

---

第 24 回  
日本整形外科学会基礎学術集会  
抄 録 集

The 24th Annual Research Meeting of  
the Japanese Orthopaedic Association  
ABSTRACTS

会 長 伊 藤 博 元 (日本医科大学整形外科学教室)  
会 期 平成 21 年 11 月 5 日(木), 6 日(金)  
会 場 パシフィコ横浜(横浜市)

第1日 11月5日(木) B会場 301会議室

9:00~10:00 招待講演 3

座長 馬場 久敏 (福井大整形)

- 1-B-IL3 Advances in the understanding and treatment of early onset scoliosis  
 .....Dept. of Pediatric Orthop. Surg., Morgan Stanley Children's Hosp. of New York  
 Presbyterian Columbia Univ. Medical Center, New York, NY, USA D.P. Roye, Jr. ...S1009

10:10~12:00 パネルディスカッション 1

末梢神経再生促進

座長 落合 直之 (筑波大大学院整形)  
 平田 仁 (名大手の外科)

- 1-B-P1-1 bFGF と生体吸収性人工神経を用いた末梢神経再生 .....大阪市大大学院整形 高松 聖仁他...S1010  
 1-B-P1-2 神経再生における基底膜の役割 .....社会保険神戸中央病院リハ科 岡島誠一郎他...S1010  
 1-B-P1-3 分極処理したセラミックス粉体による神経架橋形成促進 .....国際医療福祉大 伊藤聰一郎他...S1011  
 1-B-P1-4 骨髄幹細胞移植した血管茎含有チューブでのイヌ尺骨神経 30 mm の架橋実験 —自家神経移植との比較— .....京大整形/リハ部 柿木 良介他...S1011  
 1-B-P1-5 Perineurium の再生過程と神経機能 .....名大手の外科 山本美知郎他...S1012

12:30~13:30 ヌーンタイムセミナー 2

座長 山下 敏彦 (札幌医大整形)

- 1-B-NS2 運動器難治性疼痛と学際的アプローチ .....愛知医大実証的痛みセンター 牛田 享宏 ...S1013

13:45~14:45 教育研修講演 2

座長 中村 利孝 (産業医大整形)

- 1-B-EL2 二関節筋 —運動制御機能特性— .....京大名誉教授 熊本 水頼 ...S1014

14:50~16:50 パネルディスカッション 2

脊髄修復の促進技術

座長 戸山 芳昭 (慶大整形)  
 田口 敏彦 (山口大大学院整形)

- 1-B-P2-1 脊髄損傷に対する顆粒球コロニー刺激因子の治療効果 .....聖隷横浜病院整形 川辺 純子他...S1015  
 1-B-P2-2 ヒト組み換え HGF 蛋白を用いた脊髄損傷治療戦略 .....慶大整形 北村 和也他...S1015  
 1-B-P2-3 脊髄損傷におけるグリア前駆細胞の活性化と組織修復  
 .....国立リハセンター研究所 緒方 徹他...S1016  
 1-B-P2-4 ヒト血管内皮前駆細胞移植による脊髄再生 .....広島大大学院整形 亀井 直輔他...S1016  
 1-B-P2-5 コラーゲンフィラメントを用いた脊髄再生の試み —障害脊髄部における局所環境の改善—  
 .....山口大大学院整形 鈴木 秀典他...S1017  
 1-B-P2-6 脊髄再生における糖鎖の影響 .....名大整形 若尾 典充他...S1017

第1日 11月5日(木) C会場 302会議室

9:00~10:10 一般口演 骨・骨代謝-1

座長 宗園 聰 (近畿大奈良病院整形・リウマチ科)

- 1-C-1 マイクロ RNA による骨芽細胞分化の調節 .....東医歯大大学院整形 猪瀬 弘之他...S1018  
 1-C-2 脂質ラフトを介した骨芽細胞増殖刺激調節機構の解明 .....北大大学院整形 安倍雄一郎他...S1018  
 1-C-3 NF- $\kappa$ B p65 サブユニットは osterix の発現誘導を介して骨芽細胞機能を制御する  
 .....慶大整形 田島 康介他...S1019  
 1-C-4 骨芽細胞において Rho-kinase は transforming growth factor- $\beta$  による VEGF 産生を制御する  
 .....名市大大学院整形 夏目 英雄他...S1019  
 1-C-5 Raloxifene による骨芽細胞のアポトーシス抑制効果の検討 .....名大整形 加藤 大三他...S1020  
 1-C-6 IRAK-4 は IL-1 依存性の NF- $\kappa$ B シグナルを介して、骨芽細胞における RANKL 発現および破骨細胞  
 の成熟・延命を促進する .....慶大整形 古川 満他...S1020  
 1-C-7 骨芽細胞においてカテキンは PDGF-BB による IL-6 産生を抑制する  
 .....名市大大学院整形 水谷 潤他...S1021

## 1-B-P2-1

## 脊髄損傷に対する顆粒球コロニー刺激因子の治療効果

川辺 純子<sup>1</sup> 国府田 正雄<sup>2</sup> 門田 領<sup>3</sup> 西尾 豊<sup>4</sup>  
橋本 将行<sup>4</sup> 藤由 崇之<sup>4</sup> 古矢 丈雄<sup>4</sup> 遠藤 友規<sup>4</sup>  
大河 昭彦<sup>4</sup> 高橋 和久<sup>4</sup> 山崎 正志<sup>4</sup>

【目的】顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)は造血系細胞の成長因子で、近年その神経保護効果が報告され、脊髄損傷への効果が期待されている。今回私たちは、G-CSFの脊髄損傷に対する治療効果と、臨床応用へ向けた今後の課題を検討したので報告する。

【方法・結果】①放射線照射したマウスに green fluorescent protein (GFP) transgenic mouse の骨髄細胞を注入(骨髄キメラマウス)。脊髄圧挫損傷モデルを作成し、G-CSF 投与。行動学的評価と組織学的検討を行った。G-CSF により、骨髄由来細胞の損傷部への動員が誘導され、その一部はアストロサイトやオリゴデンドロサイトに分化していた。また、有意な行動改善が見られた。

②グルタミン酸刺激にて、培養ニューロンの細胞死を誘導、G-CSF 添加による細胞死抑制効果を検討した。また、マウス・ラット脊髄圧挫損傷モデルを作成し、残存神経細胞数・髄鞘面積を比較した。G-CSF により、ニューロン・オリゴの細胞死は有意に抑制され、脊髄切片では残存神経細胞数・髄鞘面積は有意に増加していた。また、有意な行動改善も見られた。③ラット脊髄圧挫損傷モデルを用いて G-CSF 投与による血管系に対する効果を検討。血液脊髄関門に対する効果を比較するため、脊髄内水分含有量、蛍光色素血管外漏出量を測定した。また脊髄横断切片での新生血管数を免疫組織学的に検討した。G-CSF 投与による脊髄内水分含有量・蛍光色素血管外漏出量は有意差はなく、新生血管数は増加した。血管新生促進サイトカインの増加も見られ、G-CSF はサイトカインを介し間接的に血管新生を促進し、二次損傷拡大を抑制することが示唆された。

【考察】脊髄損傷において G-CSF は骨髄由来細胞の動員・遊走促進効果、ニューロン、オリゴの細胞死抑制効果、血管新生効果などさまざまな作用を介し神経保護効果を発揮することが示された。今後、脊髄損傷患者に使用した際の安全性を中心に臨床試験を継続していく予定である。

<sup>1</sup>聖隷横浜病院整形 <sup>2</sup>千葉市立青葉病院整形 <sup>3</sup>沼津市立病院整形 <sup>4</sup>千葉大大学院整形

## 1-B-P2-2

## ヒト組み換え HGF 蛋白を用いた脊髄損傷治療戦略

北村 和也<sup>1</sup> 藤吉 兼浩<sup>1</sup> 山根 淳一<sup>1</sup> 疋島 啓吾<sup>2</sup>  
豊田 文香<sup>2</sup> 岩波 明生<sup>1</sup> 船越 洋<sup>3</sup> 中村 敏一<sup>3</sup>  
岡野 栄之<sup>4</sup> 戸山 芳昭<sup>1</sup> 中村 雅也<sup>1</sup>

【目的】脊髄損傷に対するヒト組み換え HGF 蛋白(rhHGF)の有効性と安全性を確立することである。

【方法】①コモンマーモセット第5頸椎高位に脊髄圧挫損傷を作製し、直後より rhHGF 400 μg を髄腔内に4週間持続投与し(対照群 PBS)、術後12週間の運動機能評価(bar grip test, open field scoring)を行った。損傷後1・3・12週に頸髄 MRI を撮像した後に組織学的評価を行った。②ラット第10胸椎高位に脊髄圧挫損傷を作製し損傷直後から rhHGF 200 μg を、または損傷後4日から rhHGF 8, 40, 200 μg を髄腔内に2週間持続投与した(対照群 PBS)。6週間の運動機能評価後に組織学的評価を行い、rhHGF の therapeutic time window および最小有効濃度を検討した。

【結果】①サルの rhHGF 投与群で有意な運動機能回復が認められた。異常行動は認めなかった。損傷後12週目の MRI 像では異常信号(T1 low, T2 high)領域が rhHGF 投与群で著明に縮小しており、組織像(HE染色, LFB染色)を反映していた。皮質脊髄路を示す CaMK2α 陽性線維が損傷尾側においても有意に保たれていた。また、灰白質第3層における CGRP 陽性線維の分布に両群間で有意な差を認めなかった。腫瘍形成は認めなかった。②ラットに対しては損傷直後から rhHGF を投与した群のみならず、4日から rhHGF を投与したいずれの群においても対照群に比べ有意な運動機能回復が得られた。

