

表5. G-CSF投与後のCRP値の変化

症例 No	投与前	投与開始後									
		1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	2週間	1ヵ月	
1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.2	0.2	NA	NA	0.3	0.1	
2	0.1	0.1	0.1	0.2	0.3	0.2	0.3	0.8	4.2*	0.3	
3	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1	0	0.1	0.1	1.3*	0.1	
4	2.8	3.2	3.2	2.7	2.4	2.3	2.3	NA	16.7*	13.8**	
5	0.6	0.6	0.8	0.9	0.8	0.9	0.8	NA	0.6	0.1	

単位:mg/dl, NA:未検, \*手術に伴う上昇, \*\*創感染に伴う上昇

#### D. 考察

今回施行した臨床試験は phase I・IIa であり、圧迫性脊髄症の急性増悪例に対する G-CSF 神経保護療法についての安全性確認を主目的としたものである。その第 1 段階として、圧迫性脊髄症の急性増悪患者 5 例に対して、G-CSF 5  $\mu$ g/kg/日を 5 日間点滴静注投与した。その結果、G-CSF 投与期間中および投与後に有害事象の発生はなく、今回の投与量および投与方法であれば、G-CSF 神経保護療法の安全性に問題はないと考えられた。今回の G-CSF 投与量 5  $\mu$ g/kg/日  $\times$  5 日間は、これまでに心筋梗塞に対して行われた Valgimigli らの臨床試験と同一の投与量であり、投与開始後の血液所見の変化も彼らの報告と類似している[9]。心筋梗塞に対する他施設での臨床試験では、G-CSF 10  $\mu$ g/kg/日を 4-6 日間皮下注で投与している[22, 23]。われわれも、今後は第 2 段階として G-CSF 投与量を 10  $\mu$ g/kg/日  $\times$  5 日間と増量した臨床試験を行い、これらのデータと比較検討する必要がある。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および感覚麻痺の改善が得られた。今回はコントロールを設定していないため結論できないが、G-CSF が圧迫性脊髄症の急性増悪期においても神経保護作用を持つ可能性が

十分に期待される。現在、圧迫性頸髄症急性増悪例に対する有効な治療薬はない。したがって、G-CSF 神経保護療法の有効性、安全性が証明され、臨床の現場での使用が可能となれば、患者にとって大きな福音となろう。

G-CSF 神経保護療法の投与量を設定するにあたっては、台湾で行われた Shyu らの脳梗塞に対する臨床試験の報告を参考にした[24]。この報告では、G-CSF 15  $\mu$ g/kg/日を連続 5 日間皮下注で投与しており、われわれも臨床使用の G-CSF 投与量を 15  $\mu$ g/kg/日を念頭に計画している。臨床試験 phase I・IIa では、第 1 段階として G-CSF を 5  $\mu$ g/kg/日  $\times$  5 日間は 5 例に、第 2 段階として 10  $\mu$ g/kg/日  $\times$  5 日間は 5 例に、第 3 段階として 15  $\mu$ g/kg/日  $\times$  5 日間は 5 例に、そして第 4 段階で 15  $\mu$ g/kg/日  $\times$  10 日間は 5 例で施行する計画を立てており、今回は、その第 1 段階に相当する。今後は、各段階ごとに有害事象の有無、検査データ、神経所見を検討し、その結果を加味して、次の段階へと試験を進めていきたい。

臨床試験 phase I・IIa で G-CSF 投与の安全性が確認できれば、次の段階として、G-CSF の治療効果の評価を主目的とする臨床試験 phase IIb に進む計画である。phase IIb では試験デザインをランダム

化二重盲検プラセボ対照比較試験とする予定である。試験薬の用法、用量、投与期間として、現段階では、G-CSF 15  $\mu$ g/kg/日を連続 10 日間点滴静注する治療群と、生理食塩水を同一条件で点滴静注するコントロール群を無作為に設定する計画を立てている。そして、G-CSF 治療群およびコントロール群とも 20 例の試験を行う予定である。今回の試験では、G-CSF 投与後に全例で何らかの神経症状の改善が得られた。しかし、圧迫性脊髄症では、自然経過で神経症状の寛解、増悪がある程度得られるため、G-CSF 投与が有意に神経症状の改善をもたらしたか否かの評価は容易ではない。臨床試験 phase IIb を完遂することにより、G-CSF が圧迫性脊髄症の急性増悪例に対する治療薬としての評価に耐えうるものであるかを明らかにしたい。

#### E. 結論

頸椎・胸椎後縦靭帯骨化症に伴う重度脊髄症に対して、G-CSF 神経保護療法が治療法の一つの選択肢になる可能性が示唆された。安全性確立の後には phase IIb に進み、本治療法の有効性を評価したい。

#### 参考文献

1. Kameyama T, Hashizume Y, Ando T, Takahashi A, Yanagi T, Mizuni J. Spinal cord morphology and pathology in ossification of the posterior longitudinal ligament. *Brain* 1995; 118: 263-78.
2. Baba H, Maezawa Y, Imura S, Kawahara N, Nakahashi K, Tomita K. Quantitative analysis of the spinal cord motoneuron under chronic compression: An experimental observation. *J Neurol* 1996; 243: 109-6.
3. Katoh K, Ikata T, Katoh S, Hamada Y, Nakauchi K, Sano T, Niwa M. Induction and its spread of apoptosis in rat spinal cord after mechanical trauma. *Neurosci Lett* 1996; 216: 9-10.
4. Liu XZ, Xu XM, Hu R, Du C, Zhang SX, McDonald JW, Dong HX, Wu YJ, Fan GS, Jacquin MF, Hsu CY, Choi DW. Neuronal and glial apoptosis after traumatic spinal cord injury. *J Neurosci* 1997; 17: 5395-406.
5. Crowe MJ, Bresnahan JC, Shuman SL, Masters JN, Beattie MS. Apoptosis and delayed degeneration after spinal cord injury in rats and monkey. *Nat Med* 1997; 3: 73-6.
6. Nakahara S, Yone K, Sakou T, Wada S, Nagamine T, Niiyama T, Ichijo H. Induction of apoptosis signal regulating kinase 1 (ASK1) after spinal cord injury in rats: Possible involvement of ASK1-JNK and -p38 pathways in neuronal apoptosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 1999; 58: 442-50.
7. Wada S, Yone K, Ishidou Y, Nagamine T, Nakahara S, Niiyama T, Sakou T. Apoptosis following spinal cord injury in rats and preventative effect of N-methyl-D-aspartate receptor antagonist. *J Neurosurg* 1999; 91: 98-104.
8. Yamaura I, Yone K, Nakahara S, Nagamine T, Baba H, Uchida K, Komiya S. Mechanism of destructive pathologic changes in the spinal cord under chronic mechanical compression. *Spine* 2002; 27 :21-6.

