba K, Mori K, Matsumoto M, Kawaguchi H, Nakamura K, Ikegawa S.; A large-scale genetic association study of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine. Hum Genet. 119(6) , 611-6, 2006.

#### 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



厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

高齢者の腰痛症に係る効果的な診断・治療・リハビリテーション等の確立

分担研究報告書

再生医療を用いた高齢者腰痛症に対する新たな治療法の開発

分担研究者： 持田讓治 東海大学医学部外科学系整形外科学 教授

研究要旨：椎間板は血行の極めて乏しい組織であり、その変性は非可逆的である。またその中心部を占める髄核は胎生期の脊索の遺物とされ、発育終了後には不要なものとされてきた。一方臨床において髄核中心部の可及的温存手技によりその後の椎間板変性が遅延し、良好な臨床経過が得られることが判明した。この事実ヒントを得て動物実験系を作成し、*in vitro* では髄核細胞が線維輪細胞を活性化すること、活性のより高い髄核細胞を作成するために骨髄間葉系幹細胞との細胞間接着を伴う *coculture* 法が極めて有効であること、*in vivo* のおいてはこの活性化髄核細胞の変性椎間板内への移植によって変性椎間板のその後の変性進行が抑制されることが判明した。この結果をもとに人の手術中に採取された椎間板髄核と骨髄間葉系幹細胞との細胞間接着を用いた *coculture* 法を行ったところ、短期培養期間で動物実験と同様に髄核細胞数の増加、1 髄核細胞あたりの著しい活性化が示され、人変性椎間板に対する活性化髄核細胞挿入法の臨床応用が可能と考えられた。

#### A. 研究目的

腰痛の原因は多彩であるが、その中でも椎間板変性に基づくものが約半数を占めると考えられ、その進行抑制は腰痛制御の大きな戦略となりうる。椎間板髄核は胎生期に遺物と考えられた時期を脱し、椎間板代謝の上で極めて重要な役割を担っていることが判明してきた。このため体外で活性化した髄核細胞を変性椎間板に再挿入する方法の確立を動物ならびにヒト椎間板細胞を用いて行った。

#### B. 研究方法

日本白色家兎の椎間板髄核が細胞間接着を有する骨髄間葉系幹細胞との *coculture* で活性化することが判明したため、より人に近いビーグル犬 12 頭を用い作成した椎間板変性モデルに対して、活性化髄核細胞の挿入による変性抑制、再生状態を検討する。また手術で採取された 20 例の人髄核細胞に対する細胞間接着を伴う骨髄間葉系幹細胞との *coculture* による活性化の状態を検討する。

#### C. 研究結果

動物実験では、骨髄間葉系幹細胞との細胞間接着を用いた *coculture* 法で活性化された髄核細胞を挿入した椎間板は、その椎間高の低下抑制、組織学的な変性進行抑制、画像上の変性抑制のいずれの点でも有効であった。骨髄間葉系幹細胞との細胞間接着をともなう *coculture* での髄核活性化群では時間的にも良好な変性抑制、再生結果がえられ、移植された活性化髄核細胞も長期に亘り椎間板内で生存することが示された。人の *in vitro* の実験においても髄核細胞の細胞数増加、単位細胞あたりの DNA 活性、PG 活性が著しく亢進することが明らかにされ、この際に関与するサイトカイン、成長因子が動物、人で類似することも示された。

#### D. 考察

椎間板変性の終末像は椎間高位の著しい低下による椎間板の安定化である。その観点からは椎間板変性の促進は生理的な現象ともいえる。しかしその変性の進行する過程における時間的要素が

極めて重要である。単位時間あたりの変性進行が激しい例では、腰痛や giving way (腰椎の不安定感)が生じ、患者の ADL を著しく低下させる。したがって椎間板変性が非可逆的過程であるとしてもその時間経過を遅らせ、穏やかに変性を進行させ、その間になんら愁訴がおきないことが重要である。我々が考案した骨髄間葉系幹細胞との細胞間接着を伴う coculture による髄核細胞の活性化は当該する患者固有以外のものを使用しない極めて生理的な方法であり、前述したようにその効果も大きく、今後の臨床応用が期待される。一方、患者固有の細胞による他の細胞の活性化においても染色体異常の否定、腫瘍化の否定 (ヌードマウスへの移植)が重要であり、全例でそれらの検索を行っているが、異常所見はみられておらず、安全な細胞移植療法と考えられる。