【考察・結論】rhHGF の髄腔内投与により霊長類脊髄損傷に対して著明な治療効果が得られた。また異痛症や腫瘍形成を認めず、安全性についても確認できた。さらにラットを用いた検討からは、損傷後4日目からより低濃度の rhHGF を投与しても有効な治療効果が得られることが明らかとなった。本研究結果は rhHGF を用いた脊髄損傷治療法が臨床応用へ結びつく可能性を示すものと考えている。

<sup>1</sup>慶大整形 <sup>2</sup>実験動物中央研究所 <sup>3</sup>阪大大学院分子再生医学 <sup>4</sup>慶大生理学

## 1-E-13

## c-Myc を除いたマウス 3 因子 iPS 細胞由来神経幹細胞を用いた脊髄損傷治療

辻 取彦<sup>1</sup> 三浦 恭子<sup>2</sup> 藤吉 兼浩<sup>1</sup> 向野 雅彦<sup>3</sup>  
 名越 慈人<sup>1</sup> 熊谷 玄太郎<sup>4</sup> 山中 伸弥<sup>2</sup> 岡野 栄之<sup>3</sup>  
 戸山 芳昭<sup>1</sup> 中村 雅也<sup>1</sup>

【目的】自家組織由来の幹細胞供給源として人工多能性幹細胞(以下 iPS 細胞)が現在注目を集めている。昨年の本学会でわれわれは、山中 4 因子を導入し Nanog 遺伝子により選択され樹立されたマウス iPS 細胞由来神経幹細胞(NSC)移植の脊髄損傷に対する有効性を報告した。本研究の目的は、さらに安全性を高めるために癌遺伝子である c-Myc を除いた 3 因子により樹立された iPS 細胞(Nanog 3F-iPS 細胞)、さらに樹立の際に薬剤選択を行わない iPS 細胞(w/o selection 3F-iPS 細胞)由来 NSC 移植の脊髄損傷に対する有効性と安全性を検証することである。

【方法】① *in vitro*: Nanog-3F-iPS および w/o selection-3F-iPS 細胞から NSC を誘導し、さらに最終分化誘導を行いその phenotype を調べた。② *in vivo*: マウス第 10 胸椎高位に圧挫損傷を作製し、損傷後 9 日に損傷中心部に各 iPS-NSC を  $5 \times 10^5$  個移植した。対照群では培養液を同様の方法で注入した。運動機能は Basso Mouse Scale を用いて評価した。6 週後に病理学的検討も併せて行った。

【結果】① *in vitro*: Nanog-3F- および w/o selection-iPS-NSC は神経系 3 系統に分化した。② *in vivo*: Nanog-3F- および w/o selection-iPS-NSC 群は移植後 4 週目までは対照群より有意に良好な下肢機能の改善がみられたが、移植後 6 週目には w/o selection-3F-iPS-NSC 群では得られていた機能回復が急速に減衰した。病理学的評価により Nanog-3F-iPS-NSC 群では全く腫瘍形成は認めなかったが、w/o selection-3F-iPS-NSC 移植群では全例において奇形腫の形成を認めた。

【考察】現段階では最も安全であり臨床応用への可能性が高いと思われていた w/o selection-3F-iPS-NSC 群は予想に反して全例において腫瘍化を認めたことから、iPS 細胞の樹立方法、分化誘導法、非腫瘍化細胞の選別法など安全面のさらなる探求が必須であることが示唆された。

<sup>1</sup>慶大整形 <sup>2</sup>京大再生研 <sup>3</sup>慶大生理 <sup>4</sup>弘前大整形

## 1-E-14

## ラット脊髄損傷に対する人工多能性幹(iPS)細胞由来 astrocyte 移植効果の検討

林 浩一 橋本 将行 山崎 正志 大河 昭彦  
 国府田 正雄

【目的】iPS 細胞は体細胞から作成することが可能であることと、受精卵の破壊など倫理的問題が絡まないことから、自家移植の際の有力な選択肢となりうる可能性がある。Neural Stem Sphere(NSS)法は ES 細胞コロニーから周囲に neural stem cell(NSC)を分化、遊走させる方法であり、iPS 細胞への応用も期待されている。脊髄損傷において Astrocyte は瘢痕組織を取り囲み健常組織への炎症の波及を防ぐといった有益な面も報告されている。本実験の目的は NSS 法によって作成した iPS 細胞由来 Astrocyte をラット脊髄損傷に移植、効果を検討することである。

【方法】マウス iPS 細胞をフィーダー細胞上で培養、直径 300-500  $\mu\text{m}$  のコロニーを pick up し、Astrocyte Conditioned Medium(ACM)+bFGF 存在下に 4 日間浮遊培養し NSS を作成した。NSS を接着培養へ移し周囲に遊走してくる NSC を回収し、継代・増殖させた。P3-P5 の NSC を 10%FBS 存在下に Astrocyte へ分化させた。10 万個/5  $\mu\text{l}$  の iPS 細胞由来 Astrocyte をラット脊髄損傷 3 日後に移植した。対照群として DMEM の注入を行った。サイクロスポリンを移植後 2 週間両群に注射投与し、その後は飲料水に混入投与した。行動評価として BBB score、痛覚評価を行う予定である。

【結果】NSS 周囲に遊走した NSC は、Nestin 陽性であり、未分化性を保ったまま継代・増殖させることと凍結保存が可能であった。NSC を 10%FBS 存在下において GFAP、S100 陽性の Astrocyte に選択的に分化誘導した。ACM+bFGF 存在下においては Tuj1、NF200、MAP2 陽性の神経細胞へ分化した。T3 存在下に O4、GalC 陽性のオリゴデンドロサイトに分化させることも可能であった。

【結論】マウス iPS 細胞の分化誘導に対して NSS 法を応用、得られた NSC を接着培養し神経系細胞に分化させた。

千葉大大学院整形



# 第44回日本脊髄障害医学会

The 44th Annual Meeting of Japan Medical Society of Spinal Cord Lesion

## プログラム・抄録集

会期:2009年11月12日(木)~13日(金)

会場:東京国際フォーラム

会長:野原 裕 (獨協医科大学医学部整形外科学)

同時開催:第18回日本脊椎インストゥルメンテーション学会

## 1-1-S1-1 胸椎後縦靱帯骨化症に対する後方除圧固定術の成績

千葉大学大学院医学研究院整形外科

やまざき まさし  
 ○山崎 正志、大河 昭彦、望月 真人、国府田正雄、  
 高橋 和久

胸椎OPLLに伴う脊髄症例に対し、我々は、骨化を摘出しなくとも後方インストゥルメンテーション固定を行うことにより、ある程度の症状改善が期待できるのではという仮説をたてた。そして、後方除圧固定術（椎弓切除+後方インストゥルメンテーション固定）を術前脊髄重度障害例、骨化摘出が困難な例に対して施行してきた。今回は、本術式を施行した24例の術後成績を調査した（平均観察期間4年5ヵ月）。術後の一過性麻痺が1例で発生したが、調査時には全例で脊髄症の改善を認めた。日整会点数は術前平均3.7点が術後8.0点、改善率は平均58.1%であった。点数がピークに達した時期は術後平均9.5ヵ月（3ヵ月～2年）あった。前方からの骨化摘出の追加手術を希望した例はなかった。後方除圧固定術は、胸椎OPLLに対して現在選択できる術式の中では最も安全性が高い。本術式による脊髄症改善は、脊柱を固定することによりもたらされるため、その改善は緩徐である。骨化摘出の追加手術の適応は慎重に決定すべきである。

## 略歴

## 山崎 正志（やまざき まさし）

1983年3月 千葉大学医学部卒業  
 1983年6月 千葉大学医学部附属病院整形外科研修医  
 1990年3月 千葉大学大学院医学研究科博士課程修了  
 1990年4月 成田赤十字病院整形外科副部長  
 1990年10月 小見川総合病院整形外科医長  
 1991年4月 鹿島労災病院整形外科副部長  
 1994年4月 米国マウントサイナイ医科大学整形外科研究員  
 1996年5月 千葉大学医学部附属病院助手  
 2005年1月 千葉大学医学部附属病院整形外科講師  
 2008年4月 千葉大学大学院医学研究院整形外科学准教授

### 1-1-03 急性脊髄損傷に対して顆粒球コロニー刺激因子投与(G-CSF)を施行した臨床試験例の検討

Clinical trial of granulocyte colony-stimulating factor on patients with acute spinal cord injury

千葉大学医学部整形外科<sup>1</sup>、千葉市立青葉病院<sup>2</sup>

○高橋<sup>たかはし</sup> 宏<sup>ひろし</sup><sup>1</sup>、佐久間 毅<sup>1</sup>、林 浩一<sup>1</sup>、大河 昭彦<sup>1</sup>、  
國府田正雄<sup>2</sup>、山崎 正志<sup>1</sup>

