

参考文献

- 1) Sakou T, Taketomi E, Matsunaga S, Yamaguchi M, Sonoda S, Yashiki S. Genetic study of ossification of the posterior longitudinal ligament in the cervical spine with human leucocyte antigen haplotype. *Spine* 16: 1249-1252, 1991.
- 2) Iwamoto Y, Tsukamoto N, Maeda K, Mira H, Hosokawa T, Harimaya K, et al. Effects of repetitive distraction stress on rat spinal ligaments: *in vivo* cell biological study. In: Nakamura K, ed, Annual Report of Researches on Ossification of the Spinal Ligament, The University of Tokyo, 2006, pp 65-70.
- 3) Baba H, Furusawa N, Fukuda M, Maezawa Y, Imura S, Kawahara N, et al. Potential role of streptozotocin in enhancing ossification of the posterior longitudinal ligament of the cervical spine in the hereditary spinal hyperostotic mouse (*twy/twy*). *Eur J Histochem* 41: 191-202, 1997.
- 4) Uchida K, Baba H, Maezawa Y, Furukawa S, Furusawa N, Imura S. Histological investigation of spinal cord lesions in the spinal hyperostotic mouse (*twy/twy*): morphological changes in anterior horn cells and immunoreactivity to neurotrophic factors. *J Neurol* 245: 781-793, 1998.
- 5) Kawaguchi H, Kurokawa T, Hoshino Y, Kawahara H, Ogata E, Matsumoto T. Immunohistochemical demonstration of bone morphogenetic protein-2 and transforming growth factor- $\beta$  in the ossification of the posterior longitudinal ligament of the cervical spine. *Spine* 17: S33-S36, 1992
- 6) Yayama T, Uchida K, Kobayashi S, Kokubo Y, Sato R, Nakajima H, et al. Thoracic ossification of the human ligamentum flavum: histopathological and immunohistochemical findings around the ossified lesion. *J Neurosurg Spine* 7: 184-193, 2007.
- 7) Sato R, Uchida K, Kobayashi S, Yayama T, Kokubo Y, Nakajima H, et al. Ossification of the posterior longitudinal ligament of the cervical spine: histopathological findings around the calcification and ossification front. *J Neurosurg Spine* 7: 174-183, 2007.
- 8) Sato T, Kokubun S, Tanaka Y, Ishii Y. Thoracic myelopathy in the Japanese: epidemiological and clinical observations on the cases in Miyagi Prefecture. *Tohoku J Exp Med* 184: 1-11, 1998.
- 9) Miyakoshi N, Shimada Y, Suzuki T, Hongo M, Kasukawa Y, Okada K, et al. Factors related to long-term outcome after decompressive surgery for ossification of the ligamentum flavum of the thoracic spine. *J Neurosurg* 99 (3 Suppl): 251-256, 2003
- 10) Yayama T, Baba H, Furusawa N, Kobayashi S, Uchida K, Kokubo Y, et al. Pathogenesis of calcium crystal deposition in the ligamentum flavum correlates with lumbar spinal canal stenosis. *Clin Exp Rheum* 23: 637-643, 2005.

## 脊柱靱帯骨化に対する Runx の作用に関する研究

分担研究者 四宮 謙一 東京医科歯科大学整形外科教授

**研究要旨** OPLL モデルマウス *ttw* マウスと *Runx2* 遺伝子欠損マウスを交配し異所性骨化への影響を検討した。*ttw* マウスでみられる異所性骨化は、*Runx2* ヘテロ欠損で軽減し、OPLL でみられる異所性骨化に *Runx2* の関与が示唆された。また、間葉系幹細胞からの効率的な骨芽細胞培養法を検討した。培養液中への持続的なデキサメサゾンの添加により、骨芽細胞のみならず脂肪細胞、軟骨細胞への分化が促進された。

### A. 研究目的

①後縦靱帯骨化症における *Runx* family の役割について明らかにする。②間葉系幹細胞からの効率的な骨芽細胞培養法を検討する。

### B. 研究方法

①OPLL モデルマウスである *ttw* マウスと *Runx2* ヘテロ欠損マウスとを交配、得られた二重変異マウスの骨化部位を  $\mu$  CT を用いて定量し、さらに組織学的に解析した。

②ヒト初代培養間葉系細胞を用いて、デキサメサゾンの存在下での骨芽細胞、軟骨細胞、脂肪細胞への分化を FACS、*in vivo* モデルを用いて定量的に検討した。

(倫理面での配慮)

本研究は学内動物実験委員会の承認のもと施行された。動物に侵襲的な操作を加えるときは規定の麻酔を用いて苦痛を軽減した。また、組織学的な検討では麻酔下で安楽死した動物より採取した臓器を用いた。

### C. 研究結果

①*ttw* マウスでみられる異所性骨化は、*Runx2* 遺伝子のヘテロ欠損 *ttw* マウスで軽減する傾向を認めた。組織学的にも石灰化部位が減少していた

②デキサメサゾン添加により間葉系細胞から骨芽細胞、軟骨細胞、脂肪細胞の各系統への分化がいずれも亢進した。デキサメサゾンはアルカリフォスファターゼ陰性のコロニーを選択的にアポトーシスを誘導した。

### D. 考察

①OPLL における異所性骨化には内軟骨性骨化が関与することが指摘されているが、詳細は不明である。OPLL モデルマウスの異所性骨化は、内軟骨性骨化に必須の *Runx2* 遺伝子のヘテロ欠損により軽減したことから、OPLL における異所性骨化には *Runx2* を介する内軟骨性骨化が関与することが考えられた。

②デキサメサゾンは分化能の低いコロニーを選択的に死滅させ、その結果、間葉系細胞の分化能が向上したと考えられた。

### E. 結論

OPLL でみられる異所性骨化において *Runx* family、特に *Runx2* の関与が示唆された。また、持続的なデキサメサゾン添加が間葉系細胞からの骨芽細胞分化、*in vivo* での骨形成を促進することが示された。

### F. 研究発表

1.論文発表

Oshina H, Sotome S, Yoshii T, Torigoe I, Sugata Y, Maehara H, Marukawa E, Omura K, Shinomiya K.

Effects of continuous dexamethasone treatment on differentiation capabilities of bone marrow-derived mesenchymal cells.

Bone. 2007 Oct;41(4):575-83

Runx2 Haploinsufficiency Ameliorates the Ectopic Calcification in a Mouse Model of Ossification of the Posterior Longitudinal Ligament (OPLL)

G. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)  
なし

## 2.学会発表

第 25 回日本骨代謝学会学術総会  
(2007. 7. 20)

岩崎牧子、竹田秀、佐藤信吾、木村文子、  
猪瀬弘之、四宮謙一

「後縦靭帯骨化症の骨化における Runx の意義—Runx1、Runx2 欠損マウスを用いた検討」

第 22 回日本整形外科学会基礎学術集会  
(2007. 10. 26)

岩崎牧子 竹田秀 佐藤信吾 木村文子  
猪瀬弘之 四宮謙一

「後縦靭帯骨化症の骨化機序における Runx 遺伝子の役割」第 22 回日本整形外科学会基礎学術集会 (2007. 10. 26)

吉井俊貴、早乙女進一、前原秀二、土谷明男、鳥越一郎、四宮謙一

「継代培養に伴う骨髄間葉系細胞の分化能低下とその指標について」

ASBMR 29th Annual Meeting in Honolulu,

Hawaii, 2007

S. Takeda, M. Iwasaki, S. Sato, A. Kimura,  
H. Inose, K. Shinomiya

## OPLL 細胞の骨化進展におけるプロスタグランジン I2 と c-fos の果たす役割

分担研究者 古川賢一 (弘前大学大学院・医学研究科・病態薬理学・准教授)