9. Valgimigli M, Rigolin GM, Cittanti C, Malagutti P, Curello S, Percoco G, Bugli AM, Della Porta M, Bragotti LZ, Ansani L, Mauro E, Lanfranchi A, Giganti M, Feggi L, Castoldi G, Ferrari R: Use of granulocyte-colony stimulating factor during acute myocardial infarction to enhance bone marrow stem cell mobilization in humans: clinical and angiographic safety profile. *Eur Heart J* 2005; 26: 1838-45.
10. Koda M, Nishio Y, Kamada T, Someya Y, Okawa A, Mori C, Yoshinaga K, Okada S, Moriya H, Yamazaki M. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) mobilizes bone marrow-derived cells into injured spinal cord and promotes functional recovery after compression-induced spinal cord injury in mice. *Brain Res* 2007; 1149: 223-31.
11. Fehlings MG, Skaf G. A review of the pathophysiology of cervical spondylotic myelopathy with insights for potential novel mechanisms drawn from traumatic spinal cord injury. *Spine* 1998; 23: 2730-7.
12. 北川誠一, 湯尾明. G-CSF の基礎, 作用機序. *Biotherapy* 1992; 6: 20-8.
13. Kawada H, Takizawa S, Takanashi T. Administration of hematopoietic cytokines in the subacute phase after cerebral infarction is effective for functional recovery facilitating proliferation of intrinsic neural stem/progenitor cells and transition of bone marrow-derived neuronal cells. *Circulation* 2006; 113: 701-10.
14. Schäbitz WR, Kollmar R, Schwaninger M, Juettler E, Bardutzky J, Schölzke MN, Sommer C, Schwab S. Neuroprotective effect of granulocyte colony-stimulating factor after focal cerebral ischemia. *Stroke* 2003; 34: 745-51.
15. Schneider A, Kuhn HG, Schäbitz WR. A role for G-CSF (granulocyte-colony stimulating factor) in the central nervous system. *Cell Cycle* 2005; 4: 1753-7.
16. 門田領, 国府田正雄, 西尾豊, 大河昭彦, 山崎正志. 脊髄損傷における顆粒球コロニー刺激因子の神経保護作用. *日脊障医誌* 2007; 20: 180-1.
17. 川辺純子, 国府田正雄, 門田領, 大河昭彦, 山崎正志. ラット脊髄圧挫モデルにおける顆粒球コロニー刺激因子の血管系に対する作用. *日脊障医誌* 2008; 21: 112-3.
18. 国府田正雄, 西尾豊, 門田領, 川辺純子, 山崎正志. 脊髄損傷に対する顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)の治療効果およびその作用メカニズムの解析. *整形外科* 2007; 58: 1464.
19. Nishio Y, Koda M, Kamada T, Someya Y, Kadota R, Mannoji C, Miyashita T, Okada S, Okawa A, Moriya H, Yamazaki M. Granulocyte colony-stimulating factor attenuates neuronal death and promotes functional recovery after spinal cord injury in mice. *J Neuropathol Exp Neurol* 2007; 66: 724-31.
20. Maynard FM Jr, Bracken MB, Creasey G, Ditunno JF Jr, Donovan WH, Ducker TB, Garber SL, Marino RJ, Stover SL, Tator CH,

Waters RL, Wilberger JE, Young W.  
International Standards for Neurological and  
Functional Classification of Spinal Cord Injury.  
American Spinal Injury Association. Spinal  
Cord. 1997; 35 :266-74.

21. Masaki Y, Yamazaki M, Okawa A, Aramomi M, Hashimoto M, Koda M, Mochizuki M, Moriya H An analysis of factors causing poor surgical outcome in patients with cervical myelopathy due to ossification of the posterior longitudinal ligament: anterior decompression with spinal fusion versus laminoplasty. J Spinal Disord Tech 2007; 20: 7-13.
22. Ince H, MD, Petzsch M MD, Kleine H D MD, Schmidt H MD, Rehders T MD, Körber T MD, Schümichen C MD, Freund M MD, Nienaber C A MD. Preservation from left ventricular remodeling by front-integrated revascularization and stem cell liberation in evolving acute myocardial infarction by use of granulocyte-colony-stimulating factor (FIRSTLINE-AMI) Circulation 2005; 112: 3097-106.
23. Kang HJ, Kim HS, Zhang SY, Park KW, Cho HJ, Koo BK, Kim YJ, Soo Lee D, Sohn DW, Hans KS, Oh BH, Lee MM, Park YB. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilised with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomised clinical trial. Lancet 2004; 363: 751-6.

24. Shyu WC, Lin SZ, Lee CC, Liu DD, Li H. Granulocyte colony-stimulating factor for acute ischemic stroke: a randomized controlled trial. CMAJ 2006; 174: 927-33.

## F. 研究発表

### 論文発表

1. Yamazaki M, Okawa A, Mannoji C, Kadota R, Miyashita T, Koda M: C1 dome-like laminotomy and posterior C1-C2 polyaxial screw-rod fixation for a patient with cervical myelopathy due to retro-odontoid pseudotumor: technical note. J Clin Neurosci 16: 99-103, 2009.
2. Ataka H, Tanno T, Yamazaki M: Posterior instrumented fusion without neural decompression for incomplete neurological deficits following vertebral collapse in the osteoporotic thoracolumbar spine. Euro Spine J 18: 69-76, 2009.
3. Nishio Y, Koda M, Hashimoto M, Kamada T, Koshizuka S, Yoshinaga K, Onodera S, Nishihira J, Okawa A, Yamazaki M. Deletion of macrophage migration inhibitory factor attenuates neuronal death and promotes functional recovery after compression-induced spinal cord injury in mice. Acta Neuropathol 117: 321-328, 2009.
4. Mochizuki M, Aiba A, Hashimoto M, Fujiyoshi T, Yamazaki M: Cervical myelopathy in patients with ossification of the posterior longitudinal ligament. J Neurosurg Spine 10: 122-128, 2009.