【目的】メチルプレドニソロンに変わる新たな急性期脊髄損傷治療薬の開発を目的とした。急性脊髄損傷に対するG-CSFを用いた神経保護療法について、安全性確認を主目的とするphase I・IIa臨床試験を開始した。【方法】平成20年4月以降に千葉大学病院に搬送された急性期脊髄損傷患者5例に対し、本人の自由意志による文書同意を得た後、G-CSF 5 $\mu$ g/kg/dayを連続5日間点滴静注投与した。投与後の有害事象を確認し、運動・感覚麻痺の推移、血液・画像所見の評価を行った。【結果】神経所見については、G-CSF投与後に程度の差はあるものの、全例で運動、感覚麻痺の改善が得られた。白血球数は投与開始の翌日には19400以上に上昇し、投与期間中は25200～35800の値が維持され、最終投与の3日後には、ほぼ投与前の値に戻った。G-CSF投与期間中および投与後に有害事象の発生はなかった。

Keyword：脊髄損傷 (spinal cord injury)、顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF)、臨床試験 (clinical trial)

### 1-1-04 圧迫性脊髄症急性増悪例に対する顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)投与による神経保護療法

Neuroprotective therapy with granulocyte colony-stimulating factor for rapidly progressing compression myelopathy

千葉大学大学院医学研究院整形外科学<sup>1</sup>、千葉市立青葉病院<sup>2</sup>

○佐久間<sup>さくま</sup> 毅<sup>つよし</sup><sup>1</sup>、高橋 宏<sup>1</sup>、林 浩一<sup>1</sup>、大河 昭彦<sup>1</sup>、  
國府田正雄<sup>2</sup>、山崎 正志<sup>1</sup>

【目的】圧迫性脊髄症の急性増悪には脊髄内部での神経・グリア細胞の細胞死の関与が論じられている。我々はG-CSFの脊髄損傷治療に対する有効性について検討してきたが、これまでのデータからG-CSFが圧迫性脊髄症急性増悪期においても神経保護作用を有することが示唆された。そこで、今回、圧迫性脊髄症急性増悪に対する治療薬としてのG-CSFの有効性・安全性を検討する目的で臨床試験を開始した。【方法】圧迫性脊髄症急性増悪例5例に対し、本人の自由意志による文書同意を得た後、G-CSF 5 $\mu$ g/kg/dayを連続5日間点滴静注投与した。投与後の有害事象を確認し、運動・感覚麻痺の推移、血液・画像所見の評価を行った。【結果】神経所見については、G-CSF投与後に程度の差はあるものの、全例で運動、感覚麻痺の改善が得られた。G-CSF投与期間中および投与後に有害事象の発生はなかった。

Keyword：脊髄損傷 (spinal cord injury)、G-CSF (G-CSF)、脊髄症 (myelopathy)

### 1-2-01 ラット脊髄損傷に対する人工多能性幹 (iPS) 細胞由来Astrocyte 移植効果の検討

Transplantation of astrocytes derived from induced pluripotent stem cell on an experimental spinal cord injury in rats

千葉大学大学院医学研究院整形外科<sup>1</sup>、千葉市立海浜病院整形外科<sup>2</sup>、千葉市立青葉病院整形外科<sup>3</sup>

○林 浩一<sup>1</sup>、橋本 将行<sup>2</sup>、国府田正雄<sup>3</sup>、大河 昭彦<sup>1</sup>、  
山崎 正志<sup>1</sup>

【目的】マウスiPS細胞由来Astrocyteをラット脊髄損傷に移植し、その効果を検討すること。【方法】マウスiPS細胞をNeural Stem Sphere (NSS)法にて、Nestin陽性の神経幹細胞 (NSC) に分化誘導し、P3-5のNSCを10% FBS存在下にGFAP陽性のAstrocyteへ分化させた。10万個/5 $\mu$ lのiPS細胞由来Astrocyteをラット脊髄圧挫損傷3日後に移植した (N=20)。対照群にはDMEMの注入を行った (N=10)。両群にサイクロスポリンを終始投与した。行動評価 (BBB score、行動解析装置SCANET-40、Inclined plane test) と感覚評価を行った。【結果】全ての行動評価とThermal hyperalgesia testには有意差はなかった。Mechanical allodynia testにおいて、移植群は逃避行動までの反応時間が有意に短かった。現在、組織学的検討を行っている最中である。

Keyword: 脊髄損傷 (spinal cord injury)、アストロサイト (astrocyte)、移植 (transplantation)

### 1-2-02 脊髄損傷ラットの下部尿路機能に対するイミダフェナシンの効果

Effect of imidafenacin on the lower urinary tract function in rats with spinal cord injury

東芝病院泌尿器科<sup>1</sup>、熊本大学大学院医学薬学研究部泌尿器病態学分野<sup>2</sup>、  
東京大学医学系大学院泌尿器外科学<sup>3</sup>

○永田 卓士<sup>1</sup>、吉田 正貴<sup>2</sup>、榎永 浩一<sup>2</sup>、朝蔭 裕之<sup>1</sup>、本間 之夫<sup>3</sup>

【目的】近年各種の新規抗コリン薬が登場し、その選択肢は広がっている。今回我々は脊髄損傷ラットモデルを用いて、下部尿路機能に対するイミダフェナシンの効果について検討した。【方法】脊髄損傷ラットを作成し、麻酔下に膀胱内に生理食塩水を注入しながら膀胱内圧を測定した。イミダフェナシンは0.01、0.03、0.1、0.3 mg/kgの各濃度を静脈内に累積投与し、シストメトリーの各パラメータの変化を比較検討した。【結果】脊髄損傷ラットでは排尿間隔の短縮、1回排尿量の減少、排尿時膀胱内圧の増加を認め、またnon-voiding contraction (NVC) が観察された。イミダフェナシン (0.3 mg/kg) の投与により排尿間隔は有意に延長し、NVC回数は減少傾向であったが、排尿時膀胱内圧に有意な変化は認められなかった。【結論】イミダフェナシンは神経因性の排尿筋過活動を抑制し、脊髄損傷における頻尿や尿失禁に有効な薬剤であることが示唆された。

Keyword: イミダフェナシン (Imidafenacin)、シストメトリー (Cystometry)、脊髄損傷 (Spinal Cord Injury)



## 1-2-05 慢性期脊髄損傷に対する活性化マクロファージ移植の治療効果

Transplantation of activated macrophage for chronic spinal cord injury promotes functional recovery

千葉市立青葉病院整形外科<sup>1</sup>、千葉大学大学院医学研究院整形外科<sup>2</sup>、千葉市立海浜病院整形外科<sup>3</sup>

こうだ まさお  
 ○國府田正雄<sup>1</sup>、林 浩一<sup>2</sup>、橋本 将行<sup>3</sup>、大河 昭彦<sup>2</sup>、  
 山崎 正志<sup>2</sup>

【目的】脊髄損傷慢性期には損傷部にグリア瘢痕が形成され再生に対して非許容的な環境となっている。活性化マクロファージは食食作用・神経栄養因子の分泌などによりこの非許容的環境を許容的環境へと誘導しうる可能性があると考え、移植実験を行った。【方法】マクロファージは骨髄より採取培養し、活性化にはインターフェロン $\gamma$ による刺激を用いた。成SDラットにIH impactorをもちいて脊髄圧挫損傷を作成、4週後に活性化マクロファージを損傷部に直接注入した。移植後8週間、BBB locomotor scaleにて後肢運動機能回復を評価、知覚機能も評価した。皮質脊髄路トレーシング・免疫染色などにて組織評価を行った。【結論】活性化マクロファージ移植は慢性期脊髄損傷に対して有効な治療法となりうる可能性が示唆された。

Keyword：脊髄損傷 (spinal cord injury)、マクロファージ (macrophage)、機能回復 (functional recovery)

## 1-2-06 慢性圧迫性脊髄障害におけるautophagy誘導蛋白Beclin1の発現と凝集蛋白p62の蓄積

Chronic mechanical spinal cord compression induces accumulation of aggregate protein and up-regulation of autophagy

鹿児島大学大学院運動機能修復学講座整形外科学<sup>1</sup>、鹿児島大学医学部保健学科臨床理学療法学<sup>2</sup>

たなべ ふみと  
 ○田邊 史<sup>1</sup>、松田 史代<sup>2</sup>、川畑 直也<sup>1</sup>、小宮 節郎<sup>1</sup>、  
 米 和徳<sup>2</sup>

オートファジーは、凝集した蛋白を分解する機構で、特に神経系でホメオスタシス維持に重要とされる。Beclin1は、その実行に中心的に関与する。近年、ポリユビキチン化蛋白と結合し、オートファジー経路で分解されるp62が報告された。靭帯骨化症モデルを用い、慢性圧迫性脊髄障害におけるオートファジー、凝集蛋白について検討した。TWYマウス（麻痺あり）、ICRマウス（麻痺なし）を用い、Beclin1,p62の免疫染色を行った。Beclin1は、ICRでは均一に発現し、TWYの最狭窄部で発現が上昇していた。(TWY 59.2±14.0, ICR 34.7±5.11) p62は、TWYの最狭窄部で、有意に上昇していた。(TWY 1.22±0.34, ICR 0.11±0.09) 神経変性高度部位で凝集蛋白の蓄積がみられ、オートファジーの発現が上昇していた。一方、正常脊髄では、オートファジーは均一に発現し、凝集蛋白の蓄積は認めなかった。オートファジーを制御することで、神経変性を予防する可能性が示唆された。