#### E. 結論

椎間板変性抑制のための新しい細胞移植療法を開発した。近々に臨床応用が可能と考えられる。

#### F. 健康危険情報

本細胞移植療法は cell processing center 内で実施され、活性化された細胞の染色体異常や腫瘍化がないことが詳細に検討されており、安全な方法と考えられる。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. 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):1508-1514.
2. 酒井大輔、持田譲治、山本至宏、中井知子、野村武、西村和博幹細胞椎間板変性の分子メカニズムから治療へ 幹細胞を用いた細胞移植による椎間板再生. 日本整形外科学会雑誌 78 巻 12 号 Page929-933(2004.12)
3. Mochida J. New strategies for disc repair:

novel preclinical trials. J Orthop Sci. 2005; 10(1):112-8.

4. Sakai D, Mochida J, Iwashina T, et al. Differentiation of mesenchymal stem cells transplanted to a rabbit degenerative disc model. Spine 2005; 30:2379-2387.
  5. Iwashina T, Mochida J, Miyazaki T, Watanabe T, Iwabuchi S, Ando K, Hotta T, Sakai D. Low-intensity pulsed ultrasound stimulates cell proliferation and proteoglycan production in rabbit intervertebral disc cells cultured in alginate. Biomaterials. 2006 Jan;27(3):354-61.
  6. Sakai D, Mochida J, Iwashina T, Watanabe T, Suyama K, Ando K, Hotta T. Atelocollagen for culture of human nucleus pulposus cells forming nucleus pulposus-like tissue in vitro: influence on the proliferation and proteoglycan production of HNPSV-1 cells. Biomaterials. 2006 Jan;27(3):346-53.
  7. Sakai D, Mochida J, Iwashina T, Hiyama A, Omi H, Imai M, Nakai T, Ando K, Hotta T. Regenerative effects of transplanting mesenchymal stem cells embedded in atelocollagen to the degenerated intervertebral disc. Biomaterials. 2006 Jan;27(3):335-45.
  8. Iwashina T, Mochida J, Sakai D, Yamamoto Y, Miyazaki T, Ando K, Hotta T. Feasibility of using a human nucleus pulposus cell line as a cell source in cell transplantation therapy for intervertebral disc degeneration Spine 2006 in press.
- ##### 2. 学会発表
1. Sakai D, Iwashina T, Mochida J, et al. Activation of human nucleus pulposus cells with autologous mesenchymal stem cells-In vitro pre-clinical study for Transplantation of activated nucleus pulposus cells- The 51st Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (2005. 2. 29-23, Washington D. C.)
  2. Sakai D, Iwashina T, Mochida J, et al.

Investigation of factors that regulate mesenchymal stem cell differentiation to intervertebral disc cells. The 51st Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (2005. 2. 29-23, Washington D.C.)

3. Iwashina T, Sakai D, Mochida J, et al. Basic study on clinical application of cell transplanatation therapy for disc degeneration-investigation of reproducible canine nucleotomy models-. The 51st Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (2005. 2. 29-23, Washington D.C.)

4. Sakai D, Nakai T, Mochida J. Distinct expression of connective tissue growth factor in nucleus pulposus during maturation of intervertebral disc in the rat. The 52nd Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (2006. 3. 19-22 Chicago)

5. Omi H, Iwashina T, Mochida J, et al. Low-intensity pulsed ultrasound stimulation enhances production of TIMP1 from nucleus pulposus and MCP-1 from macrophage. The 52nd Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (2006. 3. 19-22 Chicago)

6. Hiyama A, Iwashina T, Mochida J, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells preserves signal changes of MRI in a canine disc degeneration model. The 52nd Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (2006. 3. 19-22 Chicago)

7. Watanabe T, Sakai D, Mochida J, et al. Combination of coculture system with mesenchymal stem cells and autologous platelet rich plasma significantly activates human nucleus pulposus cells. The 52nd Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (2006. 3. 19-22 Chicago)

8. Lee C, Grad S, Sakai D, Mochida J, et al. Comparison of gene expression profiles of nucleus pulposus , annulus fibrosus and

articular cartilage cells. The 52nd Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (2006. 3. 19-22 Chicago)