研究協力者 岸谷正樹、横山徹、沼沢拓也、藤哲 (弘前大学大学院・医学研究科・整形外科学)、植山和正 (弘前記念病院)、原田征行 (青森県立中央病院)

研究要旨 プロスタグランジン I2 (PGI2) ならびに c-fos 遺伝子の後縦靭帯骨化症の進展における役割を患者組織由来の靭帯細胞を用いて検討した。PGI2 刺激による c-fos 転写活性の上昇は OPLL 細胞と Non-OPLL 細胞で差は認められなかった。一方、PGI2 刺激によって OPLL 細胞でアルカリフォスファターゼ(ALP)活性が著明に上昇するのに対して、Non-OPLL 細胞では変化はみられなかった。しかし、c-fos 遺伝子を過剰発現させた Non-OPLL 細胞では OPLL 細胞と同等以上に ALP 活性の上昇がみられた。従って、OPLL 細胞の PGI2 に対する骨化応答は、Non-OPLL に比して発現増大した c-fos の活性化を介することが示唆された。

### A. 研究目的

脊柱後縦靭帯骨化症(OPLL)の病因にかかわる局所因子のひとつとしてメカニカルストレスの重要性が示唆されている(1, 2)。メカニカルストレスが OPLL 細胞に加わると種々の骨化関連遺伝子の発現が亢進する(2,3,4)。その一つであるサイトカイン PGI2 は OPLL 細胞内カルシウム濃度のオシレーションを惹起し、その抑制は骨化関連遺伝子の発現も抑制することから、OPLL 進展に重要な役割を果たすことが示唆された(5,6)。そこで本研究ではその機序を解明し、OPLL 進展における意義を検討することを目的とした。

### B. 研究方法

#### 1. 細胞

術中に摘出した OPLL 患者、非 OPLL 患者の脊柱靭帯組織より、outgrowth 法にて靭帯細胞を単離し、10%FBS 添加 DMEM 培地中で 37°C、5%CO<sub>2</sub> 気相下で培養し、継代 5 代目の細胞を実験に供した。

#### 2. c-fos 遺伝子の導入

ヒト osteosarcoma cell line SaSO2 か

らゲノム DNA を抽出し、c-fos 遺伝子の上流プロモーター部位を 5'-RACE にて決定し、その配列を TOPO Reporter kit (Invitrogen pGlow TOPO TA Expression Kit)に組み込み、靭帯細胞にトランスフェクトし、c-fos 活性化を GFP の発現の蛍光強度によって解析する系を構築した。また同じく SaSO2 の total RNA から c-fos mRNA を PCR 増幅し、それを pCMV-XL4 発現ベクターに組み込み、靭帯細胞にトランスフェクトして、c-fos 過剰発現システムを構築した。

#### 3. 遺伝子発現解析

靭帯細胞から全 RNA を抽出し、RT-real time PCR 法により、遺伝子発現を定量的に解析した。

#### 4. 試薬

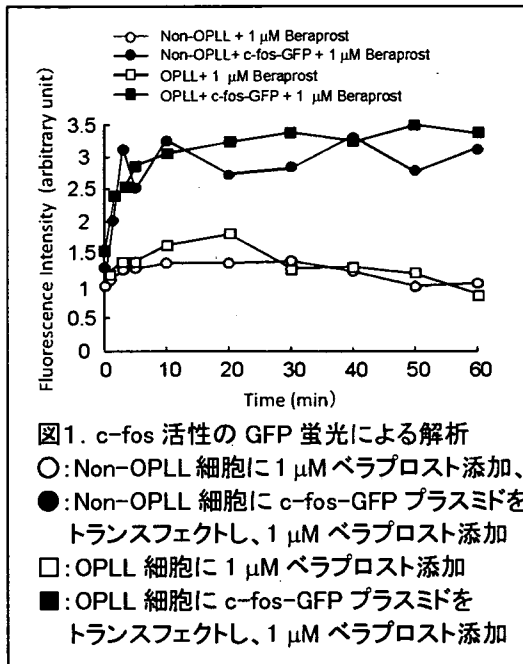
PGI2 は加水分解され易く、不安定なため、その安定化アナログであるベラプロストを PGI2 の添加実験に使用した。

(倫理面での配慮)

弘前大学医学部倫理委員会の規定に基づき、患者への十分なインフォームド・コンセントを行った。

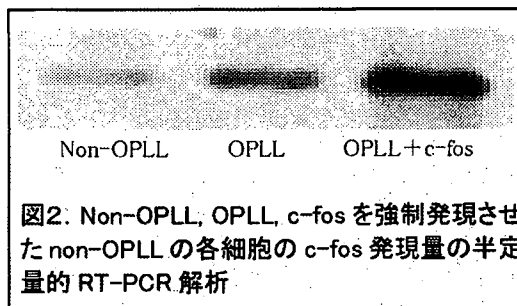
C. 研究結果

図1に示すように、Non-OPLL 細胞(靱帯



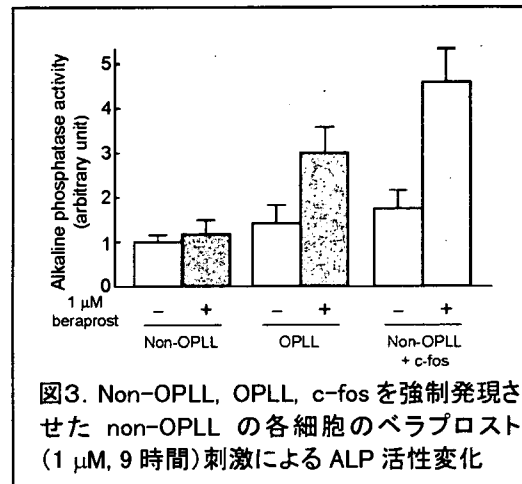
骨化が認められない頸椎症性脊髄症患者の靱帯組織由来の対照の細胞)および OPLL 細胞に c-fos-GFP レポーターシステムを導入して、1 μM の PGI<sub>2</sub> の安定化誘導体ベラプロストで刺激したところ、両細胞でもともに GFP の蛍光が増大し、60 分間そのレベルは持続し、そのレベルに差はなかった。

次に pCMV-XL4 発現ベクターに c-fos 遺伝子を組み込み、Non-OPLL 細胞に導入した。図2は c-fos を強制発現させた Non-OPLL 細胞の c-fos 発現量を対照細胞(未導入 non-OPLL 細胞、OPLL 細胞)のものと共に、RT-PCR で確認した結果を示している。



c-fos 遺伝子未導入の Non-OPLL 細胞における c-fos 発現レベルは OPLL 細胞のそれより著明に低かった。c-fos を強制発現させた Non-OPLL 細胞では、c-fos のメッセージが著明に増加し、OPLL と同等以上となった。

次いでこの細胞をベラプロストで刺激し、アルカリフォスファターゼの活性変化を検討した(図3)。



OPLL 細胞はベラプロストに反応して、アルカリフォスファターゼ活性が約 2 倍増加するのに対して、対照の Non-OPLL 細胞は有意な変化は示さなかった。しかし、c-fos を強制発現させた Non-OPLL 細胞では OPLL と同程度にベラプロストによって同活性が増加した。