5. Miyashita T, Koda M, Kitajo K, Yamazaki M, Takahashi K, Kikuchi A, Yamashita T: Wnt-Ryk signaling mediates axon growth inhibition and limits functional recovery after spinal cord injury. *J Neurotrauma*. 26: 955-964, 2009.
6. Yamazaki M, Okawa A, Kadota R, Mannoji C, Miyashita T, Koda M: Surgical simulation of circumferential osteotomy and correction of cervico-thoracic kyphoscoliosis for an irreducible old C6-C7 fracture dislocation. *Acta Neurochir (Wien)* 151: 867-872, 2009.
7. Takaso M, Nakazawa T, Imura T, Takahira N, Itoman M, Takahashi K, Yamazaki M, Otori S, Akazawa T, Minami S, Kotani T. Surgical management of severe scoliosis with high-risk pulmonary dysfunction in Duchenne muscular dystrophy. *Int Orthop* 2009 Apr 2. [Epub ahead of print].
8. Nakazawa T, Takaso M, Imura T, Adachi K, Fukushima K, Saito W, Miyajima G, Minatani A, Shinntani R, Itoman M, Takahashi K, Yamazaki M, Ohtori S, Sasaki A: Autogenous iliac crest bone graft versus banked allograft bone in scoliosis surgery in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Int Orthop* 2009 Jun 16. [Epub ahead of print]
9. Kadota R, Yamazaki M, Endo T, Okawa A, Koda M: Image fusion for preoperative evaluation of vertebral artery in a patient with atlantoaxial vertical subluxation and chronic renal failure. *Eur Spine J* 2009 Jul 8. [Epub ahead of print]
10. Fujiyoshi T, Yamazaki M, Okawa A, Kawabe J, Hayashi K, Endo T, Furuya T, Koda M, Takahashi K: Analysis of static versus dynamic factors for the development of myelopathy in patients with cervical ossification of the posterior longitudinal ligament. *J Clin Neurosci* 2010 Jan 11. [Epub ahead of print]
11. Furuya T, Hashimoto M, Koda M, Okawa A, Murata A, Takahashi K, Yamashita T, Yamazaki M: Treatment of rat spinal cord injury with a rho-kinase inhibitor and bone marrow stromal cell transplantation. *Brain Res* 1295: 192-202, 2009.
12. Aiba A, Nakajima A, Okawa A, Koda M, Yamazaki M: Evidence of enhanced expression of osteopontin in spinal hyperostosis of the twy mouse. *Spine* 34: 1644-1649, 2009.
13. Hagihara Y, Nakajima A, Fukuda S, Goto S, Iida H, Yamazaki M: Effects of running exercise duration on the bone mineral density (BMD) of long bones in young growing rats. *Tohoku J Exp Med* 219: 139-143, 2009.
14. Yamauchi T, Yamazaki M, Okawa A, Furuya T, Hayashi K, Sakuma T, Takahashi H, Yanagawa N, Koda M: The usefulness and reliability of highly functional open source DICOM software OsiriX in spine surgery: a technical note. *J Clin Neurosci* (in press)
15. Yamazaki M, Okawa A, Fujiyoshi T, Kawabe J, Furuya T, Kon T, Koda M: Intraoperative spinal subarachnoid hematoma in a patient with cervical ossification of the posterior

- longitudinal ligament. Spine (in press)
16. Yamazaki M, Okawa A, Fujiyoshi T, Kawabe J, Yamauchi T, Furuya T, Takaso M, Koda M: Simulated surgery for a patient with NF-1 who had severe cervicothoracic kyphoscoliosis and an anomalous vertebral artery. Spine (in press)
  17. Ataka H, Tanno T, Miyashita T, Isono S, Yamazaki M: Occipitocervical fusion has potential to improve sleep apnea in patients with rheumatoid arthritis and upper cervical lesions. Spine (in press)
  18. Yamazaki M, Okawa A, Fujiyoshi T, Furuya T, Koda M: Posterior decompression with instrumented fusion for thoracic myelopathy caused by ossification of the posterior longitudinal ligament. Eur Spine J 2010 Jan 6. [Epub ahead of print]
  19. 林浩一, 橋本将行, 国府田正雄, 大河昭彦, 山崎正志: ラット脊髄損傷に対するシロスタゾール投与の有用性の検討. 日脊障医誌 22: 128-129, 2009.
  20. 川辺純子, 国府田正雄, 橋本将行, 大河昭彦, 山崎正志: ラット脊髄圧挫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療痕抑制効果. 日脊障医誌 22: 130-131, 2009.
  21. 古矢丈雄, 橋本将行, 国府田正雄, 松瀬大, 大河昭彦, 山崎正志: 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. 日脊障医誌 22: 132-133, 2009.
  22. 佐久間毅, 山崎正志, 国府田正雄, 橋本将行, 高橋 宏, 林浩一, 川辺純子, 藤由崇之, 古矢丈雄, 山内友規, 門田領, 宮下智大, 萬納寺誓人, 染谷幸男, 西尾豊, 鎌田尊人, 腰塚周平, 池田修, 喜多恒次, 安宅洋美, 吉永勝訓, 村田淳, 橋本光宏, 大河昭彦, 高橋和久: 圧迫性脊髄症の急性増悪期に顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)投与による神経保護療法を施行した5症例. 千葉医学(印刷中)
  23. 古矢丈雄, 山崎正志, 大河昭彦, 国府田正雄, 高橋和久: 環軸椎回旋位固定の病態と治療. 千葉医学 85: 61-69, 2009.
  24. 山崎正志: 脊柱後弯症の病態と治療-胸椎後縦靭帯骨化症と後弯: 胸椎後縦靭帯骨化症に対する後方除圧固定術, 後弯矯正および脊髄症状改善の機序を中心に. 脊椎脊髄 22: 679-686, 2009.
  25. 赤澤努, 南昌平, 小谷俊明, 山崎正志: 脊柱後弯症の手術支援ツール: 三次元実体モデル. 脊椎脊髄 22:492-497, 2009.
  26. 根尾昌志, 佐野茂夫, 池永稔, 山崎正志: 脊椎シンプランテーションのピットフォール. THE SPINE perspectives 16: 1-6, 2009.
  27. 山崎正志: 特集: 後縦靭帯骨化症(OPLL)の病態と治療「胸椎 OPLL に対する手術法の成績と問題点」. CLINICAL CALCIUM 19: 95-100, 2009.
  28. 山崎正志: 特集: 脊椎外傷の治療 update「上位頸椎損傷の治療, 歯突起骨折を中心に」. 整災外 52: 1587-1596, 2009.
- 学会発表**
1. Kawabe J, Koda M, Hashimoto M, Fujiyoshi T, Furuya T, Endo T, Hayashi K, Okawa A, Yamazaki M. Neuroprotective effects of Granulocyte colony stimulating factor on acute spinal cord injury: experimental study

- and clinical experience. 25th Annual Meeting, Cervical Spine Research Society–European Section, Abstract p111.
2. Aramomi M, Masaki Y, Kadota R, Okawa A, Yamazaki M. Anterior pedicle screw fixation for multilevel cervical corpectomy and fusion: cadaveric study and clinical case series. 25th Annual Meeting, Cervical Spine Research Society–European Section, Abstract p58.
  3. Ataka H, Tanno T, Miyashita T, Yamazaki M. O–C2 angle has a major impact on the sleep apnea syndrome in patients with rheumatoid arthritis and upper cervical lesions. 25th Annual Meeting, Cervical Spine Research Society–European Section, Abstract p61.
  4. Mochizuki M, Aiba A, Kadota R, Yamazaki M. Clinical outcome of anterior decompression and arthrodesis with a dynamic cervical plate for cervical spondylotic myelopathy in elderly patients. 25th Annual Meeting, Cervical Spine Research Society–European Section, Abstract p120.
  5. Fujiyoshi T, Yamazaki M, Okawa A, Kawabe J, Hayashi K, Furuya T, Yamauchi T, Sakuma T, Takahashi H, Konishi H, Takahashi K. The outcome of posterior decompression surgery for patients with cervical myelopathy due to the K–line(–)–type OPLL: laminoplasty versus posterior decompression with instrumented fusion. 25th Annual Meeting, Cervical Spine Research Society–European Section, Abstract p128.
  6. Kadota R, Aramomi M, Masaki Y, Mochizuki M, Aiba A, Okawa A, Yamazaki M. Insertion angle of anterior pedicle screw fixation for multilevel cervical corpectomy and fusion: an anatomical study. 25th Annual Meeting, Cervical Spine Research Society–European Section, Abstract p141.
  7. Hayashi K, Hashimoto M, Yamazaki M, Okawa A, Koda M, Kawabe J, Fujiyoshi T, Endo T, Furuya T, Sakuma T, Takahashi H, Takahashi K. Effects of cilostazol on an acute or chronic spinal cord injury model of rats. 25th Annual Meeting, Cervical Spine Research Society–European Section, Abstract p144.
  8. Hayashi K, Hashimoto M, Yamazaki M, Okawa A, Koda M, Sakuma T, Takahashi T. Transplantation of astrocytes derived from induced pluripotent stem cell on an experimental spinal cord injury in rats. Neurotrauma 2009, Abstract p23.
  9. Koda M, Hayashi K, Hashimoto M, Sakuma T, Takahashi H, Okawa A, Yamazaki M. Transplantation of activated macrophage for chronic spinal cord injury in rats. Neurotrauma 2009, Abstract p31.
  10. Hashimoto M, Furuya T, Koda M, Hayashi K, Murata A, Okawa A, Dezawa M, Tabata Y, Takahashi K, Yamazaki M. Effects of bFGF incorporated gelatin hydrogel and bone marrow stromal cell–derived neural progenitor cell transplantation in a rat spinal cord contusion model. Neurotrauma 2009, Abstract p97.
  11. Fujiyoshi T, Yamazaki M, Konishi H, Okawa A,

