

図3. 症例20. T1-T10後弯角を仰臥位、腹臥位、坐位のX線像で計測すると、27度、32度、35度である。

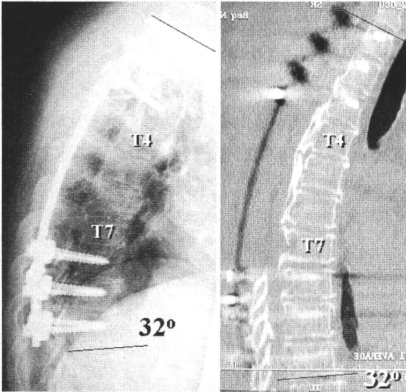


図4. 症例20 (術後). C7-T7椎弓切除およびT1-T10後方固定施行. T1-T10後弯角は32度。

【考察】

今回、後方除圧固定術後に完全麻痺は発生しなかったが、一過性麻痺が2例(6.9%)で生じた。後方除圧固定術を行う際に我々は、術中の脊髄障害を最小限にすべく可能なかぎりの工夫をしている。そのような工夫にも関わらず麻痺が発生したことから、極度に狭窄した脊柱管を開放する除圧操作そのものが麻痺の発生に関わっていると推察する。しかし、後方除圧術、骨化摘出術と比べると、後方除圧固定術における麻痺の発生頻度は格段に低いと言える。

X線機能撮影にて、OPLLが存在しても胸椎には可動性が存在することが分かった(図2-4)。連続型の骨化に見えても、CT矢状断再構築像では骨化が完全に連続していない部位が確認できた(図1)。特に、嚙状OPLLが脊髄を圧迫している高位で可動性が残存しており、これが胸椎OPLLにおける脊髄症の発症に関与していると考えられる[8, 9]。

後方除圧固定術後、脊髄症状は緩徐に改善した。これは、前方からの脊髄圧迫要素、すなわちOPLLが残存していること、および、固定による制動効果で脊髄

が徐々にその機能を回復させるためと考える。術後の改善が不十分な場合は、前方からの骨化摘出追加を検討すべきであるが、今回の緩徐な神経症状の回復を考慮すると、早期に追加手術を行うべきではなく、術後9ヵ月程度は経過を観察してよいと考える。

【結論】

術後麻痺のリスクを完全に否定できないが、後方除圧固定術は現在選択できる術式の中で最も安全性が高い。後方除圧固定術単独で中長期的にも、ほぼ満足する結果が得られている。本術式による脊髄症改善は、後弯矯正によってではなく、脊柱を固定することにより、もたらされると考えられる。

【文献】

- 1) Yamazaki M, Okawa A, Koda M, et al: Transient paraparesis after laminectomy for thoracic myelopathy due to ossification of the posterior longitudinal ligament: a case report. *Spine* 30: E343-E346, 2005.
- 2) Yamazaki M, Koda M, Okawa A, et al: Transient paraparesis after laminectomy for thoracic ossification of the posterior longitudinal ligament and ossification of the ligamentum flavum. *Spinal Cord* 130-134, 2006.
- 3) 山崎正志: 胸椎後縦帯骨化症例に対する後方除圧固定術の適応と成績. *脊椎脊髄* 15: 98-103, 2002.
- 4) 山崎正志, 池田義和, 大河昭彦, 他: 胸椎後縦帯骨化症に対する術式別の手術成績と適応. *後方除圧固定術*を中心に. *別冊整形外科* 45: 162-167, 2004.
- 5) Yamazaki M, Mochizuki M, Ikeda Y, et al: Clinical results of surgery for thoracic myelopathy caused by ossification of the posterior longitudinal ligament: operative indication of posterior decompression with instrumented fusion. *Spine* 31: 1452-1460, 2006.
- 6) 山崎正志: 胸椎後縦帯骨化症に対する術式別の手術成績. 特に後方除圧固定術の適応について. *整形外科* 59: 435-438, 2008.
- 7) 山崎正志: 胸椎後縦帯骨化症, 黄色靭帯骨化症. *脊椎脊髄* 19: 499-508, 2006.
- 8) 山崎正志: 胸椎後縦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.
- 9) Yamazaki M, Okawa A, Fujiyoshi T, et al: Posterior decompression with instrumented fusion for thoracic myelopathy caused by ossification of the posterior longitudinal ligament. *Eur Spine J* (in press)

後縦靱帯 骨化症 (OPLL)

山崎正志 (やまざき まさし)

千葉大学大学院医学研究院整形外科

◆ 後縦靱帯骨化症とは

脊柱を構成する靱帯には、椎体間の靱帯として前縦靱帯 anterior longitudinal ligament, 後縦靱帯 posterior longitudinal ligament, 椎弓間の靱帯として黄色靱帯 yellow ligament/ligamentum flavum などがある。