Keyword：オートファジー (autophagy)、ベクリン1 (Beclin1)、p62 (p62)

# 第8回 日本再生医療学会総会

会 期：2009年3月5日(木)・6日(金)

会 場：東京国際フォーラム

〒100-0005 東京都千代田区丸の内3-5-1

TEL：03-5221-9000(代)

URL：http://www.t-i-forum.co.jp/general/index.php

テーマ：「学際化を迎えた幹細胞研究

－その臨床、創薬応用をめざして－

会 長：坪田 一男

(慶應義塾大学医学部眼科学教室)

事務局：慶應義塾大学医学部眼科学教室

〒160-8582 東京都新宿区信濃町35番地

TEL：03-3353-1211(代表)

E-mail：8jsrm@convention.co.jp

総会ホームページ：http://www2.convention.co.jp/8jsrm/

座長：中村雅也（慶應義塾大学 医学部 整形外科）

- 1 ラット脊髄圧挫損傷モデルにおけるグリア前駆細胞由来アストロサイト移植の検討  
古矢丈雄（千葉大学 大学院 医学研究院 整形外科）
- 2 血管内皮前駆細胞移植によるJagged1/Notchシグナルを介した脊髄再生メカニズム  
亀井直輔（先端医療センター 血管再生研究グループ）
- 3 塩酸ファスジルは脊髄損傷に対する骨髄間質細胞の移植効果を増強するか？  
千葉泰弘（北海道大学 医学研究科 神経外科）
- 4 ラット脊髄圧挫損傷モデルにおけるbFGF徐放ゼラチンハイドロゲル移植の検討  
古矢丈雄（千葉大学 大学院 医学研究院 整形外科）
- 5 rhHGFは頸長頸脊髄損傷後の上肢運動機能回復を促進する：コモンマーモセットを用いた前臨床試験  
北村和也（慶應義塾大学 医学部 整形外科、慶應義塾大学 医学部 生理学）
- 6 ALSモデルTgマウスにおける肝臓の一過性傷害とその回復過程に伴うHGFとc-Metの発現調節  
大谷若菜（大阪大学 大学院 医学系研究科 分子再生医学）

### O-20-2 血管内皮前駆細胞移植によるJagged1/Notchシグナルを介した脊髄再生メカニズム

亀井直輔<sup>1</sup>、権 相模<sup>1</sup>、石川正和<sup>2</sup>、越智光夫<sup>2</sup>、浅原孝之<sup>1</sup>

<sup>1</sup>先端医療センター 血管再生研究グループ、<sup>2</sup>広島大学大学院 歯歯薬学総合研究科 整形外科

【目的】本研究ではJagged1 conditional knockout mouseを用いて、損傷脊髄に血管内皮前駆細胞（EPC）を移植した際のJagged1/Notchシグナルを介した脊髄再生メカニズムについて明らかにすることを目的とした。

【方法】Jagged1 conditional knockout mouseおよびwild type mouseの骨髄細胞から単核球を分離した後、1週間の培養でEPCを樹立した。マウス胸髄圧挫損傷モデルに対し、PBSもしくは $1 \times 10^6$ 個のEPCを経静脈的に投与した（PBS群、Jag1+/+EPC群、Jag1-/EPC群）。

【結果】運動機能評価では、Jag1+/+EPC群のBBBスコアが損傷後2週以降で他の2群よりも有意に高く、PBS群とJag1-/EPC群との間には有意差を認めなかった。経頭蓋電気刺激による後肢からの運動誘発電位測定でも同様の結果であった。組織学的評価では、損傷後3日の血管数はJag1+/+EPC群、Jag1-/EPC群ともにPBS群よりも有意に多く、これらの2群間に有意差を認めなかった。また、Jag1+/+EPC群では反応性アストロサイトの増殖が他の2群よりも有意に促進されていた。損傷後2週目の損傷部においてPBS群とJag1-/EPC群では正常脊髄組織に比べて有意に太い異常血管を認めたが、Jag1+/+EPC群では正常組織の血管径と同様であった。

【考察】EPC移植による反応性アストロサイトの誘導と血管成熟促進においてJagged1/Notchシグナルを介したメカニズムの存在が示唆された。

### O-20-1 ラット脊髄圧挫損傷モデルにおけるグリア前駆細胞由来アストロサイト移植の検討

古矢丈雄<sup>1</sup>、橋本将行<sup>2</sup>、国府田正雄<sup>3</sup>、村田 淳<sup>1</sup>、大河昭彦<sup>1</sup>、山崎正志<sup>1</sup>、高橋和久<sup>1</sup>

<sup>1</sup>千葉大学 大学院 医学研究院 整形外科、<sup>2</sup>千葉市立浜浜病院 整形外科、<sup>3</sup>千葉市立青葉病院 整形外科

【背景・目的】脊髄損傷後のglial scarは軸索再生にとって物理的障害となるといわれる一方、炎症組織を取り囲む様子から周囲健康組織への炎症波及を防いでいるともいわれている。また胎児由来アストロサイトは軸索再生に有効であるとされる。今回我々はこれらアストロサイトのbeneficialな面に着目し当研究を企画した。

【方法】胎生14日GFP Tg SDラットの脊髄を採取しMACSを用いグリア前駆細胞 (glial-restricted precursor, 以下GRP) を分離、これを1型アストロサイトへ分化誘導した (Glial-restricted precursor derived astrocyte, 以下GDA)。9週齢雌性SDラットの第9-10胸椎を椎弓切除後、IH Impactor (200Kdyn) を用いて脊髄圧挫損傷モデルを作成、損傷3日後または1週後に損傷中心部へGDAを $1.0 \times 10^5$ 個移植した。両者を行動学および組織学的に比較検討した。

【結果】MACS回収細胞中GRPは90.7%の割合で存在した。また、GRPからGDAへの誘導効率率は76.9%であった。3日後移植群、7日後移植群とも移植後10週の時点で移植細胞の残存が確認された。移植細胞は組織内で長軸方向にmigrationしたり、損傷空洞を取り囲む様子が観察された。2群を比較すると3日後移植群は7日後移植群に比べ有意な行動回復が得られた。

【結論】脊髄損傷後早期におけるグリア前駆細胞由来アストロサイト移植は有用な治療選択肢の1つになりうる可能性が示唆された。

### O-20-3 塩酸ファスジルは脊髄損傷に対する骨髄間質細胞の移植効果を増強するか？

千葉泰弘、黒田 敏、矢野俊介、丸一勝彦、長内俊也、穂刈正昭、七戸秀夫、飛騨一利、岩崎喜信

北海道大学 医学研究科 神経外科

【目的】われわれは損傷脊髄に移植された骨髄間質細胞(BMSC)が皮質脊髄路の修復に寄与していることを報告した。その治療効果をより向上させるために脊髄損傷モデルにBMSC移植に加えてRhoキナーゼ抑制剤である塩酸ファスジルを投与して相乗効果を検討したので報告する。【方法】Pneumatic impact deviceを用いてT10レベルでラット不完全脊髄損傷モデルを作成した。脊髄損傷直後から14日間にわたり連日、塩酸ファスジルを投与した。脊髄損傷7日後にBMSCあるいはvehicleを損傷から頭側5mmの部位に移植した。BMSC群、ファスジル群、BMSC+ファスジル群、vehicle群を作成し、経時的に後肢運動機能を評価した。移植8週後に損傷から頭側10mmの皮質脊髄路にFluoro-ruby (FR)を微量注入したのち組織学的評価を行なった。【結果】Vehicle群に比べてBMSC群、BMSC+ファスジル群で有意な神経症状の改善が認められたが、両者の間には有意差はなかった。しかし、BMSC群と比較し、BMSC+ファスジル群で損傷部尾側のFR陽性軸索数が有意に増加していた。【結語】塩酸ファスジルはBMSC移植による脊髄損傷後の皮質脊髄路再生をさらに促進させる可能性が示唆された。

## O-20-4 ラット脊髄圧挫損傷モデルにおけるbFGF徐放ゼラチンハイドロゲル移植の検討

古矢丈雄<sup>1</sup>, 橋本将行<sup>2</sup>, 国府田正雄<sup>3</sup>, 村田 淳<sup>1</sup>,  
大河昭彦<sup>1</sup>, 山崎正志<sup>1</sup>, 出澤真理<sup>4</sup>, 松瀬 大<sup>4</sup>,  
田畑泰彦<sup>5</sup>, 高橋和久<sup>1</sup>

<sup>1</sup>千葉大学 大学院 医学研究院 整形外科, <sup>2</sup>千葉市立海浜病院 整形外科, <sup>3</sup>千葉市立青葉病院整形外科, <sup>4</sup>東北大学大学院医学系研究科細胞組織学, <sup>5</sup>京都大学再生医学研究所生体組織工学研究部門

【背景・目的】再生医療において細胞移植は主たる治療法の1つであるが、移植細胞の生着率・移植後の増殖能という点で問題となることが多い。そのため近年スキャフォールドおよび細胞栄養因子と細胞移植との併用療法が注目されている。ゼラチンハイドロゲルはスキャフォールドとしての役割に加え、細胞栄養因子を徐放する作用を併せ持っている。また、線維芽細胞増殖因子 (basic fibroblast growth factor, 以下bFGF) は強力な血管新生・細胞増殖作用を有する因子の1つである。今回われわれは細胞移植前実験として、ラット脊髄損傷モデルにおけるbFGF徐放ゼラチンハイドロゲル移植の検討を行った。