- Kawabe J, Furuya T, Hayashi K, Takahashi K.  
The outcome of posterior decompression surgery for patients with cervical myelopathy due to the K-line(-)-type OPLL: laminoplasty versus posterior decompression with instrumented fusion. 37th Annual Meeting, Cervical Spine Research Society, Abstract p137.
12. Yamazaki M, Koda M, Kawabe J, Hayashi K, Sakuma T, Takahashi H, Okawa A.  
Neuroprotective effects of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) on the injured spinal cord: experimental studies and its early clinical trial. 37th Annual Meeting, Cervical Spine Research Society, Abstract p229.
  13. Aramomi M, Masaki Y, Okawa A, Yamazaki M.  
Anterior pedicle screw fixation for multilevel cervical corpectomy and fusion: clinical case series. 37th Annual Meeting, Cervical Spine Research Society, Abstract p193-194.
  14. Nakajima F, Ikeda Y, Aoki Y, Yamagata M, Yamazaki M. Evaluation of upper extremity function recovery using the hand function test (STEF) after laminoplasty. 37th Annual Meeting, Cervical Spine Research Society, Abstract p285.
  15. 川辺純子, 国府田正雄, 門田領, 西尾豊, 橋本将行, 藤由崇之, 古矢丈雄, 遠藤友規, 大河昭彦, 高橋和久, 山崎正志. パネルディスカッション「脊髄修復の促進技術」脊髄損傷に対する顆粒球コロニー刺激因子の治療効果. 第24回日本整形外科学会基礎学術集会, 日整会誌 83(8):S1015, 2009.
  16. 山崎正志, 大河昭彦, 望月真人, 国府田正雄, 高橋和久. シンポジウム「胸椎 OPLL に対する手術治療—The Cutting Edge」胸椎後縦靭帯骨化症に対する後方除圧固定術の成績. 第44回日本脊髄障害医学会, 抄録集 p51.
  17. 古矢丈雄, 橋本将行, 国府田正雄, 村田淳, 大河昭彦, 山崎正志, 高橋和久. 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. 第8回日本再生医療学会総会, 再生医療 8 suppl: 172, 2009.
  18. 古矢丈雄, 橋本将行, 国府田正雄, 村田淳, 大河昭彦, 山崎正志, 出澤真理, 松瀬大, 田畑泰彦, 高橋和久. 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. 第8回日本再生医療学会総会, 再生医療 8 suppl: 173, 2009.
  19. 安宅洋美, 丹野隆明, 宮下智大, 山崎正志. 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. 第38回日本脊椎脊髄病学会, 日脊会誌 20(1):132, 2009.
  20. 望月真人, 相庭温臣, 山崎正志. 頸椎 OPLL に対する前方除圧術の工夫と成績. 第38回日本脊椎脊髄病学会, 日脊会誌 20(1):172, 2009.
  21. 門田領, 新初正明, 政木豊, 大河昭彦, 山崎正志. 前方椎弓根スクリュー刺入に関する解剖学的検討. 第38回日本脊椎脊髄病学会, 日脊会誌 20(1):278, 2009.
  22. 新初正明, 政木豊, 門田領, 大河昭彦, 山崎正志. 前方椎弓根スクリュー刺入角度の検討. 第38回日本脊椎脊髄病学会, 日脊会誌 20(1):279, 2009.



23. 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. 脊髄損傷慢性期における細胞外マトリックス分解酵素によるグリア瘢痕抑制効果. 第 38 回日本脊椎脊髄病学会, 日脊会誌 20(1):290, 2009.
24. 安宅洋美, 丹野隆明, 宮下智大, 山崎正志. 上位頸椎病変を有する関節リウマチ手術症例における睡眠時無呼吸症候群の検討. 第 38 回日本脊椎脊髄病学会, 日脊会誌 20(1):132, 2009.
25. 望月真人, 相庭温臣, 山崎正志. 頸椎後縦靱帯骨化症に対するわれわれの方法による前方骨化摘出固定術の成績. 第 82 回日本整形外科学会学術総会, 日整会誌 83(2):S265, 2009.
26. 林浩一, 橋本将行, 山崎正志, 大河昭彦, 国府田正雄. ラット脊髄損傷に対する人工多能性幹(iPS)細胞由来 astrocyte 移植の効果. 第 24 回日本整形外科学会基礎学術集会, 日整会誌 83(8):S1068, 2009.
27. 新靱正明, 政木豊, 大河昭彦, 山崎正志. 前方椎弓根スクリューを用いた多椎間頸椎前方除圧固定術における骨癒合過程と合併症. 第 18 回日本脊椎インストゥルメンテーション学会, 抄録集 p. 102-3.
28. 藤由崇之, 山崎正志, 小西宏昭, 大河昭彦, 須藤英文, 蓮江文男, 田中正, 高橋和久. 頸椎後縦靱帯骨化症 K-line(-)例に対する後方除圧固定術の成績. 第 18 回日本脊椎インストゥルメンテーション学会, 抄録集 p. 288-9
29. 高橋宏, 佐久間毅, 林浩一, 大河昭彦, 国府田正雄, 山崎正志. 急性期脊髄損傷に対して顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)投与を施行した臨床試験例の検討. 第 44 回日本脊髄障害医学会, 抄録集 p84.
30. 佐久間毅, 高橋宏, 林浩一, 大河昭彦, 国府田正雄, 山崎正志. 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. 第 44 回日本脊髄障害医学会, 抄録集 p84.
31. 林浩一, 橋本将行, 国府田正雄, 大河昭彦, 山崎正志. 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. 第 44 回日本脊髄障害医学会, 抄録集 p98.
32. 国府田正雄, 林浩一, 橋本将行, 大河昭彦, 山崎正志. 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. 第 44 回日本脊髄障害医学会, 抄録集 p98.