D. 考察

我々は、PGI<sub>2</sub> 添加で、OPLL 細胞に特異的に骨化関連遺伝子の発現が増大し、かつカルシウムオシレーションが起こることを報告した(5,6)。OPLL 細胞と non-OPLL 細胞の間で、PGI<sub>2</sub> の受容体発現量に有意な差は認められないことから、両細胞間の PGI<sub>2</sub> に対する応答の違いは細胞内情報伝達レベルに差異があると推定された。一方、T 細胞、B 細胞におい

て、細胞内カルシウムのオシレーションが c-fos の活性化を促すことが報告されている(7)。そこで、今回 c-fos の発現レベルに原因があるという仮説を検証することにした。まずカルシウムオシレーションを起こす濃度の PGI2 アナログ(ベラプロスト)によって、Non-OPLL、OPLL 細胞で同程度に c-fos 遺伝子の活性化が惹起されることを確認した(図1)。ついで c-fos 遺伝子発現レベルを RT-PCR で解析したところ、c-fos 発現レベルは OPLL が Non-OPLL よりも高かった。そこで Non-OPLL 細胞に c-fos を過剰発現させ、PGI2 に対する応答が亢進するかどうかを検討した(図3)。元の Non-OPLL 細胞では PGI2 添加が ALP 活性に影響を与えなかったのに対して、c-fos 遺伝子を強制発現させた Non-OPLL 細胞では OPLL と同等以上に ALP 活性亢進が認められた。従って、OPLL 細胞における PGI2 による骨化関連遺伝子発現の亢進は、c-fos 発現亢進で説明できることが示された。

#### 結論

OPLL 細胞における c-fos 遺伝子の発現レベルは Non-OPLL 細胞におけるそれより高かった。また Non-OPLL 細胞において c-fos 遺伝子を過剰発現させると、PGI2 に対する応答性を獲得し、骨化マーカーとしての ALP 活性が OPLL 細胞と同等以上に更新した。PGI2 による c-fos 活性化機構が、OPLL における骨化進展に重要な役割を果たしていることが示唆された。

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Furukawa K-I. Current topics in pharmacological research on bone

metabolism: molecular basis of ectopic bone formation induced by mechanical stress. *J Pharmacol Sci* 2006;100:201-204.

- 2) Tanno M, Furukawa K-I, Ueyama K, Harata S, Motomura S. Uni-axial cyclic stretch induces osteogenic differentiation and syntheses of bone morphogenetic proteins of spinal ligament cells derived from patients with ossification of the posterior longitudinal ligaments. *Bone* 2003;33:475-484.
- 3) Iwasawa T, Iwasaki K, Okada A, Ueyama K, Motomura S, Harata S, Inoue I, Toh S and Furukawa K-I. Pathophysiological role of endothelin in ectopic ossification of human spinal ligaments induced by mechanical stress. *Calcif Tissue Int* 2006;79:422-430.
- 4) Sawada T, Kishiya M, Kanemaru K, Yokoyama T, Ueyama K, Motomura S, Toh S and Furukawa K-I. Possible role of extracellular nucleotides in ectopic ossification of human spinal ligaments. *J Pharmacol Sci* 2008;106:1-10.
- 5) Ohishi H, Furukawa K-I, Iwasaki K, Ueyama K, Okada A, Motomura S, Harata S, Toh S. Role of prostaglandin I<sub>2</sub> in the gene expression induced by mechanical stress in spinal ligament cells derived from patients with ossification of the posterior longitudinal ligament. *J Pharmacol*

*Exp Ther* 2003;305:818-824.

- 6) 古川賢一 他. 平成 17 年度 OPLL 研究班報告書
- 7) Fujii T, Kawashima K. Ca<sup>2+</sup> oscillation and c-fos gene expression induced via muscarinic acetylcholine receptor in human T- and B-cell lines. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2000;362:14-21.

## 2. 学会発表

- 1) Kishiya, M, Sawada T, Kanemaru K, Numasawa T, Yokoyama T, Motomura S, Toh S, Furukawa K-I. A functional RNAi screening for Runx2-regulated genes corresponding to ectopic bone formation in human spinal ligaments. Bone Research Society Annual Meeting, Aberdeen, UK, 2007.
- 2) Kishiya, M, Sawada, T, Kanemaru, K, Numasawa, T, Yokoyama, T, Motomura, S, Toh, S, Furukawa K-I Gene profiling using oligo DNA microarray -Runx2 inhibition by RNA interference in fibroblast like cell derived Paraspinal ligament-. 53rd Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society, San Diego, CA, USA, 2007
- 3) Numasawa, T, Kishiya, M, Sawada, T, Yokoyama, T, Ono, A, Wada, K, Furukawa K-I, Toh, S. Osteogenic differentiation of skin-derived precursor cells and spinal ligament cells in the patients with ossification of the longitudinal ligaments of the spine. 53rd Annual Meeting of the Orthopaedic

Research Society, San Diego, CA, USA, 2007.

- 4) 岸谷正樹、古川賢一、瀬谷和彦、沢田利匡、金丸幸太、元村成. 脊椎靭帯の異所性骨化において Runx2/Cbfa1 によって調節される遺伝子の同定 第80回 名古屋 平成19年3月
- 5) 岸谷正樹、金丸幸太、工藤、沼沢哲也、横山徹、元村成、籾哲、古川賢一 後縦靭帯骨化症(OPLL)骨化進展における血管因子と骨軟骨因子の関連. 第25回 大阪 平成19年7月

## F. 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

### 3.その他

なし

# Zucker fatty rat 脊柱靱帯におけるインスリン-IGF-I シグナルの役割

主任研究者 中村 耕三 東京大学整形外科学教室 主任教授

## 分担研究者

山藤崇 (東京医科大学整形外科学教室) 馬嶋正和 (東京医科大学整形外科学教室)  
久保宏介 (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)  
山本謙吾 (東京医科大学整形外科学教室 主任教授)

**研究要旨** インスリン-IGF-1 シグナルの骨形成作用が肥満環境下にて脊柱靱帯骨化症の異所性骨化に及ぼす影響について検討した。遺伝的にレプチンの受容体機能異常を有する Zucker Fatty Rat (ZFR) を実験動物として使用し、今回作製した高インスリン血症を呈する Monosodium glutamate (MSG) 処置 Rat を対照動物として使用した。病理組織学的には、ZFR では線維輪の破綻と脊柱靱帯 enthesis 部に肥大軟骨細胞を多数認めたのに対し、MSG 処置 Rat では軟骨終板の不整を認めるのみで線維輪構造は保たれていた。また、ZFR の靱帯 enthesis 部には IRS-1 陽性細胞の増加と IRS-1、ERK42/44MAPKinase の蛋白発現の増加を認め、MSG 処置 Rat においては IRS-2 陽性細胞数の増加と PI3Kinase 蛋白の発現を認めた。ZFR の脊柱靱帯部にはレプチンによる IRS-2 を介した骨化調節作用の欠如が関与し、主に IRS-1 を介した細胞増殖作用の亢進により靱帯骨化来たす可能性が示唆された。