9. 酒井大輔、中井知子、持田譲治：ヒト髄核細胞の分化、調節における CTGF の機能解析について—細胞接着因子の発現変動から—, 第 21 回日本整形外科学会基礎学術集会 (2006. 10. 19-20 長崎)

10. 岩品徹、酒井大輔、持田譲治ほか：椎間板内細胞移植療法の臨床応用化に向けて, 第 21 回日本整形外科学会基礎学術集会 (2006. 10. 19-20 長崎)

11. 大見博子、渡邊拓也、持田譲治ほか：自家血小板血漿を含むフィブリンゲルをスキャフォールドに用いた髄核の体外培養法の有用性, 第 21 回日本整形外科学会基礎学術集会 (2006. 10. 19-20 長崎)

H. 知的財産権の出願・登録状況  
予定していない。

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

高齢者の腰痛症に係る効果的な診断・治療・リハビリテーション等の確立

分担研究報告書

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

分担研究者：武政龍一 高知大学医学部整形外科 講師

研究要旨：骨粗鬆症性椎体圧迫骨折は、高齢者の腰背部痛の原因となり Quality of Life を著しく障害する。我々は、骨伝導能を有するリン酸カルシウムセメント(CPC)を用いた椎体形成術を開発し、背部正中部を切開して傍脊柱筋を椎弓根部まで剥離する開創術式にて臨床導入していたが、この度更なる低侵襲化を目指して直径 18mm の円筒レトラクターを二つ使用して portal を作成して行う手術システムを専用手術器材とともに開発した。これまで椎体偽関節または遷延治癒 26 例 29 椎体に新術式を施行し、全例を prospective に調査した。手術時平均年齢は 81 歳(69～92 歳)、追跡期間は平均 7 ヶ月であった。平均出血量は 24ml と低侵襲であり、術前の腰背部痛 VAS (100mm 法) は平均 81mm が、最終調査時 11mm に著明に改善し、椎体楔状率は術前 24% が最終調査時 74% に矯正されていた。CPC の椎体外漏出は 1 例も無く、感染や神経合併症、肺塞栓などの重篤合併症も皆無であった。新術式は、従来法よりも低侵襲ながら、高齢者骨粗鬆症性椎体骨折後骨癒合不全症例に対して、従来法と変わらぬ安全性および臨床的有用性が確認された。

#### A. 研究目的

骨粗鬆症性椎体圧迫骨折は、高齢者の腰背部痛の原因となり Quality of Life を著しく生害する。特に骨折が骨癒合不全に陥ると耐え難い痛みが遷延するばかりでなく、遅発性に神経麻痺を招来する場合もあり、高齢者にとっては極めて侵襲の大きい脊柱再建術が従来は施行されてきた。我々はこのような高齢者の骨粗鬆症性椎体骨折偽関節などの骨癒合不全例に対し、骨伝導能を有するリン酸カルシウム骨セメント(CPC)を用いた椎体形成術を開発し、低侵襲性に治療を行ってきた。当初は背部正中部を約 6cm 皮膚切開後、傍脊柱筋を椎弓根部まで剥離する開創術式で行ってきたが、この度さらなる低侵襲化を目指して、直径 18mm の X 線透過性円筒レトラクターを 2 個、傍脊柱筋内椎弓根直上部に設置して 2 つの portal を確保し、その portal を介して椎体内壊死骨や瘢痕組織の搔爬処置を行って椎体内に空間を作成し、それを CPC

で充填するという Biportal 椎体形成術を、専用の手術器材とともにあらたに開発したので、症例を重ねて安全性および臨床的有用性について検証した。

#### B. 研究方法

2006 年 5 月以降、Biportal 法で椎体形成術を行った一連の椎体骨折偽関節または遷延治癒 26 例 29 椎体を prospective に調査した(追跡率 100%)。手術時平均年齢は 81 歳(69～92 歳)、追跡期間は平均 7.3 ヶ月であった。除痛効果を腰背部痛に対する Visual Analog Scale(VAS) 100mm 法で、椎体変形の整復効果を椎体楔状率すなわち椎体前縁高が後縁高に占める割合にてそれぞれ評価し、CPC の漏出などを含めた合併症発生頻度/安全性について調査した。

#### C. 研究結果

平均手術時間は 96 分、平均出血量は 24ml であ