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1.特許取得

該当なし

##### 2.実用新案登録

該当なし

##### 3.その他

該当なし

**脊髄症モデル (twy/twy) に対するウイルスベクターを用いた  
逆行性神経栄養因子遺伝子導入**

研究分担者	内田 研造	福井大学医学部器官制御医学講座整形外科学領域
	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
	平井 貴之	福井大学医学部器官制御医学講座整形外科学領域
	Chen Kebing	福井大学医学部器官制御医学講座整形外科学領域
	Alexander Guerrer	福井大学医学部器官制御医学講座整形外科学領域
	彌山 峰史	福井大学医学部器官制御医学講座整形外科学領域
	馬場 久敏	福井大学医学部器官制御医学講座整形外科学領域

研究要旨 慢性脊髄圧迫モデル(twy/twy)を用いて、逆行性に神経栄養因子遺伝子導入を行い、その導入範囲や神経賦活化効果について検討した。胸骨乳突筋内に投与された神経栄養因子遺伝子は、理論的には軸索流を介して前角細胞に導入され、autocrine, paracrine 機構により周囲の細胞も含め、その神経保護効果を発揮するものと考えてきた。しかしながら今回の検討では、逆行性に軸索流を介しニューロンに導入された神経栄養因子は、慢性に圧迫を受けた脊髄環境ではニューロンのみならず、オリゴデンドロサイト、アストロサイト、マイクログリアへの直接的な導入がみられ、これらのグリア系細胞による trophic 効果の助長も期待され得ると考えられた。逆行性神経栄養因子遺伝子導入は、慢性的に圧迫を受けた神経細胞の apoptosis 抑制や軸索伸長効果などを機序として、神経保護効果を発揮するものと考えられた。

A, 背景、研究目的

脊髄が慢性に圧迫を受けた場合、圧迫高位の脊髄では灰白質において神経細胞の脱落、白質全域に著しい脱髄と海綿状変性 (spongy degeneration) が観察され、急性損傷にみられるような炎症反応を伴う組織破壊像はほとんど見受けられない<sup>1)</sup>。しかしながら、高度の圧迫があっても麻痺が軽度であったり、予後不良と考えられる症例でも脊髄の除圧を行えば、予想以上の麻痺回復をしめすことがある。その背景には組織構造の破綻にもかかわらず、機能を維持する機構、すなわち脊髄の可塑性の存在が

推測される。このような観点より、我々は慢性脊髄圧迫モデル(twy/twy mice) 上位頸髄が、OPLL 脊髄症の病態の観察に適していると考え、形態学的、免疫組織化学的側面より、圧迫を受けた脊髄組織における生存維持、軸索再生および組織修復に関しての基礎的実験を行ってきた。twy mouse 脊髄の中等度以上の圧迫においては、前角部の motoneuron に apoptosis が生じ、MAPkinase のカスケードの ASK1, 活性型 JNK, 活性型 p38 を介した apoptosis の誘導と実行が、関与している可能性が報告されている

2)。急性脊髄損傷の二次損傷においては、oligodendrocyte apoptosis が生じ、Fas や、TNF  $\alpha$  が関与していることがわかっているが、twy mouse 脊髄においても、50%以上の圧迫に陥ると、広範囲に oligodendrocyte の apoptosis が生じ、その一因として、TNF  $\alpha$  cascade が関与することも実験的にわかってきている<sup>3)</sup>。また、圧迫刺激を受けた際に、特に圧迫部近傍部では BDNF や NT-3 といった神経栄養因子およびその receptor の発現が上昇し、神経細胞、特に前角ニューロンの生存維持に関与していることを報告している<sup>4,5)</sup>。また、WGA-HRP で labelling した前角および介在ニューロンの形態学的観察において、最大圧迫部位で観察されるニューロンの萎縮性変化に対し、圧迫近傍部での神経細胞の neurite の伸張、伸展を確認している<sup>6)</sup>。急性脊髄損傷においては、損傷後の内因性神経栄養因子発現が低い微小環境が、損傷を助長させ再生を困難にしている要因のひとつと報告されており、twy mouse で観察された上記のことから、著しい麻痺を伴う OPLL に対しては手術療法に加えて、内在性の再生誘導療法も注目され得ると考えている。

これらの観点から、我々は慢性圧迫脊髄に対し、外因性に神経栄養因子を投与することを考えたが、その投与方法に関しては極めて多くの議論がある。損傷脊髄内へ直接投与する方法では、高い導入効率が得られる反面、損傷範囲の拡大、機械的炎症反応や necrosis の助長、という重大な影響を蒙りかねないとも考えられる。我々は、慢性圧迫脊髄に神経栄養因子を非侵襲的に投与する目的で、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遺伝子の導入を行い、頸髄残存ニューロンの生存維持、再生能力の賦活化効果について解析することを目的

とした。

## B, 研究方法

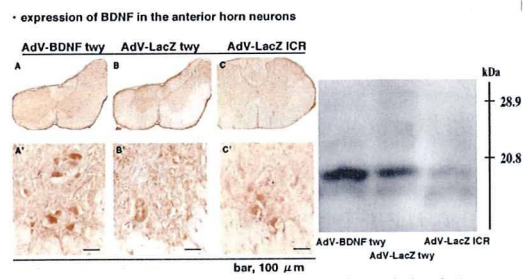
$\beta$ -galactosidase、mouse BDNF、NT-3 をそれぞれ組み込んだ非増殖型 adenovirus vector (AdV-LacZ, AdV-BDNF, AdV-NT-3) を COS-TPC 法にて作製、精製した<sup>3)</sup>。

実験動物には、慢性脊髄圧迫モデル (twy mouse) を用い、16 週齢で胸骨乳突筋より AdV-BDNF, -NT-3, -LacZ を注入し、20 週齢で評価した。逆行性輸送による導入範囲を検討するために、BDNF、 $\beta$ -galactosidase の免疫染色、Western blotting を行い、神経グリア系細胞への取り込みを詳細に検討するためにこれらとの蛍光二重染色を行った。apoptosis の評価として、TUNEL 染色を行った。また、軸索再生評価として、GAP-43、NF-H による評価および逆行性色素 WGA-HRP を用いた評価を行った。

## C, 結果

### (1) 逆行性輸送による導入範囲評価

胸骨乳突筋肉内に注入された AdV-BDNF は脊髄の前角細胞の生存活性を高め、Western 半定量解析でも証明された (図 1)。即ち、AdV-BDNF が逆行性の軸索輸送により、前角細胞に取り込まれ、神経細胞の生存に寄与していること示唆された。

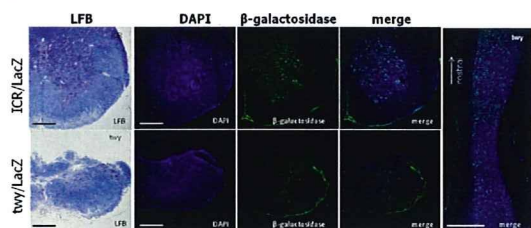


"Adv BDNFのSCM M.注入により、前角ニューロンの生存維持が可能"  
Xu K, Uchida K, Baba H, et al., Spine 31, 2006

(図 1)

LacZ 注入後の更なる詳細な評価では、コントロールマウスでは灰白質を中心として  $\beta$ -galactosidase 陽性細胞が分布するが、twy mouse では灰白質のみならず白質にも陽性細胞の分布がみられ、sagittal 像でも同様の所見がみられた (図2)。