## A 研究目的

当教室においては、これまでレプチン受容体遺伝子異常を有し、脊柱靱帯骨化モデルである Zucker Fatty Rat (ZFR) を使用して OPLL の骨化機序の解明に基礎的研究を行ってきた。すなわち、ZFR の骨化様式は軟骨性骨化を主体とし脊柱靱帯 enthesis 部を中心に軟骨細胞の増殖と軟骨基質の形成を認めること<sup>1)</sup>。本症に臨床、血糖能異常を合併する例が多く、ZFR が成人発症型糖尿病に類似した臨床症状を呈するモデルラットであり、インスリンの生理作用として糖代謝作用の他に細胞増殖作用・骨形成促進作用があることに着目し ZFR の脊柱靱帯骨化は高インスリン血症下におけるインスリン-IGF-1 (insulin-like growth factor-1) シグナルを介した細胞増殖作用が関与していることなどを報告してきた<sup>2)</sup>。さらに L-グルタミン酸ナトリウム塩 (Monosodium L-glutamate; MSG) を投与することにより、摂食中枢である視床下部腹内側核を破壊させ、レプチン抵抗性の高インスリン血症を呈する Wistar 種 Rat を対照として作製し、インスリンの靱帯骨化に及ぼす影響について検討してきた。さらに近年、抗肥満作用及びインスリン感受性増強作用を持つレプチンの代謝作用が解明されつつある。レプチンはインスリン感

受性を亢進させることで糖、脂質代謝などエネルギー代謝を担う他、長官骨や椎体の成長軟骨板に動き骨形成に関与することが報告されており、インスリンとの共通経路が注目されている。これらをふまえ、このレプチン受容体機能異常を持ち、単純劣性遺伝子であるレプチン受容体遺伝子 (fa) の劣性ホモ接合体 (fa/fa) である ZFR に、今回、我々は新たにヘテロ接合体 (Fa/fa) および優性ホモ接合体 (Fa/Fa) である Non Fatty Rat (NFR) に MSG 投与し MSG 処置 Rat を作製し、高インスリン血症における、後縦靱帯のインスリン-IGF-I シグナルならびにレプチンシグナルの関与を検討した。

## B 研究方法

実験動物はレプチン受容体遺伝子 (fa) の劣性ホモ接合体であり靱帯骨化モデルである ZFR (fa/fa) 群に、優性ホモ接合体である NFR (Fa/Fa) 群、さらに NFR の新生仔ラットに、MSG (和光純薬工業) を出生日より5日間 体重1gあたり4mgを皮下投与し視床下部腹内側核摂食中枢を破壊したMSG群の3群で、各群とも1ヶ月で離乳させ、温度、湿度、照明時間を一定の条件下に飼育、生後10~12ヶ月齢の雄、各群20匹を使用した。生産方法は、劣性ホモ接合体 (fa/fa) 性別機能不全



のため不妊でありヘテロ接合体 (Fa/fa) を交配させ産生した。L 型アミノ酸である MSG は新生仔期マウスに投与することにより、摂食中枢である視床下部弓状核の変性壊死を来し、過食の結果、肥満を呈し、視床下部におけるレプチン抵抗性、および交感神経機能低下を生じ、高レプチン、高インスリン血症を呈すること<sup>3)</sup> が報告されており、Rat においても同様の病態を生じることが知られている。4%paraformaldehyde にて環流固定後、上位胸椎を摘出、矢状断薄切パラフィン切片を作製し、病理組織学的に HE 染色、さらにヒストファイン SAB-PO キット (ニチレイ社製) を用い LsAB 法にて、1 次抗体はインスリン受容体基質 (IRS : insulin receptor substrate) 1 と 2 (Santa Cruz 社) を使用し免疫組織染色を行った。評価方法は、脊柱靭帯付着部にて一定条件下、陽性細胞数を NIH Image を用いカウントし、各 2 群間を unpaired T 検定にて比較した。また、別検体各群 20 匹を同様の処置にて、上位胸椎脊柱靭帯付着部および椎間板を摘出、ホモゲナイズ処理し蛋白を注出、蛋白濃度を Bio-Rad Protein assay 染色液 (Bio-Rad Laboratories) にて bovine serum albumin 溶液を標準液として測定した後 SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動にかけ、polyvinylidene difluoride membrane (PVDF メンブラン : Millipore Corp) に Western Blotting 法にて転写させた。一次抗体は IRS-1, 2 (Santa Cruz 社)、PI3kinase p85, ERK42/44MapKinase (cell signalling 社) を用い、蛋白定量化を行った。

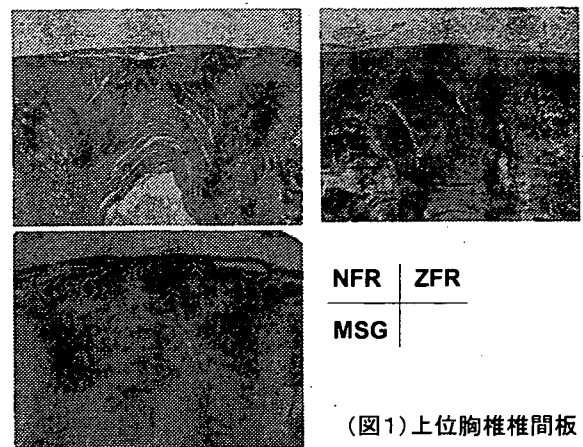
#### 〈倫理面への配慮〉

東京医科大学動物倫理委員会の規定に基づき実験を施行した。

### C 結果

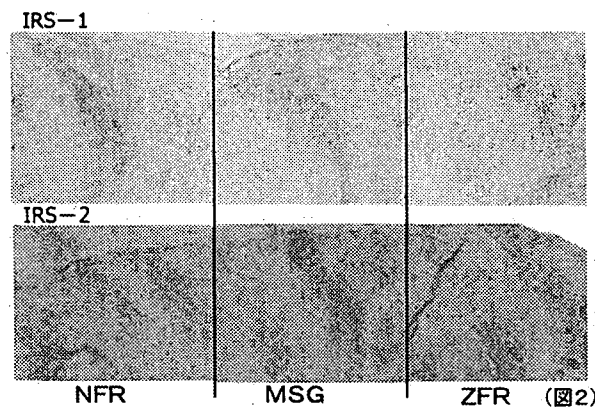
#### I 病理、免疫組織学的所見

3 群の上位胸椎椎間板の矢状断 HE 染色を示す。ZFR 群では線維輪の破綻、弾性繊維の変性、軟骨終板及び靭帯付着部に骨芽細胞の出現と石灰化を認めた。靭帯付着部境界は不明瞭、軟骨終板の肥厚と肥大軟骨細胞の増加を認める。他の 2 群の線維輪構造は保たれている (図 1)。

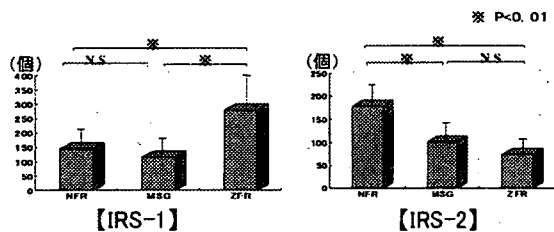


(図 1) 上位胸椎椎間板

抗インスリン受容体基質-1 抗体染色では ZFR 群の破綻した繊維輪部と靭帯付着部、軟骨終板の肥大軟骨細胞に陽性細胞を認める。MSG 群では繊維輪内の陽性細胞の軽度増加を NFR 群と比べ認める。抗インスリン受容体基質-2 抗体染色においては、コントロール群である NFR 群では線維輪内に陽性細胞を認めたが、ZFR 群では陽性細胞数の減少がみられた。MSG 群では疎ではあるが、一部線維輪及び軟骨終板部に陽性細胞を認める (図 2)。