【方法】8週齢雌性SDラットの第9-10胸椎を椎弓切除後、IH Impactor (200Kdyn) を用いて脊髄圧挫損傷モデルを作成した。損傷から1週後、損傷中心部にbFGFを20 $\mu$ g含んだゼラチンハイドロゲル0.4mgを注入した。対照としてbFGFを含まないゲル単独群および生食投与群を作成し、行動学および組織学的に比較検討を行った。

【結果】生食群と比しbFGF徐放投与群およびゲル単独群において運動機能の増悪はなく、改善傾向を認めた。生食群と比しbFGF徐放投与群は損傷後7週時においてallodyniaの改善を認めた。

【結論】ゼラチンハイドロゲルを用いたbFGF徐放投与は脊髄損傷に対する集学的治療を考える上で有用な選択肢の1つになりうる可能性が示唆された。

## O-20-6 ALSモデルTgマウスにおける肝臓の一過性傷害とその回復過程に伴うHGFとc-Metの発現調節

大谷若菜<sup>1</sup>, 船越 洋<sup>1</sup>, 加藤信介<sup>2</sup>, 加藤雅子<sup>3</sup>,  
中村敏一<sup>4</sup>

<sup>1</sup>大阪大学 大学院 医学系研究科 分子再生医学, <sup>2</sup>鳥取大学 脳研病理, <sup>3</sup>鳥取大学 分子病理, <sup>4</sup>大阪大学 先端科学イノベーションセンター

ALSは神経変性疾患で根本的治療のない致死性疾患である。主に運動神経が変性脱落することからこれまで神経系を標的とした原因解明、治療法に対する研究が行われてきた。一方で、加藤らによりSOD1G93A Tg-マウス (GIH: ALSモデルマウスのひとつ) においては、神経系に加えて肝臓においてもSOD1G93Aが蓄積し肝細胞の組織変化を認めるが、神経とは異なりその変化は一過性で、神経系の傷害が観察される時期までに組織像が回復すると報告された。神経と肝臓の回復機構の比較解析は、本疾患の治療法確立の鍵を握ると考えられる。私達は、この神経変性に対し内因性肝細胞増殖因子 (HGF) は脊髄においてLocalな発現上昇を認めるが、それでは不十分でexogenousなHGF供給がALSの神経細胞変性抑制効果を示すことを報告してきた。HGFはもともと肝細胞増殖活性をもとに精製され多くの肝疾患の肝臓再生過程で機能することが知られる。そこで本研究では、HGFの発現とc-Met受容体のリン酸化(活性化)調節を、GIHの肝臓と神経で比較解析した。免疫染色法とELISA法による解析結果、肝臓回復過程と脊髄変性過程で内因性HGFとphospho-c-Metが各々特徴的変動をすることが明らかとなった。両臓器の生理的回復に差が生じる分子機序解析は、ALS等神経変性疾患進行とその内因性抑制機序の理解に重要を示唆を与える。

## O-20-5 rhHGFは霊長類脊髄損傷後の上肢運動機能回復を促進する: コモンマーモセットを用いた前臨床試験

北村和也<sup>1,2</sup>, 藤吉兼浩<sup>1,2</sup>, 山根淳一<sup>1</sup>, 疋島啓吾<sup>3</sup>,  
豊田史香<sup>3</sup>, 岩波明生<sup>1</sup>, 船越 洋<sup>4</sup>, 中村敏一<sup>4</sup>,  
戸山芳昭<sup>1</sup>, 中村雅也<sup>1</sup>, 岡野栄之<sup>2</sup>

<sup>1</sup>慶應義塾大学 医学部 整形外科, <sup>2</sup>慶應義塾大学 医学部 生理学, <sup>3</sup>実験動物中央研究所, <sup>4</sup>大阪大学 大学院医学系研究科 分子再生医学

【目的】霊長類脊髄損傷に対するrhHGF (肝細胞増殖因子ヒト組換え蛋白質) の有効性と安全性を検討することである。

【方法】コモンマーモセット第5頸髄に圧挫損傷を作製し、直後よりrhHGF400 $\mu$ gを髄腔内に4週間持続投与し (対照群PBS投与)、術後12週間の運動機能評価 (Bar grip test, Open field scoring) を行った。損傷後1・3・12週に頸髄MRI (7.0 tesla) を撮像した。12週目に脊髄を採取し腫瘍形成の有無を含めた免疫組織学的評価を行った。

【結果】rhHGF投与群で有意な運動機能回復が認められた。異常行動は認めなかった。rhHGF投与群では12週目のMRI像において異常信号領域が著明に縮小しており、組織像 (H.E.染色, L.F.B.染色) を反映していた。次にrhHGF投与群では皮質脊髄路を示すCaMK2- $\alpha$ 陽性線維が損傷部より尾側においても有意に保たれており、さらにはChAT陽性ニューロンの著明な神経突起伸長が確認された。また、CGRP陽性C線維の分布に両群間で有意な差を認めなかった。腫瘍形成は1例も認めなかった。

【考察・結論】サル脊髄損傷に対するHGFを用いた治療法の有効性・安全性が確認できたことから、臨床応用へ結びつく可能性が大きく示唆されたと考えている。

## 第9回 日本再生医療学会総会

会 期：2010年3月18日(木)・19日(金)

会 場：広島国際会議場

〒730-0811 広島市中区中島町1番5号

TEL：082-242-7777

URL：<http://www.pcf.city.hiroshima.jp/icch/>

テーマ：フェニックスー次世代の再生医療へー

会 長：越智 光夫

(広島大学大学院 整形外科学)

事務局：広島大学大学院整形外科学

〒734-8551 広島市南区霞1-2-3

電話：082-257-5232

E-mail：[9jsrm@convention.co.jp](mailto:9jsrm@convention.co.jp)

学会ホームページ：<http://www2.convention.co.jp/9jsrm/>

**口演30 神経(脊髄)**

座長：国府田正雄(千葉市立青葉病院 整形外科)

- 1 外傷性脊髄損傷運動機能障害に対するNano PGE<sub>1</sub>製剤の治療効果  
武永美津子(聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター)
- 2 ラット脊髄損傷に対するマウス人工多能性幹(iPS)細胞由来Astrocyte移植効果の検討  
林 浩一(千葉大学大学院 医学研究院 整形外科)
- 3 急性脊髄損傷に対する顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)を用いた神経保護療法—Phase I・IIa臨床試験—  
高橋 宏(千葉大学大学院 医学研究院 整形外科)
- 4 脊髄損傷における自己修復機構-内在性シュワン細胞の寄与-  
名越慈人(国立病院機構 村山医療センター 整形外科, 慶應義塾大学医学部整形外科学, 慶應義塾大学医学部生理学)
- 5 脊髄損傷後の皮質脊髄路軸索再生へ向けた新たなstrategy-neuron intrinsic signalとしてのJak/STAT3活性化-金子慎二郎(国立病院機構村山医療センター整形外科, 慶應義塾大学医学部整形外科学, ハーバード大学医学部)
- 6 Activin/TGFβ signalによるDRG neuronの軸索伸長/再生能の制御—target/皮膚に由来するsignalの関与—  
金子慎二郎(国立病院機構村山医療センター整形外科)
- 7 慢性脊髄圧迫モデル(twy/twy)に対する神経栄養因子遺伝子導入によるapoptosis抑制・neurite伸長効果  
中嶋秀明(福井大学 医学部 器官制御医学講座 整形外科学領域)
- 8 脂肪組織を利用した外傷性脊髄損傷治療の試み  
太田有紀(聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター)

**O-30-1 外傷性脊髄損傷運動機能障害に対するNano PGE<sub>1</sub>製剤の治療効果**

武永美津子<sup>1</sup>, 石原 務<sup>2</sup>, 太田有紀<sup>1</sup>, 都倉享恵<sup>1</sup>, 濱口明美<sup>1</sup>, 五十嵐理慧<sup>1</sup>, 水島 徹<sup>2</sup>

<sup>1</sup>聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター, <sup>2</sup>熊本大学大学院 医学薬学研究部

脊髄損傷疾患へのHGF投与は、新生血管形成作用が一因となって治療効果を発揮すると報告されている。血管新生誘導作用、血流改善作用をもつ生理活性物質にProstaglandin (PG)E<sub>1</sub>がある。本研究では徐放性や滞留性を獲得した新規Nano PGE<sub>1</sub>製剤の本疾患に対する効果を体内動態とあわせて検討した。【方法】雌性ラットT10位の脊髄に重錘落下(10g, 2.5cm)法で損傷モデルを作製し、Nano PGE<sub>1</sub>製剤を損傷30分後単回投与(1あるいは5μg/kg)した。後肢運動機能をBasso Beattie Bresnahan(BBB)スコアで経時的に評価し、損傷脊髄での薬剤動態およびヘモグロビン値を測定した。【結果および考察】Nano PGE<sub>1</sub>投与群の後肢運動機能は、損傷2~3日目までコントロール群に比べ有意に改善し、以降観察期間中有意差がみられた。Nano PGE<sub>1</sub>の損傷脊髄への移行は、健常動物への同用量投与後の脊髄PGE<sub>1</sub>値に比べ20~80倍高く、しかも滞留性が認められた。損傷に伴う血管透過性の亢進がNano PGE<sub>1</sub>の高い移行性および滞留性をもたらしたと考えられる。また損傷7日目のヘモグロビン値は、Nano PGE<sub>1</sub>投与群で高い傾向を示した。集積したnanoparticleから徐々にPGE<sub>1</sub>を放出したことが損傷部位周辺での新生血管形成や血行障害改善作用を導き、これらが残存した神経細胞の生存維持や神経修復に寄与して治療効果につながったと推察された。