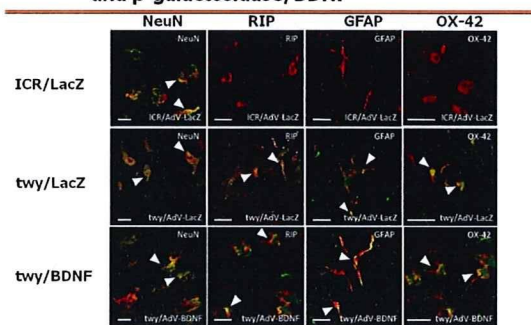
#### Distribution of $\beta$ -galactosidase-positive cells by retrograde gene delivery



(図2)

神経、各グリア系細胞の蛍光2重染色を行うと、逆行性に導入された遺伝子は、ICR マウスでは neuron のみに導入がみられたが、twy マウスではニューロンだけではなく、オリゴデンドロサイト、アストロサイト、マイクログリアにも導入されていることが確認された (図3)。

#### Colocalization of cell specific markers and $\beta$ -galactosidase/BDNF

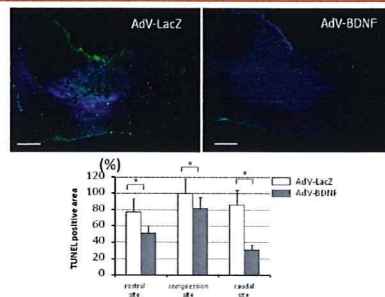


(図3)

#### (2) TUNEL 染色

BDNF 遺伝子を導入した群では、LacZ 導入群に比べ、TUNEL 陽性細胞の減少が最大圧迫部とその頭尾側において確認された (図4)。

#### TUNEL immunofluorescence staining in the mechanical compressed spinal cord

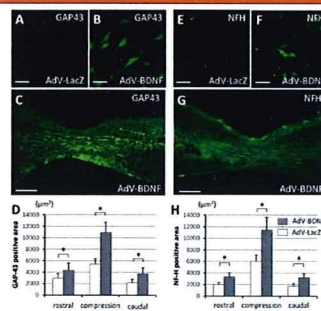


(図4)

#### (3) 再生軸索の評価

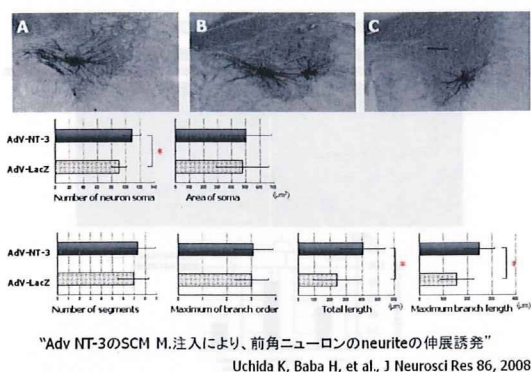
GAP-43 や NF-H で評価した神経樹状突起、軸索の評価では、BDNF 注入群での発現が有意に強く、最大圧迫部とその頭尾側で positive area に有意差がみられた (図5)。

#### Expression of GAP-43 and NF-H



(図5)

Adv-NT-3 胸骨乳突筋肉内投与後に WGA-HRP で前角ニューロンを標識した評価では、LacZ 投与に比し、神経細胞の neuron soma、神経突起の延長 (特に total length, maximum branch length) に寄与していることが証明された (図6)。



(図6)

#### D, 考察

BDNF を代表とする神経栄養因子は、特異的レセプターを介してニューロンに作用し、神経突起の伸展促進、生存維持、分化誘導などの活性を示す蛋白性分子群である。損傷脊髄において軸索再生が生じない一つの理由として内因性の神経栄養因子の欠乏が報告されている。そのため損傷脊髄内への神経栄養因子補充療法における、組織修復効果、軸索伸長効果については異論がないとされている。また、慢性圧迫脊髄における検討からも、神経細胞の賦活化に対し神経栄養因子を外因性に投与することは合理的と考えられる。

逆行性導入は、筋肉内から軸索流にのり、逆行性に前角細胞を中心として直接輸送する方法で、障害脊髄に対して非侵襲的であり、慢性圧迫状態であっても、adenovirus が強力な retrograde tracer として働くため直接導入と遜色ない導入効率を示すと考えられる<sup>7)</sup>。胸骨乳突筋から導入された LacZ 遺伝子は脊髄前角部を中心に分布し、注入後3時間の超急性期から、少なくとも4週までのある程度の期間は発現を維持していることを確認しており、また、他臓器ではほとんど発現がみられないことから、逆行性導入は脊髄への選択的なアプローチと考えられる<sup>8)</sup>。

muscle 内に注入した神経栄養因子遺伝子は、理論的には軸索流を介して前角細胞に導入され、autocrine, paracrine 機構により周囲の細胞も含め、その神経保護効果を発揮するものと考えてきた。しかしながら今回の検討では、逆行性に軸索流を介しニューロンに導入された神経栄養因子は、autocrine, paracrine 機構による効果だけではなく、慢性に圧迫を受けた脊髄環境ではオリゴデンドロサイトや一部のアストロサイト、マイクログリアへの直接的な導入がみられ、これらのグリア系細胞による trophic 効果の助長も、神経保護効果に寄与する期待ができるものと考えられた。

#### E, 結論

逆行性に導入された神経栄養因子は、慢性圧迫脊髄においては neuron を中心として各種神経グリア系細胞に導入されることで trophic 効果を発揮し、apoptosis 抑制や軸索伸長などの神経保護効果、再生能力賦活化効果をもたらすと考えられた。

#### G, 研究発表

・論文発表、参考文献

- 1) Uchida, K., Baba, H., Maezawa, Y., Kubota, C. 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; 480-6, 2002
- 2) Yamaura I, Yone K, Nakahara S, Nagamine T, Baba H, Uchida K, Komiya S. Mechanism of destructive pathologic changes in the spinal cord under chronic mechanical compression. *Spine* 27:21-6, 2002
- 3) Inukai T, Uchida K, Nakajima H, Yayama T,

- Kobayashi S, Mwaka ES, Guerrero AR, Baba H. Tumor necrosis factor- $\alpha$  and its receptors contribute to apoptosis of oligodendrocytes in the spinal cord of spinal hyperostotic mouse (twy/twy) sustaining chronic mechanical compression. *Spine* 34:2848-57, 2009
- 4) Uchida K, Nakajima H, Inukai T, Takamura T, Kobayashi S, Furukawa S, Baba H. Adenovirus-mediated retrograde transfer of neurotrophin-3 gene enhances survival of anterior horn neurons of twy/twy mice with chronic mechanical compression of the spinal cord. *J Neurosci Res* 86:1789-800, 2008
- 5) Uchida, K., Baba, H., Maezawa, Y., Furukawa, S., Omiya, M., Kokubo, Y., Kubota, C., Nakajima, H. 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
- 6) 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 neurotropic factors. *J Neurol.* 245; 781-93, 1998
- 7) Nakajima H, Uchida K, Kobayashi S, Inukai T, Horiuchi Y, Yayama T, Sato R, Baba H. Rescue of rat anterior horn neurons after spinal cord injury by retrograde transfection of adenovirus vector carrying brain-derived neurotrophic factor gene. *J Neurotrauma* 24: 703-712, 2007
- 8) Nakajima H, Uchida K, Kobayashi S, Inukai T, Yayama T, Sato R, Mwaka E, Baba H. Target muscles for retrograde gene delivery to specific spinal cord segments. *Neurosci Lett* 435:1-6, 2008