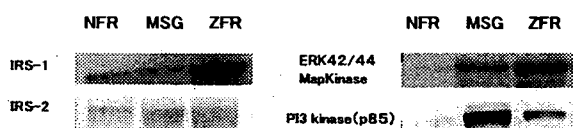
これら各群の靭帯付着部、同一部同面積における陽性細胞数を NIH Image を使用し、unpaired T 検定 (信頼区間 95%) にて比較検討した。結果、IRS-1 陽性細胞数では、ZFR 群において NFR 及び MSG 群の 2 群と比し有意な増加を認めた。IRS-2 陽性細胞数の検討では、ZFR 群、MSG 群の順に陽性細胞数は減少し、NFR 群と比し各々有意であり、また ZFR 群は MSG 群と比べても有意な陽性細胞数減少を認めた (表 1)。



(表2) NIH image

## II Western Blotting

Western Blotting では ZFR 群において IRS-1 の蛋白発現量は他の 2 群に比べ多く、一方で IRS-2 蛋白は 3 群とも蛋白発現は認めるものの、3 群間の差は明らかでなかった。ERK42/44MapKinase では ZFR、MSG 群に蛋白発現を認め、その発現は ZFR 群に多かった。また、PI3kinase では MSG 群に蛋白発現を多く認めた (図 3)。



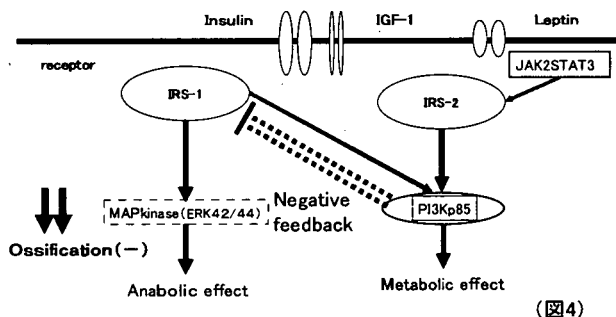
(図3) Western Blotting

## D 考察

OPLL 患者には耐糖能異常を合併するものが多いと指摘<sup>4)</sup> がなされ、また、肥満症の合併や全身的に骨量が高い傾向にあることが報告されており、その発症には何らかの全身素因の関与が示唆されてきた<sup>5)</sup>。インスリンは筋肉・肝臓・脂肪を標的とする血糖降下作用ホルモンであるが、一方で骨形成として骨同化作用をもつ事も知られている<sup>6)</sup>。また、IGF-1 はインスリンと相同性を持つ増殖因子で、成長ホルモンが肝臓に作用して分泌される全身性のものの他、局所的に骨芽細胞および成熟軟骨細胞から分泌され骨形成を促進することが報告<sup>7)</sup> されており、インスリンとならび重要な骨代謝調節因子として知られている。また、インスリン受容体基質 (IRS) には IRS-1 から IRS-4 というそれぞれ異なった遺伝子にコードされる 4 つのイソフォームが存在し、インスリン作用発現には IRS-1、IRS-2 が主要な役割を果たすと考えられている。IRS-1 および IRS-2 は比較的広範な組織分布を示すが、主に IRS-1 は骨格筋で IRS-2

は視床下部、肝でのインスリン作用に関与し糖代謝作用を調節している。一方で IRS は骨代謝作用も有し、阿久根らによると、IRS-1、2 のノックアウトマウスを用いた研究から IRS-1 は骨芽細胞において、骨形成、骨吸収の両者に対して促進的に働き、骨代謝回転の維持を担うが、IRS-2 は骨形成に促進的に骨吸収には抑制的に働き、骨同化作用のバランスを保つ作用があり、インスリン-IGF-I シグナルの骨形成作用を有する伝達は主に IRS-1 を介していることを明らかとした<sup>8)</sup>。以上より高インスリン血症下において、この強力な骨形成作用を有するインスリン-IGF-I シグナルは亢進し、共通経路を介して脊柱靭帯 entheses 部の骨芽細胞および肥大軟骨細胞に作用し骨化をきたすと考えられる。木村らは MSG 処置 Wistar 種 Rat の脊柱靭帯に明らかな変化を認めないことを報告<sup>9)</sup> し、高インスリン血症のみでは、異所性骨化を発生させるには不十分であることを指摘している。今回の実験結果から高インスリン血症下、レプチン不応性のない MSG 処置 Rat の脊柱靭帯細胞に骨化を認めないのに対し ZFR に靭帯骨化の前段階であると考えられる繊維輪の破綻や entheses 部に肥大軟骨細胞の増加を認めたことは ZFR の脊柱靭帯部細胞におけるレプチンシグナルに対する感受性の差異がインスリン-IGF-I シグナルに何らかの影響を及ぼしていると考えられた。当教室が保有する ZFR は II 型糖尿病モデルとしても知られている。レプチンは肥満細胞から分泌されるホルモンであり、視床下部のレプチン受容体を介して摂食、エネルギー消費を制御している。レプチン抵抗性は肥満をきたし、インスリン感受性を低下させることが知られているが、IRS-2 ノックアウトマウスを用いた実験からレプチンの視床下部における摂食の調整が IRS-2 を介する事を報告し、末梢においても IRS-2 を介したインスリン調節作用と関連しているとしており、OPLL の骨化にはインスリン受容体器質である IRS-1 と IRS-2 が深く関与し、レプチンシグナルもその IRS を介し骨化に関わる可能性が指摘されている。今回、免疫組織学的検討にて、ZFR 脊柱

靱帯部を中心に IRS-1 陽性細胞の増加と IRS-1、ERK42/44MapKinase 蛋白発現量の増加を認めたことは、インスリン-IGF-1 シグナルとくに細胞増殖作用の亢進を示唆する結果であり、一方、MSG 処置 Rat 靱帯細胞において IRS-2 陽性細胞数の増加と PI3kinase 蛋白発現増加は IRS-2 を介したレプチンシグナルの伝達が IRS-1 以下の細胞増殖作用に働き、骨化を調節している可能性が示唆された。すなわち、MSG 脊柱靱帯において、インスリン-IGF-1 シグナルは主に IRS-1 を介した経路により PI3Kp85 以下の代謝作用と MAPK 以下の細胞増殖を担っている。高インスリン血症下、そのシグナルは亢進傾向にあるが、MSG Rat において、高レプチン血症下、IRS-2 を介したレプチン作用は、PI3Kp85 をさらに活性化し、ネガティブフィードバックという形で、亢進した IRS-1 シグナルに働き、結果、IRS-1、MAPK 経路を介した細胞増殖作用は調節され、骨化は来たしにくいと考えられる (図 4)。



(図4)

一方、ZFR では、高レプチン血症下においてもレプチン受容体の機能異常により、そのシグナルは欠如し PI3Kp85 の活性化によるネガティブフィードバック機構は低下し、結果、IRS-1、MAPK 経路を介した細胞増殖作用は亢進し靱帯骨化に至ると推測され、同程度の高インスリン血症、並びに高レプチン血症下においても、このレプチン受容体を介した靱帯細胞の感受性の差異が骨化に影響を及ぼしていると考えられた。

#### E 結論

ZFR の靱帯 entheses 部には IRS-1 陽性細胞の増

加と IRS-1、ERK42/44MAPKinase の蛋白発現の増加を認め、MSG 処置 Rat においては IRS-2 陽性細胞数の増加と PI3Kinase 蛋白の発現を認めた。ZFR の脊柱靱帯部にはレプチンによる IRS-2 を介した骨化調節作用の欠如が関与し、主に IRS-1 を介した細胞増殖作用の亢進により靱帯骨化来たす可能性が示唆された。

#### F 研究発表

##### 1. 論文発表

東京医大大学雑誌 65 巻 2 号 (2007. 04)