後縦靱帯は椎体と椎間板の後面を覆う通常は1~2mmの厚さの線維性組織であるが、ときに異所性に骨化して肥厚し、後縦靱帯骨化 ossification of posterior longitudinal ligament (OPLL) と呼ばれる。OPLL という単語は骨化そのものを指す場合もあり、また、骨化に伴う症状を現す後縦靱帯骨化症という意味で使用されることもある。OPLL は頸椎に多く発生するが、胸椎や腰椎にも生じる。

OPLL には、黄色靱帯骨化 ossification of yellow ligament (OYL)/ossification of ligamentum flavum (OLF) などの他の脊柱靱帯の骨化が合併することが多い。さらには脊柱管内に突出した靱帯骨化が脊髄を圧迫し、重篤な脊髄障害をきたす例がわが国で多いことから、わが国ではこれらの脊柱靱帯の骨化およびそれらによって引き起こされる症状を総称して脊柱靱帯骨化症と呼んでいる。脊柱靱帯骨化症は、全身の骨化傾向を有する疾患、すなわち全身性特発性骨増殖症 diffuse idiopathic skeletal hyperostosis (DISH),

強直性脊椎骨増殖症 ankylosing spinal hyperostosis (ASH) の一部分症であるという説が有力である。

◆ 疫学および成因

頸椎後縦靱帯骨化は1960年にわが国でその剖検例が初めて報告されて以来、頸髄症をきたす特異な疾患として注目されるようになった。当初、重度の脊髄症をきたす後縦靱帯骨化症の報告がわが国で多くなされたため、本症は“Japanese disease”ともいわれたが、その後の調査でアジアをはじめヨーロッパやアメリカなど世界中に広く分布することがわかってきた。

日本人成人の約2%にOPLLが存在し、このうち約15%が脊髄症状を有するとされる。初発年齢は50歳前後が多く、男女比はおおよそ2:1である。糖尿病の合併が多い。

原因は、患者の両親、兄弟などの同一家族内に本症が多発する家族集積性が認められることから、遺伝的素因の関与が強く示唆されている。

本疾患は厚生労働省が特定疾患(いわゆる難病)に指定している。ただし、X線像で骨化が証明されただけは認定基準を満たさず、OPLLが脊髄障害の原因となり著しい運動機能障害を伴う例が特定疾患として認定される。

◆ 診断

骨化が存在しても脊髄圧迫が軽度であれば、通常は無症候性である。初期症状としては上肢のしびれ、頸部の不快感などがあるが、非特異的である。その後、手指巧緻運動障害、痙性歩行、腱反射亢進、膀胱直腸障害などの脊髄症状が緩徐に進行することが多い。約20%の例では外傷を契機に症状が増悪する。外傷性頸髄損傷が発生して初めて後縦靱帯骨化が発見される例もある。

頸椎の側面単純X線像で、骨化の形態は連続型、分節型、混合型、その他型(椎間板限局型)

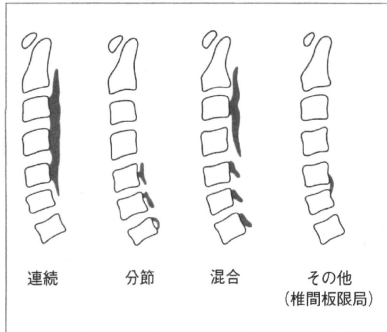


図1 頸椎後縦帯骨化のX線像分類
(厚生労働省・脊柱帯骨化症調査研究班)

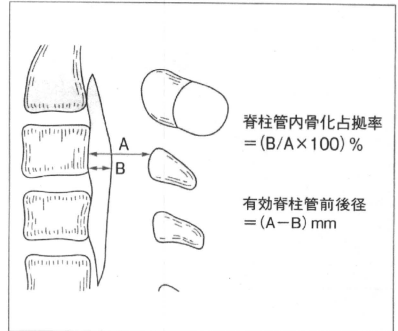
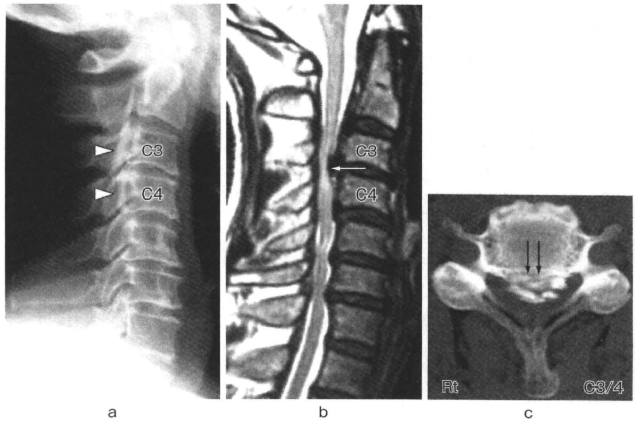


図2 脊柱管内骨化占拠率および有効脊柱管前後径の計測方法

図3 頸椎後縦帯骨化症例の単純X線、MRI、CT所見

a 単純X線側面像：本例ではC2～C6高位に分節型OPLLが存在する(矢頭)。単純X線では、骨化を判別しにくい場合が多い。
b MRI(T2強調矢状断像)：C3/4高位で脊髄は前方から著しい圧迫を受けている(矢印)。C4/5、C5/6、C6/7にも脊髄圧迫が存在する。C5、C6高位で髄内高輝度変化を認める。
c CT：骨化の形態を明瞭に評価できる(二重矢印)。