**O-30-2 ラット脊髄損傷に対するマウス人工多能性幹(iPS)細胞由来Astrocyte移植効果の検討**

林 浩一<sup>1</sup>, 橋本将行<sup>2</sup>, 国府田正雄<sup>3</sup>

<sup>1</sup>千葉大学大学院 医学研究院 整形外科, <sup>2</sup>千葉市立海浜病院 整形外科, <sup>3</sup>千葉市立青葉病院 整形外科

【背景】Neural Stem Sphere (NSS) 法はES細胞から効率よく神経幹細胞を分化でき、iPS細胞への応用が期待される。脊髄損傷においてAstrocyteは、グリア瘢痕を形成し軸索再生を阻害するが、炎症の拡大を防ぐ有益な面もある。マウスiPS細胞よりNSS法を用いて分化誘導したAstrocyteを、ラット脊髄損傷モデルに移植し、その効果を検討した。【方法】8週齢雌性SDラットの第9-10胸椎レベルに、IH Impactorにて脊髄損傷を作成し、3日後に10万個のiPS細胞由来Astrocyteを髄注(N=20)した。対照群にはDMEMを髄注した(N=10)。行動評価としてBBB score、Inclined plane test、SCANET-40、アロディニアの評価としてThermal hyperalgesia test、Mechanical allodynia testを行った。組織学的検討として残存髄鞘量、Astrocyte量、疼痛ペプチド量を計測した。【結果】作成した神経幹細胞は、継代・凍結保存が可能で、Astrocyteに選択的に分化した。bFGF存在下にNeuronへ、T3存在下にOligodendrocyteへ分化させることも可能であった。Astrocyte移植群に有意な運動機能回復はなく、かえってアロディニアが増強した。組織学的検討では両群間に有意差はなかった。【考察】NSS法は、iPS細胞からの神経系細胞分化に有用である。Astrocyte単独移植では運動機能回復効果が不十分であると考えられた。アロディニアの発生機序に、Astrocyteを含むグリア細胞の活性化の関与が考えられている。

**O-30-3 急性脊髄損傷に対する顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)を用いた神経保護療法—Phase I・IIa臨床試験—**

高橋 宏, 山崎正志, 大河昭彦, 國府田正雄,

橋本将行, 林 浩一, 佐久間毅, 高橋和久

千葉大学大学院 医学研究院 整形外科

【目的】メチルプレドニソロンに変わる新たな急性期脊髄損傷治療薬の開発を目的とした急性脊髄損傷に対するG-CSFを用いた神経保護療法について、安全性確認を主目的とするphase I, IIa臨床試験を開始した。【方法】平成20年4月より平成21年9月に当院に搬送された急性脊髄損傷患者6例に対し、本人の自由意志による文書同意を得た後、G-CSF 5μg/kg/dayを連続5日間点滴静注投与した。投与後の有害事象を確認し、副作用の確認の為血液検査を行い、運動・感覚麻痺の推移の評価を行った。【結果】白血球数は投与前平均10.6±2.5(×10<sup>3</sup>/μl)に比し、投与開始翌日には30.3±4.9(×10<sup>3</sup>/μl)と投与前より上昇し(p<0.01)投与期間中は高値を維持し、投与後7日目には投与前の値に戻った。好中球数も投与前平均7.87±2.0(×10<sup>3</sup>/μl)に比し、投与開始翌日には25.8±5.9(×10<sup>3</sup>/μl)と増加し(p<0.01)、投与期間中は高値を維持し、最終投与翌日には投与前の値に戻った。CRPその他検査値に投与による変化はなく、その他有害事象の発生はなかった。神経所見は投与後に程度の差はあるが全例で運動、感覚麻痺の改善が得られた。【考察】急性脊髄損傷に対するG-CSFを用いた神経保護療法の臨床試験を初めて行い、今回の投与量では有害事象の発生はなかった。安全性が確認された後、治療効果の評価を目的とする臨床試験phase IIbに進み、脊髄損傷治療におけるG-CSF神経保護療法の有用性を実証したい。

# 日本脊椎脊髓病学会雑誌

第20巻 第1号

2009年3月20日発行

**The Journal of  
the Japanese Society for Spine Surgery  
and Related Research**

Vol. 20 No. 1

March 20, 2009

## 第38回日本脊椎脊髓病学会

The 38th Annual Meeting of  
the Japanese Society for Spine Surgery and Related Research

会 長： 米 延 策 雄

会 期： 平成21年4月23日(木)・24日(金)・25日(土)

開催地： 神戸市

1-6-F4-2

## 関節リウマチ症例における 軸椎椎弓根スクリュー刺入の可否に関する検討

安宅 洋美, 丹野 隆明, 宮下 智大, 山崎 正志\*  
国保松戸市立病院整形外科, \*千葉大学整形外科

【目的】軸椎(C2)を含む上位頸椎不安定性に対する固定術にはC2椎弓根スクリュー(PS)が広く用いられるが, 椎弓根径や椎骨動脈(VA)走行の解剖学的なバリエーションのため刺入不可能な例も存在する。C2PS刺入不可能の頻度は0-10%と報告されているが, 関節リウマチ(RA)症例での検討の報告はほとんどない。本研究の目的は当科に入院したRA症例に対し3DCTを用いてC2PS刺入の可否を評価し, 刺入不可能例について検討することである。

【対象と方法】対象は2006年9月以降, リウマチ病変に対する手術目的に当科入院したRA56例で, 女性53例, 男性3例, 手術時平均年齢は66.8歳, 施行した手術は, 関節手術が46例(股、膝、肘関節の人工関節全置換術:41例, 足趾形成術:5例), 頸椎手術が10例(後頭骨軸椎後方固定術:7例, 後頭骨胸椎後方固定術:1例, 中下位頸椎前方後方固定術:2例)であった。RA罹病期間は平均20.5年, ムチランス型RAが19例, 非ムチランス型が37例で, リウマチ機能分類はclassII:8例, III:38例, IV:10例であった。56例中40例(71.4%)にリウマチ性頸椎病変が認められ, その内訳は環軸椎亜脱臼(AAS):13例, AAS+軸椎下亜脱臼(SAS):2例, 環軸椎垂直亜脱臼(VS):5例, AAS+VS:13例, AAS+VS+SAS:4例, SAS:3例で, 22例にVSを合併していた。

全例で術前頸椎3DCT撮影を施行し, 画像データを再構築して56例112側のC2椎弓根に対し径3.5mmのPS刺入が可能か否かを解析した。その方法は, C2椎弓根部の矢状面再構築像を1mm間隔で作成し, 連続した4スライスで安全なスクリュー刺入路の作成が可能なるものを刺入可能, 2スライス以下のものを刺入不可能と判断した。3スライスで刺入路作成可能な場合はMPR法でスクリュー刺入路の再構築断面画像を作成し, 刺入経路の最狭部の距離が4mm以上を刺入可能, 4mm未満を不可能と判断した。統計にはFisher's exact probability testを用い, 危険率5%未満を有意とした。

【結果】C2PS刺入不可能の頻度は112側中52側(46.4%)であった。リウマチ性頸椎病変を伴う80側中43側(53.8%)が刺入不可能と判断され, リウマチ性頸椎病変を伴わない32側中9側(28.1%)より有意に高率であった( $p<0.05$ )。ムチランス型RAの38側中25側(65.8%)が刺入不可能と判断され, 非ムチランス型の74側中27側(36.5%)よりも有意に高率であった( $p<0.01$ )。ま

た, VS合併の22例では44側中31側(70.5%)が刺入不可能で, VSを合併していない34例の68側中21側(30.9%)と比較して有意に高頻度であった( $p<0.0001$ )。刺入不可能の原因はhigh riding VA:29側, C2外側塊の高度骨破壊:27側, 椎弓根径狭小化:4例であった。上位頸椎手術施行8例16側では12側(75%)がC2PS刺入不可能と判断され, それらに対してはshort pars interarticularis screwまたはintralaminar screwを用い, 術中神経血管損傷はなかった。刺入可能と判断された4側では側面透視下に刺入を行い, 術後CTでスクリューの誤刺入や骨皮質穿破は認めなかった。

【考察および結論】今回3DCT画像の形態計測により, C2椎弓根部のスクリュー刺入経路最狭部径が4mm未満を刺入不可能と判断したが, コンピューターナビゲーションシステムを用いた報告においても刺入経路径4mm以下を刺入不可能としており, われわれの3DCT画像解析方法によるC2PS刺入の可否の判断は妥当であると考えられる。Miyataら(2008)はナビゲーションシステムを用い, RA症例の42%でC2PS刺入不可能と判断されたことを報告したが, 今回の3DCT解析でも同様の結果であり, RA症例ではVA走行異常や高度骨破壊のために46.4%という高率でC2PS刺入不可能と判断された。特にムチランス型RAでは65.8%, VS合併例では70.5%と著しく高頻度にC2PS刺入は不可能であることが今回の検討により明らかとなり, このような例の上位頸椎手術に際しては3DCT画像解析による術前検討が必須である。さらにC2PS刺入不可能と判断された例に対しては, intralaminar screw など他のC2固定法の工夫により神経・椎骨動脈損傷を回避できると考えられた。