##### 2. 学会発表

##### 3.

2007 年 Combined Meeting of the Orthopaedic Research Societies

2007 年 日本脊椎脊髄病学会

2006 年 関東整形災害外科学会

#### H 知的財産権の出願・登録状況

なし

#### 《参考文献》

- 1) 三浦幸雄ら : Zucker fatty rat における脊柱靱帯骨化 整形外科 44 : 1107-1113, 1993
- 2) 山本謙吾 : Zucker fatty rat における脊柱靱帯骨化 THE BONE Vol. 16 No. 3 2002-5
- 3) Olney, J. W. : Brain lesion, obesity and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. Science 164 719-721 1969
- 4) Shingyouchi Y, Nagahama A, Niida M: Ligamentous ossification of the cervical spine in the late middle-aged Japanese men; its relation to body mass index and glucose metabolism. Spine 21: 2474-2478, 1996
- 5) Kawaguchi H, Kurokawa T, Kodama Y: Metabolic background of ossification of the posterior longitudinal ligament. in OPLL: Ossification of Posterior Longitudinal Ligament. ed by Yonenobu K, Sakou T, Ono K. Tokyo, Springer-Verlag, 73-77, 1997

6) Thomas DM, Hards DK, Rogers SD, et al: Insulin receptor expression in bone. J Bone Miner Res 11:1312-1320, 1996

7) 緒方直史: IRSと骨代謝 内分泌・糖尿病科 19巻2号, 164-169, 2004

8) Akune T. et al: Insulin receptor substrate-2 maintains predominance of anabolic function over catabolic function of osteoblasts. J Cell Biol 159 147-156, 2002

9) 木村大: Zucker 遺伝性肥満ラットおよび Monosodium glutamate 投与肥満ラットにおける骨化関連因子の発現 東京医科大学雑誌 62巻3号 253-260 2004

## 黄色靱帯の肥厚・骨化メカニズムに関する研究

分担研究者 安井 夏生 徳島大学大学院運動機能外科学教授

### 研究要旨

黄色靱帯の肥厚のメカニズムを、手術切除標本を用いて組織学的に検討した。その結果、加齢に伴う弾性線維の減少とコラーゲン線維が中心であり、軟骨化生も一因となっていると考えられた。黄色靱帯骨化患者では同じ過程を経たのち、さらに軟骨化生から骨化へ進行する可能性がある。

### A. 研究目的

黄色靱帯の骨化メカニズムはいまだ解明されていない。臨床的には肥厚とは異なると考えられてはいるが、肥厚そのもののメカニズムも不明である。本年度の研究は、黄色靱帯の組成の年齢的な変化について検討した。

### B. 研究方法

胎児(1例)および、手術時に採取した若年(5例)、高齢者(5例)の腰椎黄色靱帯を組織学的に検討した。染色は、HE、Truidine blue、Alcian bule、Masson Trichrome、Elastica van Gieson、II型コラーゲンに対する免疫染色を用いた。

(倫理面での配慮)

手術材料の使用にあたっては、大学内の倫理委員会で審査、承認を得た上で、本人に同意を得た。

### C. 研究結果

組織学的検討:胎児では弾性線維は黄色靱帯全面積の75%を占めていた。この所見は硬膜側では若年、高齢者でも同様であった。この面積は背側では年齢が上がるにつれ減少していた。弾性線維が見られない部分の約1/2では軟骨様細胞が出現していた。この部分はTruidine blueで異染性を示し、Alcian buleで染色され、II型コラーゲン陽性であったことより、軟骨化生が起こっていることがわかった。残りの部分ではMasson Trichromeで染色

され、瘢痕形成が疑われた。

### D. 考察

加齢による黄色靱帯の肥厚のメカニズムは、背側での弾性線維の減少とコラーゲン線維が中心であり、軟骨化生も一因となっていると考えられた。黄色靱帯骨化患者では同じ過程を経たのち、さらに軟骨化生から骨化へ進行する可能性がある。

### E. 結論

加齢による黄色靱帯の肥厚に軟骨化生も関与している。

### F. 研究発表

#### 1.論文発表

Kosaka H, Sairyo K, Biyani A, Leaman D, Yeasting R, Higashino K, Sakai T, Katoh S, Sano T, Goel VK, Yasui N. Pathomechanism of loss of elasticity and hypertrophy of lumbar ligamentum flavum in elderly patients with lumbar spinal canal stenosis. Spine 2007; 32(25): 2805-2811

### G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## 脊柱靱帯骨化症の非酵素的糖化反応に関する研究

分担研究者 永田 見生 久留米大学整形外科教授

研究要旨 細胞がエネルギー源としている血糖や還元糖はタンパク質と非酵素的に反応してその機能を失わせ、中間体ジカルボニル化合物や AGEs (Advanced Glycation Endproducts) を産生し、様々な病態を発症させる。脊柱靱帯骨化症のプロテオミクスから糖タンパク質を発見した。この低分子の抑制化合物の研究は、臨床的にも疾患予防のために有意義である。

### A. 研究目的

2000年、我々は長期のグルコース曝露によってグリケーション反応が進行し、骨組織が影響を受けることを発見した<sup>1</sup>。血液中の糖は生体内のタンパク質と反応し、AGEs を作り出すが、AGEs は分解されにくく、RAGE (AGE レセプター) を介し生体に悪影響を及ぼす。2007年、AGE は生体内で合成されるのではなく、食品に由来するとの報告があった<sup>2</sup>。我々は、生体内で高血糖状態が続くことで加齢に伴い AGEs の蓄積が早いスピードで進み、靱帯骨化が起こるメカニズムを解明し、OPLL 患者のプロテオーム解析から疾患特異的な糖タンパク質を発見し、それから合成された抑制化合物が、後縦靱帯骨化症の発症予防になることを目指す。

### B. 研究方法

脊柱靱帯骨化症は、糖尿病の合併が多く、糖負荷試験が行われたOPLL患者711例中17.7%が境界型、26.3%が糖尿病型であった。OPLL患者を発端者とする347家系1,030名のX線検査で237名23.01%にOPLLを証明されている<sup>3</sup>。

非酵素的糖化反応による靱帯の骨化に及ぼす影響を発現遺伝子レベルでの解析を行った(表 1)。OPLL 患者の黄色靱帯骨化組織の AGEs とそのレセプターの免疫組織化学染色により発現局在

Patient No.	Sex/Age (yrs)	Diagnosis	Region of Yellow Ligament Tissue
1	F/60	Th-OPLL	C5/6
2	F/48	C-OPLL	C5/6
3	M/50	C-OPLL	C5/6
4	F/71	C-OPLL	C5/6
5	M/51	C-OPLL	C5/6

C indicates cervical spine; F, female; M, male; OPLL = ossification of posterior longitudinal ligament; Th, thoracic spine.