## 脊柱靱帯骨化症に関する調査研究

研究分担者 江藤 智生 財団法人実験動物中央研究所動物資源管理部

研究要旨 (財) 実中研で維持されている疾患モデル動物の TWY-ttw Jic マウスおよび TWY/c Jic マウスを、脊柱靱帯骨化症に関する研究で使用するリソースとして整備する為に、生殖工学技術を使用した実験個体の作製方法を構築すると共に、主要組織適合性抗原の検査をおこなった。また両系統共に研究者の要望に応え実験個体の計画生産を行い、本研究事業に該当する研究に供給した。

### A. 研究目的

脊柱靱帯骨化症に関する研究を推進する上で、実中研保有の疾患モデル動物である TWY-ttw Jic マウス(以下、TWY-ttw という)とコントロールとなる TWY-c Jic マウス(以下、TWY-c という)は有用なツールとなる。しかしながら本研究に用いるには週齢・匹数を合わせてかつ定期的に動物が供給できる体制を構築しなければならない。そのため生殖工学技術を使用した両系統の個体の計画生産を検討した。また細胞を移植する実験では、両系統の主要組織適合性抗原の一致が的確なデータを得る事ためには不可欠である。そのため TWY-ttw と TWY-c の MHC class I ハプロタイプの検査をおこなった。これら検討を行う事により、脊柱靱帯骨化症に関する研究に供するリソースの充実を図り、該当研究へ最適な動物を供給する事が本研究の目的である。

### B. 研究方法

TWY-ttw と TWY-c 共に、生殖工学技術を使用して計画的に動物を供給する事を検討した。計画生産は動物から得られた配偶子から体外受精法を用いて 2 細胞期胚を作製、本所で独自開発したガラス化保存法を用い

た超低温保存胚を事前に作製して、該当研究の希望により超低温保存胚を加温一胚移植、帝王切開をおこない微生物グレードが SPF の個体の週齢を合わせて供給する方法と設定した。そのため、保存胚の大規模な確保・採卵効率・保存胚の加温後の生存・胚移植後の個体発生等の個体作製に必要な基礎データ作製をおこなった。

次に両系統の MHC ハプロタイプ検査をおこなった。抗体は FITC-H2Db (KH95)、PE-H2Dd(34-2-12)、FITC-H2Dk(15-5-5)、biotin-H2Dq(6-27.5)、FITC-H2Kb (AF6-88.5)、PE-H2Kd(SF1-1.1)、FITC-H2Kq(KH114)、PE-H2Kk(36-7-5)、streptavidin (SAv)-PE を使用した(Becton Dickinson 社製)。染色パターンは下記 a~d の括弧内の各希釈倍率で mixture を作ることでおこなった。a. FITC-H2Db(x50)/PE-H2Dd(x50)、b. FITC-H2Dk(x50)/biotin-H2Dq(x50) → SAv-PE (x100)、c. FITC-H2Kb(x50)/PE-H2Kd(x50)、d. FITC-H2Kq(x50)/PE-H2Kk(x50)。まず両系統の血液をヘパリン加採血し、RBC lysis buffer にて赤血球を溶血させた後、前述した抗体 mixture 10 $\mu$ l を各チューブへ添加し、4 $^{\circ}$ C・30 分間静置した。さらに 2% FCS/PBS にて洗浄した後、メッシュを通して FACS チュー

ブサンプルを移し、フローサイトメトリーにて MHC クラス I 抗原ハプロタイプの解析をおこなった。

(倫理面での配慮)

本研究で行われた動物実験は、「財団法人実験動物中央研究所 動物実験等に関する規定」をもとにして、同所・動物実験委員会の指導を遵守しておこなわれた。また本研究に関してはヒトに関する実験材料は使用していない。

### C. 研究結果

我々の改良したマウス体外受精法を用いたメス 1 匹あたりの 2 細胞期胚の採卵効率は、TWY-ttw は 18.8 個 (1 匹あたり平均排卵数 21.6 個、受精率平均 87.2%)、TWY-c は 14.6 個 (1 匹あたり平均排卵数 15.1 個、受精率平均 96.7%) だった。また我々が独自改良したガラス化保存法により、超低温保存した 2 細胞期胚の加温後の生存は TWY-ttw で 95.1% (保存胚 850 個、生存胚 808 個)、TWY-c で 96.7% (保存胚 120 個、生存胚 116 個) だった。超低温保存した胚からの個体復元率は、TWY-ttw で 60.9% (移植胚数 850 個、発生個体数 808 匹)、TWY-c で 57.8% (移植胚数 116 個、発生個体数 67 匹) だった。これら技術を使用して本年度、TWY-ttw は 3,459 個の超低温保存胚・62 匹 (メス 5 匹、オス 57 匹) の実験用個体を、TWY-c では 981 個の保存胚・44 匹 (メス 9 匹、オス 35 匹) の実験用個体を作製した。実験用個体については子宮切断術による帝王切開をおこない、ビニールアイソレータの中で哺育したのち微生物グレードが SPF で該当研究に供した。また帝王切開毎に微生物検査をおこない、供給する動物が SPF

である事も証明した。

TWY-ttw および TWY-c 白血球の MHC class I ハプロタイプについてフローサイトメトリーで解析した結果、両系統共に全個体で H2Dq および H2Kq 抗体による染色性が認められた。また他のハプロタイプ抗体に対する染色性は、両系統全個体において認められなかった。以上の結果から TWY-ttw および TWY-c 共に H2-q ハプロタイプを有する事が判明した。

### D. 考察

クローズドコロニーである ICR 系統を近交化する過程で自然発症ミュータントとして発見された TWY マウスは、ttw 遺伝子変異部分をホモ型で保有する TWY-ttw 系統と同一のバックグラウンドであり野生型である TWY-c の 2 つの系統がある。自然発症で phenotype が強烈に発現するマウスのミュータントでは、野生型に対し採卵効率や個体発生率は低下する事がある。しかし今回の検討で、採卵効率は TWY-c (14.6 個) に対し TWY-ttw (18.8 個) も良好な事が分かった。また個体発生に関しても TWY-c (57.8%) と TWY-ttw (60.9%) は同様の発生率となった。これらより、該当研究に使用する実験用個体の作製は TWY-c と TWY-ttw 共に生殖工学技術を利用する事により計画的かつ効率的に行われる事が示唆された。

MHC ハプロタイプの検査では、TWY-ttw および TWY-c 共に H2-q ハプロタイプを有する事が判明した。これにより細胞の移植実験にも、両系統をセットで供給できることが判明した。