Feasibility of C2 pedicle screw placement in patients with rheumatoid arthritis

H. Ataka, et al.

Key words : rheumatoid arthritis, pedicle screw, 3DCT



1-P4-5

## 頸椎OPLLに対する前方除圧術の工夫とその成績

望月 真人, 相庭 温臣, 山崎 正志\*  
沼津市立病院整形外科, \*千葉大学整形外科

【目的】頸椎後縦靱帯骨化症(以下OPLL)に対しては、1997年より全例前方からの骨化巣摘出術を施行して来たが、骨化巣摘出操作による手術時間の延長、出血量の増加、脊髄および前根損傷の危険性あるいは硬膜欠損による髄液漏それに伴う術後気道閉塞などの問題があった。2005年からは占拠率50%以上の症例では、硬膜欠損を生じている骨化巣部では、硬膜の厚さまで骨化巣を菲薄化、残存(浮上)し、他部位では骨化巣を摘出する方法に変え手術時間の短縮、合併症の軽減に勤めて来た、本研究の目的は、2005年以降の手術成績につき調査し、本手術法の妥当性について検討する事である。

【対象】対象は2005年1月より2007年8月までのOPLLに対する前方手術41症例(以下PE群)で、手術椎間数は、1椎間4例、2椎間12例、3椎間7例、4椎間15例、5椎間3例であった。対照群は、1997年より2004年までの前方骨化巣摘出手術68症例で、手術椎間数は、1椎間症例なし、2椎間7例、3椎間16例、4椎間35例、5椎間10例であった(以下E群)。

【方法】検討項目は、各椎間別症例での手術時間、出血量および周術期合併症およびJOA scoreとした。統計処理はMann-Whitney 検定、Fisher Exact 検定を使用し、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

【結果】手術時間(PE群/E群)では、1椎間症例 $90 \pm 12$ 分/E群症例なし、2椎間症例 $121 \pm 37/166 \pm 19$ 分( $p < 0.05$ )、3椎間症例 $181 \pm 36/229 \pm 39$ 分( $p < 0.05$ )、4椎間症例 $224 \pm 60/274 \pm 77$ 分、5椎間症例 $240 \pm 9/443 \pm 89$ 分( $p < 0.05$ )であった。出血量では、それぞれ $15 \pm 10$ /E群症例なし、 $44 \pm 39/47 \pm 19$ g、 $90 \pm 44/164 \pm 116$ g( $p < 0.05$ )、 $117 \pm 86/195 \pm 167$ g( $p < 0.05$ )、 $127 \pm 64/439 \pm 333$ g( $p < 0.05$ )であり、合併症(PE群/E群)ではCSF leak 5/16例、C5麻痺3/7例、移植骨脱転1/1例で、輸血を必要とした症例は0/5例であった。JOA score(PE群/E群)では、術前 $14 \pm 1.7$ /症例なし、 $9.9 \pm 2.9/13.9 \pm 0.8$ 、 $9.3 \pm 2.1/10.8 \pm 2.3$ 、 $10.8 \pm 2.6/10.3 \pm 2.1$ 、 $12.8 \pm 2.5/9.4 \pm 3.2$ が最終観察時、 $16 \pm 1.7$ /症例なし、 $13.8 \pm 2.7/16.8 \pm 0.3$ 、 $13.9 \pm 2.7/15.4 \pm 1.7$ 、 $15.2 \pm 1.7/15.4 \pm 1.7$ 、 $15.5 \pm 0.8/14.3 \pm 2.4$ であった。

【考察】硬膜欠損部のみを硬膜の厚さまで菲薄化し残存させる方法は、手術時間の短縮、出血量の軽減を可能とした。周術期合併症の減少傾向も認められ、OPLLに対する前方法がより安全に施行可能となった。またJOA scoreも2群間で術前有意に差のある椎間以外は

術後成績では差は認めてはならず、妥当な方法であると結論できた。また術後平均4週での骨化巣浮上を確認する山浦らの報告した浮上術とは異なり、本法では術中real timeに非薄化した骨化巣の浮上を確認でき、確実な脊髄の除圧が術中に得られているため、術後骨化巣浮上障害による除圧不足となる症例はない利点を有している優れた前方法である。

【結論】OPLLに対する本手術法は、骨化巣全摘出術あるいは浮上術に比べ優れた方法である。

Clinical outcome of our method of anterior decompression for cervical OPLL

M. Mochizuki, et al.

Key words : cervical OPLL, anterior surgery, dural defect

1-P18-1

## 前方椎弓根スクリュー刺入に関する解剖学的検討

門田 領, 新羽 正明\*, 政木 豊\*, 大河 昭彦, 山崎 正志  
 千葉大学医学部附属病院整形外科, \*国保成東病院整形外科

【目的】頸椎前方除圧固定術は有用な術式だが、3椎間以上の長範囲では術後管理・合併症の問題がある。従来は移植骨の脱転防止のため、ハローベスト装具、プレート併用、前後合併手術が用いられてきたが、それぞれ固定期間や固定性、手技の煩雑さの問題があった。

前方椎弓根スクリュー (Anterior Pedicle Screw; APS) 使用による頸椎前方除圧固定は手術手技も前後同時手術に比べ簡便で、ハローベストによる術後の外固定が不要でありながら強力な固定力が得られる有用な方法である (Aramomi: Acta Neurochir, 2008)。本法におけるAPS刺入は、イメージ透視下に椎弓根軸射を確認し、一定の刺入角度 (50度) で行われる。

スクリュー逸脱率は臨床例において2%と低い (新羽, 日本脊椎インストゥルメンテーション学会, 2008)、更なる精度向上のためには、APS刺入に際し重要な解剖学的要素を検討することが重要である。またスクリュー刺入とその角度決定が移植骨設置に先行するという手技の特性上、スクリューに対しての適切な移植骨設置位置を検討する必要がある。

【方法】対象症例：当院にて2002年3月から2008年2月までの期間に脊椎造影検査・CTM をうけた頸椎OPLL症例33症例 (男性26例、女性7例、平均年齢61.2歳) を対象とした。CTMは連続撮影したものを椎弓根面に一致させて再構成し、C4, 5, 6の各椎弓根に対して検討を行った。ただし、以下の検討では椎体開削幅は20mmで行ったものとし、(2)、(3)ではAPS角度は50度とした。

検討項目：(1) 椎弓根角度；椎弓根角度は椎弓根の軸と椎体の後壁に対する垂線のなす角度とした。椎弓根軸は各検討で定義した。(a) 椎弓根解剖学的角度 (解剖角)：椎弓根軸は椎弓根の近位と遠位の各々の中点を結ぶ線として計測した。(b) 椎弓根角度自由度：APS角度50度で椎弓根中央部を通過する線と椎体開削後の側壁との交点から、椎弓根の前壁・後壁に対しての接線を椎弓根軸とした。各々の椎弓根軸のなす角度を最大角、最小角とした。(2) APS刺入部の側壁での指標；APS刺入部-後壁間の距離を計測した。(3) 移植骨設置位置；移植骨標準モデルを10mmの正円とし、設置位置は移植骨と椎体の前縁が一致するものとした。APSが移植骨の中心を貫通するために必要な移植骨の側方移動量を求めた。

【結果】(1) (a) 解剖角；C4：47.4度、C5：46.2度、C6：43.8度であっ

た。C6では有意に角度が小さかった ( $p < 0.01$ )。(b) 最大角；C4：57.3度、C5：56.7度、C6：58.9度、最小角；C4：38.1度、C5：36.0度、C6：35.8度であった。APSの角度 (50度) に対してかなりの自由度を有していた。(2) APS刺入部-後壁間の距離は、C4：4.2mm、C5：4.6mm、C6：4.8mmであった。(3) 移植骨設置位置は全ての高位でAPS刺入側に軽度の偏位がみられた (C4：1.4mm、C5：1.8mm、C6：1.6mm)。

【考察】解剖角とAPS刺入部-後壁間の距離の検討から、APS刺入の指標が得られた。APS刺入部-後壁間の距離は、斜位透視像と併せて検討すれば椎体開削の位置確認の指標に出来る可能性もある。またAPS角度の自由度の検討から、APS角度50度刺入を想定していても、±10度近い自由度を有していることが分かった。この原因として、1) 椎弓根自体に幅があること、2) 椎体開削幅20mmではAPS刺入点が椎弓根入口部に近づくためにその分自由度が高まること、などが考えられる。移植骨設置位置の検討からは、移植骨の至適設置位置の指標が得られた。APS角度50度の場合には約2mm弱移植骨はAPS刺入側に偏位している。移植骨を正中に設置した場合には若干貫通位置が浅くなる可能性が示唆された。また開削幅に対しての関係も同時に示唆された。中心からの開削幅は移植骨半径5mm+側方移動量2mm=7mmあれば移植骨を設置できることになるが、移植骨は実際には正円形ではないためその中心は側壁からある程度の余裕をもって設置せざるを得ない。その分、側方に開削幅は広がる必要がある。このため移植骨設置を行う意味でも開削幅に余裕を見てもおく必要があると思われた。