表 1. 対象 OPLL 組織プロファイル  
を、リアルタイムイム PCR で、*BMP-2*、*BMP-7*、アルカリホスファターゼ、骨芽細胞に特異的な転写制御因子 1 (*Cbfa1*) の mRNA 濃度を定量した。

また、OPLL20例、年齢 54-79 歳、OPLL 合併糖尿病 2 例、健常者 9 例年齢 54-79 歳の血清プロテオミクスを行い、OPLL 特異的なタンパク質を発見し、逆相高速液体クロマトグラフィーから疾患特異的なタンパク質を精製し、アミノ酸の構造解析中である。

### C. 研究結果

免疫組織化学的染色では、AGEs とそのレセプターが靱帯骨化の発現に組織学的に局所化されることが分かった。AGE 1 μg/mL 投与で、*BMP-2*、*BMP-7*、*Cbfa1* の mRNA の有意的な増加を示し、その結果、オステオカルシンの発現増加が示された。これらから、靱帯骨化の発症過程で AGEs が関与することが示唆された。

血清プロテオミクスは、プロテインチップを使用したプロテオームのクロマトグラフィー分画と TOF MS分析を組み合わせ、血清をProtein Chip アレイに直接固定し、Protein Chip バイオマーカーシステムを使用して、SELDI-TOF MSプロファイリングにより分析をおこなった。Protein Chip アレイの作製には、特異的結合バッファーによる Protein Chipの平衡化、洗浄、検体のスポッティング、振盪培養、洗浄、短時間の乾燥、ならびにエネルギー吸収分子（マトリックス）の塗布を行った。

#### D. 考察

AGEs 阻害剤アミノグアニジン、糖とタンパク質の結合切断メチル-3-フェナチルチアゾリウム、OPB-9195、ビタミン B6 による AGE 阻害活性が解っている。AGE は血管内皮細胞、マクロファージ上の受容体に結合し、TNF- $\alpha$ 、IL-1 の炎症性サイトカイン、TGF- $\beta$  増殖因子の産生を促進させる。その結果、細胞外基質の AGE 化が進行し、細胞外基質の増加が発症する。AGE 阻害剤は AGE 形成阻害を介し、TNF- $\beta$  の産生を抑制し、疾患の発症を抑えることが考えられる。また、酸化 LDL を細胞内に取り込むスカベンジャー受容体の遺伝子 *FEEL-1* は、AGE を取り込むことが解っている。

我々が発見した OPLL 特異的タンパク質には糖鎖修飾作用が関与しており、疾患の発現に重要な因子であることが示唆される。このアミノ酸構造解析から *In Silico* 創薬解析、抑制化合物の合成を行い、この OPLL 特異的タンパク質の抗体作製から靭帯骨化の発現メカニズムの解明を行い、将来、靭帯骨化を抑制する製剤の開発を行い、OPLL の治療薬を作成したい。

#### E. 結論

非酵素的な糖化反応による翻訳後修飾が脊柱靭帯骨化症の発現に直接的な生理機能と密接に関与している。

#### F. 研究発表

##### 論文発表

1. Immunohistochemical demonstration of advanced glycation end products and the effects of advanced glycation end products in ossified ligament tissues in vitro. Yokosuka K, Park JS, Jimbo K, Yoshida T, Yamada K, Sato K, Takeuchi M, Yamagishi S, Nagata K. Spine. 2007 May 15;32(11):E337-9.
2. Advanced glycation end-products downregulating intervertebral disc cell production of proteoglycans in vitro. Yokosuka K, Park JS, Jimbo K, Yamada K, Sato K, Tsuru M, Takeuchi M, Yamagishi S, Nagata K. J Neurosurg Spine. 2006 Oct;5(4):324-9.
3. Advanced glycation end-products attenuate human mesenchymal stem cells and prevent cognate differentiation into adipose tissue, cartilage, and bone. Kume S, Kato S, Yamagishi S, Inagaki Y, Ueda S, Arima N, Okawa T, Kojiro M, Nagata K. J Bone Miner Res. 2005 Sep;20(9):1647-58. Epub 2005 May 23.

##### 学会発表

1. 第 13 回日本軟骨代謝学会 ヒト椎間板ヘルニアとヒト胎児脊椎原細胞の AGEs の影響 西田俊晴、津留美智代、自見厚郎、堀内正公、上野隆登、佐田通夫、永田見生、吉塚光明 2000 年 3 月 3 日～3 月 4 日、はまぎんホールヴィアマーレ 横浜
2. Spine Across the Sea 2006. The role of advanced glycation end-products (AGEs) in the molecular biology of disc degeneration. Yokosuka K., Jin Soo Park, Jimbo K., Yamada K., Sato K.i, Tsuru M., Nagata K. 2006.7.23-27, Maui, Hawaii

3. Eurospine 2007. The Role of Advanced Glycation End-products (AGEs) in the Molecular Biology of Ossification of Spinal Ligaments. Yoshida T., Jin Soo Park, Yokosuka K., Jimbo K., Yamada K., Tsuru M., Sato K., Yamagishi S., Nagata K. 2007.10.2-6、Brussels, Belgium

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

後縦靱帯骨化症血液プロテオームからの疾患特異的タンパク質の発見 出願中

#### 参考文献

1. Effect of AGEs on Human Disc Herniation: Intervertebral Disc Hernia is Also Effected by AGEs. M Tsuru, K Nagata, A Jimi, K Irie, A Yamada, R Nagai, S Horiuchi and M Sata. Kurume Med J Vol.49.No.1 7-13 2002.
2. Circulating glycotoxins and dietary advanced glycation endproducts: two links to inflammatory response, oxidative stress, and aging. Uribarri J, Cai W, Peppas M, Goodman S, Ferrucci L, Striker G, Vlassara H. Division of Nephrology, Department of Medicine, Mount Sinai School of Medicine, New York, NY 10029, USA. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2007 Apr; 62(4):427-33.
3. Diffuse Idiopathic Skeletal Hyperostosis と後縦靱帯骨化症. 寺山和雄.



厚生労働科学研究費補助金（脊柱靱帯骨化症に関する調査研究事業）

頚椎後縦靱帯骨化症における術後脊髓形態変化と頚髄グルコース代謝の検討

福井大学医学部整形外科

内田 研造、馬場 久敏、中嶋 秀明、彌山 峰史、佐藤 竜一郎

#### 研究要旨

高分解能 PET を用いて後縦靱帯骨化症の頚髄グルコース代謝の画像化と定量化を行い、臨床症状、他の画像検査との比較検討をおこなった。FDG-PET による術前頚髄グルコース代謝量は、最大脊髓横断面積と共に、JOA 改善率と相関していた。また今回施行しえた 14 例全例とも除圧後その代謝量は正常化していた。FDG-PET により求めた頚髄グルコース代謝量は脊髓実質の代謝量を反映するものであり、頚椎後縦靱帯骨化症においては、治療成績について大きな示唆を与えるものと考えられた。

#### A. 研究目的

頚椎後縦靱帯骨化症において、その脊髓症の発症のメカニズムや、術後治療成績に影響をあたえる因子については、未だ不明な点が存在する。Flouro-deoxy glucose (FDG)-Positron emission tomography (PET) は、神経組織のグルコース代謝量、活性を定性（可視化）、定量化することが可能な画像装置である。脊髓に対する PET 検査は、解像度の問題から物理学的に不可能と考えられてたが、1983 年に Di Chiro らが、解像度 7 mm の Neuro PET と 18FDG を使用し、延髄から第 3 頸髄までの頚髄グルコース代謝活性の定量化および画像表示を報告した。我々はこれまでに高分解能 PET を用いて脊髓実質の組織代謝の側面から、圧迫性頚髄症においてその臨床意

義について報告してきた 1)、2)。今回、我々は、後縦靱帯骨化症の術前後の頚髄のグルコース代謝を測定し、術前後 MRI による脊髓の形態学的変化、輝度変化および臨床症状と比較検討した。

#### B. 研究方法

頚椎後縦靱帯骨化症に対し術前後 MRI を撮像し得た 52 例（男性 38 例、女性 14 例、平均年齢 70.8 歳）を対象とし、内 14 例に術前後の頚髄 FDG-PET を施行した。手術の内訳は前方進入骨化摘出および固定術が 28 例、片開き式椎弓形成術が 24 例であった。術後経過観察期間は平均 2.8 年（2.1-3.9）であった。臨床症状は日整会頚髄症治療成績判定基準（JOA スコア）に基づき評価し、平林式 JOA 改善率を用いた。今回の検討で