#### E. 結論

TWY-ttw と TWY-c の計画的な個体作製の系の確立ができ、かつハプロタイプも共通であることが判明した。これらにより、実験に適正週齢かつ必要匹数の両系統を計画的に供する事ができ、移植実験にもセットで供給できるようになった。以上より、脊柱靭帯骨化症に関する研究を推進するためのツールの充実がおこなえ、症状の解明と治療に繋がる研究へ一歩前進できたと考える。

#### F. 健康危険情報

本研究施行時において、健康危険に該当することはなかった。

#### G. 研究発表

論文発表・学会発表共に本年度該当なし。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得・実用新案登録・その他共に、本年度該当なし。

VII. 分担研究-画像解析研究-

脊椎靱帯骨化症患者における全脊椎骨化巣の評価と脊椎の骨化領域が手術成績に与える  
影響についての検討

Analysis of total spine in patients with ossification of the posterior longitudinal  
ligament

研究分担者 木村 友厚 富山大学医学部整形外科  
川口 善治 富山大学医学部整形外科  
中野 正人 富山大学医学部整形外科  
安田 剛敏 富山大学医学部整形外科  
関 庄二 富山大学医学部整形外科  
堀 岳史 富山大学医学部整形外科

研究要旨 multidetector CT を用いて全脊椎における OPLL の実態を調査し、脊椎における骨化巣の広がり、手術成績に与える影響について評価した。頸椎 OPLL 患者で当院を受診した 48 例を対象とし、頭頸移行部から仙骨までの全脊椎の OPLL 骨化巣を検討した。また全患者の脊椎におけるこれまでの手術歴、術後の ADL を調べた。その結果、頸椎 OPLL と胸椎および腰椎 OPLL を合併する患者は、それぞれ 25 例（52%）、26 例（54%）であった。胸椎の手術を受けている患者の ADL は低く、頸椎または腰椎のみに手術を受けている患者に比較して有意に劣っていた。このことから OPLL では全脊椎を精査することが必要であり、中でも胸椎の骨化の治療には特段の注意を要すると考えられた。

A. 研究目的

脊椎後縦靱帯骨化（OPLL）は頸椎に好発するが、胸椎および腰椎にも起こることが知られている。今回は 1) multidetector CT を用いて全脊椎における OPLL の実態を調査すること、および、2) 脊椎における骨化巣の広がり、手術成績に与える影響について評価することを目的とした。

B. 研究方法

頸椎 OPLL 患者で 2008 年に当院を受診した 48 例を対象とした。男性 26 例、女性 22 例、平均年齢は 66.7 歳（38～82 歳）であった。

1. OPLL 骨化巣の評価：

頸椎単純レントゲン側面像により、OPLL の骨化巣を連続型、分節型、混合型、その他型に分類した。さらに Multidetector CT を用いて頭頸移行部から仙骨までの全脊椎の OPLL 骨化巣を評価した。

2. 臨床的評価：

全患者の脊椎におけるこれまでの手術歴、手術からの経過年数と術後の状態を調べた。ADL 評価として移動の方法を JOA 頸髄症スコアの下肢機能を参考に、独歩可能であるか、階段で手すりが必要か、平地で杖が必要か、車椅子が主体か、に分類した。そこで ADL に影響を与える因子を検討した。

C. 研究結果

1. OPLL 骨化巣の評価：単純レントゲンにおける頸椎 OPLL は、連続型 11 例、分節型 19 例、混合型 17 例、その他型 1 例に分類された。CT を用いた全脊椎の OPLL 骨化巣評価では、頸椎 OPLL と胸椎および腰椎 OPLL を合併する患者は、それぞれ 25 例 (52%)、26 例 (54%) であった。その詳細は頸椎のみに骨化巣を認めるもの 17 例、頸椎と胸椎に認めるもの 5 例、頸椎と腰椎に認めるもの 6 例、および頸椎と胸椎と腰椎に認めるもの 20 例であった。これら全脊椎の骨化巣の評価で頸椎のみに OPLL が見られる群と他の脊椎部位にも OPLL が見られる群で単純レントゲンでの頸椎 OPLL のタイプを比較したところ、2 群間で差は認められなかった。すなわち頸椎の OPLL が分節型で微小でも胸椎、腰椎に巨大な OPLL を認める症例があり、その多くが女性であった (図 1)。

2. 臨床的評価：48 人中のべ 56 回の OPLL に対する脊椎手術が行われていた。その内訳は、頸椎 33 例 (椎弓形成術 33 例、前方固定術 3 例、重複回 3 例)、胸椎 7 例 (椎弓切除術 5 例、椎弓形成術 1 例、後方固定術 2 例、前方固定術 1 例、重複回 2 例)、腰椎 10 例 (椎弓切除術 10 例、重複回 1 例) であった。術後経過期間は 1 年から 25 年であった。来院時の ADL 評価としては、独歩が問題なく可能のもの 24 例、ぎこちないが独歩可能のもの 7 例、階段で手すりが必要なもの 5 例、平地でも杖が必要なもの 10 例、車椅子が主体であるもの 2 例であった。手術部位との関連で見ると胸椎の手術を受けている患者の ADL は低く、ぎこちないが独歩可能のもの 1 例、階段で手すりが必要なもの 1 例、平地でも杖が必要なもの 3 例、

車椅子が主体であるもの 2 例であり、頸椎または腰椎のみに手術を受けている患者に比較して統計学的に有意に劣っていた ( $p=0.0021$ ) (図 2)。

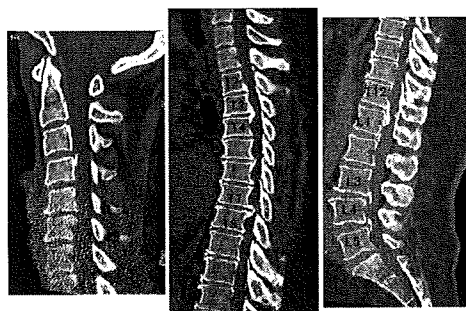


図 1

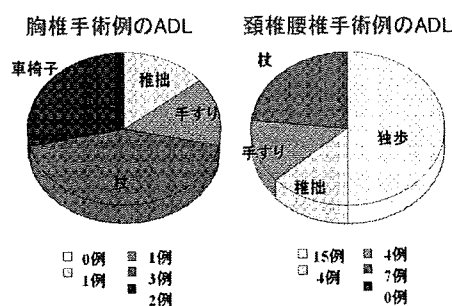


図 2

#### D. 考察

今回の Multidirector CT を用いた検討では、OPLL が頸椎にみられる場合、半数以上の症例で胸椎、腰椎にも骨化巣が存在していた。Otsuka、和田らの報告では頸椎と胸椎 OPLL の合併頻度はそれぞれ 0.3%、17.5% とされている。<sup>1)、2)</sup> これらは単純レントゲンを用いたものであり、OPLL 患者では今後 Multidirector CT を用いた詳細な骨化巣の把握が必要であると考えられた。特に頸椎にわずかな骨化巣しか見られなくとも、他の部位での骨化巣が大きく有症性になる場合があり、注意を要すると思われる。さらに胸椎に骨化病変が存在しそのために手術を行った症例は、頸椎や腰椎の病変に対し手術を行った症例に比較し ADL 上の予