【結論】頸椎OPLL症例に対するAPS刺入を想定し、APS刺入に際し重要な解剖学的要素と移植骨設置位置に関する検討を行った。今回の検討は、APS刺入の精度向上に役立つと考えられる。

The anatomical study about anterior pedicle screw insertion

R. Kadota, et al.

Key words : anterior cervical interbody fusion, pedicle screw fixation

1-P18-2

## 前方椎弓根スクリュー刺入角度の検討

新羽 正明, 政木 豊, 門田 領\*, 大河 昭彦\*\*, 山崎 正志\*\*

国保成東病院整形外科, \*国保小見川総合病院整形外科, \*\*千葉大大学院整形外科

【目的】我々は多椎間頸椎前方固定術における移植骨内固定法として前方椎弓根スクリュー (Anterior Pedicle Screw、以下APS) 刺入法を考案し、その基礎実験、臨床経験について報告してきた (Aramomi: Acta Neurochir, 2008)。今回APSの安全性を評価すべく、cadaverおよび臨床例のAPS刺入角度について検討する。

## cadaverを用いた実験

【方法】ホルマリン固定屍体12体からC2~Th1椎骨を取り出し、C3-C6、もしくはC3-C7の椎体切除を施行。椎体切除幅は幅15mm以上とし、45度斜位透視下に椎弓根の位置を確認した。側面透視像と角度計を用い、開削した椎体の内側壁から45度の角度で椎弓根にガイドピンを刺入、さらに4.0mm cannulated screwを前方から刺入した。開削椎体は47椎体、刺入スクリューは合計94本であった。スクリュー刺入後のCT撮像およびスクリュー抜去後の消息子を用いた触診を行い、椎弓根穿孔の有無と実際のスクリュー刺入角度を調査した。穿孔の程度は、CTでは診断不能であり触診のみで穿孔がわかるnon-critical perforationと、CTで明らかな椎弓根からの逸脱を認めるcritical perforationに分類した。

【結果】穿孔なし86椎弓根 (91.5%)、non-critical perforation 6椎弓根 (6.4%)、critical perforation 2椎弓根 (2.1%) であった。CTによるスクリュー刺入角度は $48.8 \pm 5.1$  (Mean  $\pm$  SD) 度であった。

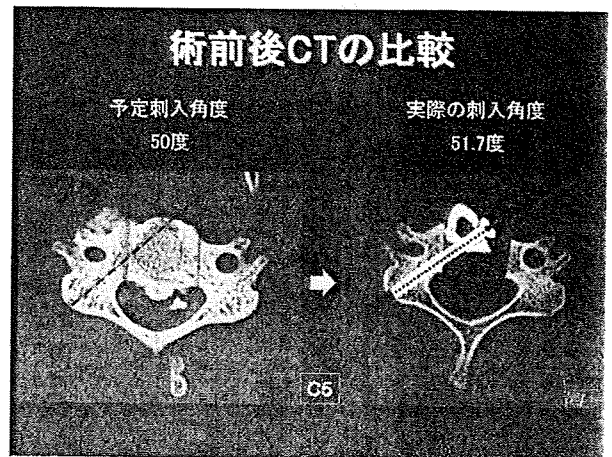
## 臨床例の検討

【方法】当科にてAPSを用いて3椎間以上の頸椎前方固定術を施行した19例を対象とした。男性14例、女性5例。手術時平均年齢は56.1歳であった。疾患は頸椎後縦靭帯骨化症10例、頸椎多椎間ヘルニア 3例、脊柱管狭窄を伴う頸椎椎間板ヘルニア3例、頸椎症性筋萎縮症2例などであり、固定範囲はC3-6が1例、C4-7が6例、C5-Th1が1例、C3-7が10例、C3-Th1が1例であった。刺入したAPSは合計50本であった。スクリュー刺入点の決定には斜位透視像を用い、スクリュー刺入時には千葉大式脊椎用角度計と側面透視像を用いた。すべてのスクリューを垂直方向から50度の角度で刺入し、術後CTによるスクリュー刺入角度と逸脱の有無、術後1年以上経過した症例の臨床成績、骨癒合率を検討した。

【結果】術後CTによる評価ではスクリューの椎弓根外逸脱は1本 (2.0%) であり、スクリュー刺入角度は

$48.8 \pm 4.8$  (Mean  $\pm$  SD) 度であった。逸脱したスクリューの刺入角度は58.6度と大きく、全スクリュー中、最大値であった。術中椎骨動脈や神経の損傷はなく、経過観察中に移植骨やスクリューの脱転は認めなかった。術後1年以上経過した13例中11例で骨癒合が完成していた。JOA scoreは術前平均9.1点から最終観察時平均13.8点に改善し、改善率は平均67%であった。

【考察】術中透視および角度計を用いることにより、臨床例でもcadaver実験同様、比較的安全にAPS刺入は可能であった。しかし術前計画と実際の刺入角度には、2SDである10度程度の誤差を生じる可能性があることが判明した。ナビゲーションシステムなどを用いない限り、この誤差を大幅に小さくすることは難しいと思われる。安全なAPS刺入のためには刺入角度の自由度をできるだけ大きくする必要がある。なるべく幅広く椎体を開削し、刺入点を椎弓根へ近づけることにより刺入角度の安全域は広がると考えられ、十分な除圧幅を確保することが重要と思われた。



Insertion Angle of Anterior Pedicle Screw

M. Aramomi, et al.

Key words : cervical spine, anterior surgery, pedicle screw

1-P19-5

## 脊髄損傷慢性期における細胞外マトリックス分解促進による グリア瘢痕抑制効果

川辺 純子, 国府田 正雄\*, 橋本 将行\*\*, 藤由 崇之, 古矢 丈雄, 遠藤 友規, 林 浩一, 大河 昭彦,  
山崎 正志, 高橋 和久

千葉大学大学院医学研究院整形外科, \*千葉市立青葉病院整形外科,

\*\*千葉市立海浜病院整形外科

【目的】 Matrix Metalloproteinase (MMP) は細胞外マトリックスを特異的に分解し組織の構築や恒常性の維持に重要な役割を果たす分解酵素であるが、腫瘍転移・浸潤や炎症など多くの疾患病態にも関与している。近年、脊髄損傷後の病態にもMMPの関与が報告されており、なかでも、gelatinase群のMMP-2, 9やマクロファージ由来のMMP-12は脊髄損傷後の病態への関連が報告されている。

脊髄損傷慢性期では反応性astrocyteがグリア瘢痕を形成し、軸索伸展を物理的にブロックするほか、損傷後長期にわたってコンドロイチン硫酸プロテオグリカン (CSPG; Chondroitin Sulfate Proteoglycans) が分泌され、化学的にも軸索伸展阻害が働く。これまで脊髄損傷慢性期のグリア瘢痕に対して様々な治療戦略が考案されてきたが、その効果については一定の見解を得ない。

今回、ラット大脳皮質由来グリア細胞およびラット脊髄圧挫損傷モデルを用いて、グリア瘢痕ならびにCSPGに対するMMPの効果と、脊髄損傷慢性期治療への可能性について検討した。

【方法】 [in vitro] Cytokine刺激し、CSPG産生が増大した状態の培養グリア細胞に、さらにミクログリアの強力な活性物質であるlipopolysaccharide (LPS) 刺激を加えることでMMP発現・活性化を増大させる。MMP発現・活性化状況と、CSPG発現への影響を (1) 免疫組織学的評価 (2) Real time PCR、ゼラチンザイモグラフィ、Western blotting (3) Neurite assayにて検討した。

[in vivo] ラット脊髄圧挫損傷モデル (IH spinal cord impactor, 200Kdyne, T8/9 level) を作成、2群に分けた。LPS群は受傷後4週目よりLPS 10  $\mu$ g/day を連続5日間腹腔内投与、control群は生理食塩水を投与した。各群で (1) 免疫組織学的検討 (2) Real time PCR (3) 経時的後肢運動機能評価をおこなった。

【結果および考察】 [in vitro] RT PCR の結果、TGF- $\beta$ やEGFなどの刺激により、培養グリア細胞のCSPG mRNA発現は増大した。免疫染色ではサイトカイン刺激でグリア細胞外マトリックス内にCSPG発現が増強し、さらにLPSを加えるとCSPG発現抑制が観察された。ゼラチンザイモグラフィでは、LPSを加えた群でMMP-2

の活性が上昇していることがわかり、内在性MMP-2の活性化がCSPGの溶解に関与していることが示唆された。

[in vivo] 免疫組織学的評価にてcontrol群と比較して、LPS群ではCSPGの発現が減少しており、LPS刺激により内因性MMP発現・活性化が増大することでCSPG分解が促進されたと考えられた。後肢運動機能は受傷後10週目までは2群間に統計学的有意差は見られなかった。さらに現在、より長期の行動学的観察およびLPS刺激による軸索再生の変化などにつき検討中である。過去の報告ではMMP-2の活性が、脊髄損傷後CSPGを溶解することや、MMP-2ノックアウトマウスは脊髄損傷後CSPG分解能が低下したことなどが述べられている。今回の研究結果でMMPを介したグリア瘢痕への作用が脊髄慢性期治療のbreak throughとなる可能性が示唆された

Suppression of glial scar inhibition by promoting degradation of extracellular matrix after chronic spinal cord injury

J. kawabe, et al.

Key words : Matrix Metalloproteinase (MMP), Chondroitin Sulfate Proteoglycans (CSPG), chronic spinal cord injury