は改善率 50%以上を Group R, 50%未満を Group N と群分けした。MRI は除圧前後の脊髓形態(最大圧迫横断脊髓面積;  $\text{mm}^2$ )をデジタイザーを用いて計測し、その復元度(%)を求めた。また輝度変化は過去の文献(Yukawa et al. 2007; Spine)を参考に Grade 0, none; Grade 1, light (obscure); intense (bright) に群分けした。頸髄のグルコース摂取率の測定は吸収補正のために、Ga(ガリウム)-68 線源を用いた transmission scan を施行後、日本鋼管(NKK)製 12MeV 超小型サイクロトロンと自動合成装置を用いて作成した放射性グルコース( $^{18}\text{F}$ -FDG)を、10mCi (370MBq) 被検者に投与、投与後 0-60min までの  $^{18}\text{F}$  の放射濃度を、GE Advance PET scanner (空間分解能は 4.25 mm、断面内分解能、軸方向分解能は共に 4.2mm) で撮像した。Hanning filter をもちいて、放射線画像を作成後、体重、投与量でグルコースの標準摂取量を補正、画像再構築を行った。経時的に採血を行った glucose 代謝率は、まず Sokoloff model を用いて brain cortex における反応速度定数と一括定数を適応して計算致した。画像解析装置(Sun Sparc 20 Workstation)を用い、35 slice の横断像において横径 10.3 mm の関心領域(ROI: range of interest)を設定、最大 count 数をもって各々の関心領域における metabolic tissue activity とした。頸髄循環 glucose 代謝量の簡易指標として、SUV [ standardized uptake value = ROI (KBq. cc) / Injected Dose (MBq) x

Body Weight (Kg)  $\times$  60 (kg/W) ] を計算し、平均値として表示した。以上臨床症状改善と画像因子について統計的に解析した (Mann-Whitney U-test, Kruskal-Wallis test and Games-Howell post hoc tests)。

### C. 結果

術前 JOA スコアは  $12.8 \pm 2.6$  点が  $15.3 \pm 1.5$  点に改善していた。改善率の平均は  $59.8 \pm 25.0\%$  であった。最大圧迫横断面積は  $54.7 \pm 14.5 \text{ mm}^2$  が  $68.8 \pm 14.7 \text{ mm}^2$  と有意に拡大し、脊髓復元率の平均は  $137.0 \pm 21.4\%$  であった。術前 SUV は  $2.26 \pm 0.40 \text{ mg/ml}$  術後  $2.13 \pm 0.20 \text{ mg/ml}$  であったが前後の有意差はなかった。表 1 に改善率と各画像因子の関係を示す。術前術後の脊髓横断面積に有意な差を認めたが、その復元率に関係はなかった。また術前の SUV においては改善率と相関がみられた。

髄内輝度変化についての検討では、術前 24 例に (Group 1 and Group 2: 48.2%) 輝度変化を認め、28 cases (Group 0: 53.8%) には認められなかった。術前輝度変化を認めたものの中で 14 例 (77.8%) は輝度が変化しなかった。術前の輝度変化とその他の因子についての関係を表 2 にしめす。術前術後の JOA スコア、および改善率、術前術後の脊髓横断面積に 3 群間で有意差がみられたものの、SUV については術前術後ともに有意差は認められなかった。

術前術後の SUV の変化を図 1 にしめす。全例 SUV は正常化傾向にあり、術前 SUV が

低いものは、術後高値を、術前高値を示したものは低値となる傾向があった。

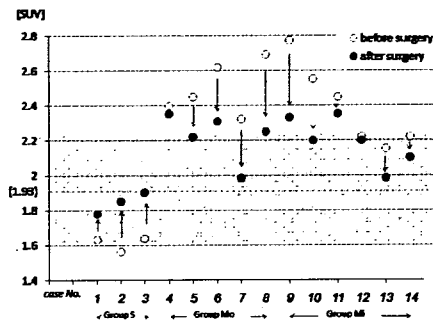


図 1. 術前後 SUV 変化

#### D. 考察

神経組織においては、神経系の主要な機能は興奮伝導であり、そのエネルギー消費の大部分は神経細胞の膜電位を維持し、興奮伝導の後に、膜電位を回復するためのイオンの能動輸送に用いられていると考えられる。神経組織の活動エネルギーはほとんどグルコースの酸化代謝によってなされ、脳のグルコース代謝は解糖系とクエン酸回路を主道としている。従って局所の神経組織が活動した場合には、それはそのままグルコース代謝と酸素代謝の増大（血流量の増減）としてあらわれるものと考えられている。また、虚血性疾患などの血管障害と異なり、変性および退行性変性の場合には通常血流と代謝はマッチしていると考えられる。すなわち、グルコース代謝は神経組織の活動性をあらわす極めてよい指標になると考えられる。

今回、 $^{18}\text{F}$ FDG-PET によって測定した圧迫

状態にある脊髄の代謝量と MRI での画像因子について比較検討した。臨床症状改善率は術前術後の脊髄横断面積に相関し、術前の SUV においては改善率と相関がみられた。以前の我々の検討で、術前の SUV はその脊髄症状の重篤度（術前 JOA スコア）に相関することを報告しており 1)、2)、高度圧迫例の改善率が良好ではないことを加味すると、この結果は矛盾しないものと考えられた。一方、髄内輝度変化との関係では、輝度変化を認めない群（Grade 1）と明らかな輝度変化（Grade 2）において、術前術後の JOA スコア、および改善率、術前術後の脊髄横断面積に 3 群間の検討で有意差がみられた。髄内輝度変化についての臨床的意義については様々の論議が存在するが、今回の分類では、除圧後の治療成績に影響をあたえる一因子と考えられた。今回の SUV の術前術後の SUV は正常化をしめたことは興味深い。白質における電解質の変化や脊髄血流も反映していると考えられるが、除圧後の脊髄実質の代謝量の変化を示唆するものと考えられる。

#### E. 結論

後縦靭帯骨化症に対して高分解能 PET を用い、頸髄グルコース代謝の画像化と定量化を行い、他の画像因子と比較した。FDG-PET による術前頸髄グルコース代謝量は臨床症状の改善率と相関しており、除圧後その代謝量は正常化していた。

**Table 1. Correlation Between Neurological Recovery and Clinical/ Radiological Data\***

Clinical/ Radiological Data	Neurological Recovery at Follow up		p Value**
	Group R (More than 5 0%)	Group N (Up to 5 0%)	
No. of cases	28	24	□
Preoperative JOA score (pts)	13.0 ± 2.55	11.7 ± 3.25	p=0.354
Postoperative JOA score (pts)	16.0 ± 0.89	13.7 ± 2.25	p=0.001
Neurological recovery rate (%)	79.6 ± 15.1	37.8 ± 14.6	□
Preoperative transverse area (mm <sup>2</sup> )	55.9 ± 14.8	47.5 ± 6.36	p=0.044
Postoperative transverse area (mm <sup>2</sup> )	75.7 ± 10.4	58.8 ± 14.2	p=0.002
Morphological restoration rate (%)	43.2 ± 28.1	26.1 ± 21.6	p=0.144
No. of PET cases	6	8	□
Preoperative SUV	2.47 ± 0.23	1.98 ± 0.42	p=0.043
Postoperative SUV	2.17 ± 0.14	2.07 ± 0.26	p=0.573

\*Data are presented as the mean ± standard deviation. \*\* Based on Mann-Whitney U test.