に分類される(図1)。骨化巣の好発部位はC5が最も多く、型別には分節型、混合型、連続型の順に多い。脊髄症の重症度は、混合型、連続型、分節型の順である。また、ほとんどの例で骨化は経年的に進展する。

固有・有効脊柱管前後径および骨化占拠率を計測する(図2)。骨化占拠率が40%を超えると脊髄症を発生しやすくなる。また、有効脊柱管前後径が6 mm以下では、重度の脊髄症を発

生しやすい。

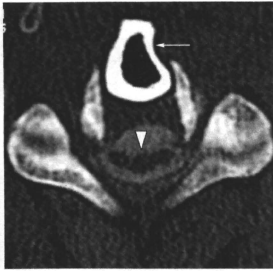
CT像で、骨化の脊柱管内への広がりを的確に把握できる。脊髄造影、MRI検査で、通過障害部位と脊髄圧迫、髄内輝度変化を把握でき、これらは手術適応と手術範囲の決定、予後予測に必須である(図3)。

◆ 保存的療法

脊髄への動的圧迫因子の軽減を目的とする。



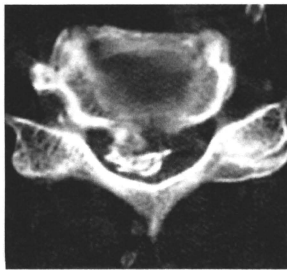
術前



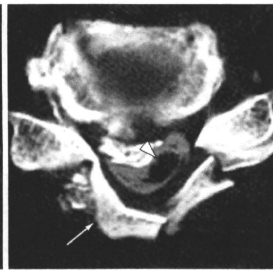
術後

図4 頸椎前方除圧固定術

術前および術後のCTミエログラムにて、骨化が完全に開削され、脊髓が除圧されている(矢頭)。本例では自家腓骨が移植されている(矢印)。



術前



術後

図5 頸部脊柱管拡大術

術前および術後のCTミエログラムにて、椎弓が拡大され(矢印)、脊髓が後方に移動している。本例のような大きな骨化では、前方からの脊髓圧迫が一部残存する(矢頭)。

頸椎カラーの装着、直達・介達の頸椎持続牽引療法を試みる。後縦靭帯骨化症では、静的因子による脊髓圧迫が主な病態であるため、保存療法の効果には限界がある。

◆ 手術治療

機能障害の強い例、増悪を繰り返す例、進行の著しい例、保存的治療の効果のない例が手術の対象となる。

1. 前方除圧固定術

前方からアプローチし、骨化(圧迫因子)を摘出すると同時に、脊椎を安定化させるため、骨移植術を追加する(図4)。成績は最も優れているが、手術の難易度が高い、術後長期間の外固定を要するなどの問題点もある。

2. 後方除圧術(頸部脊柱管拡大術・椎弓形成術)

脊髓を後方に移動させ、骨化による圧迫を軽減する(図5)。骨化の摘出は行わない。手術の難易度が前方法に比して高くないため、多くの施設で行われている術式である。しかし、脊髓が後方に移動しない場合は、成績が劣るという問題点がある。

3. 後方除圧固定術(頸椎椎弓切除・形成術+後方インストールメンテーション固定)

脊髓の後方への移動が不十分であると予測され、さらに、最大圧迫高位で椎間の可動性が残っている例に適應される。脊椎を固定することにより、脊髓障害の進行を防ぐ目的で行われる。

〔総説〕

骨折骨癒合研究の最近の進歩

— 分子細胞生物学の視点から —

中 島 新 山 崎 正 志 高 橋 和 久

(2009年12月2日受付)

要 旨

骨折治癒過程は損傷した骨組織が機械的負荷に耐えうる強度を回復するための生理反応である。主に炎症期、修復期（仮骨形成期）、リモデリング期の3つのステージから成り、そのステージによって幾種かの異なる細胞群が精巧な制御の下に互いに協調しながら組織修復を行っている。近年、動物実験では骨形態形成因子（bone morphogenetic protein, BMP）など細胞成長因子の局所投与による骨折治癒促進を目指した研究が盛んに行われており、我々も塩基性線維芽細胞増殖因子（basic fibroblast growth factor, bFGF）の局所投与による骨折治癒への効果を検討した。bFGFは仮骨を増大する作用があるものの、骨密度や力学強度に影響はなく、骨癒合を促進しなかった。最近、副甲状腺ホルモンの間欠投与による強力な骨形成作用が注目を浴びており、我々はPTH（1-34）の皮下投与による骨折治癒促進効果を検討した。PTHは仮骨の骨密度や力学強度を有意に増加させたが、軟骨分化には影響を及ぼさなかった。さらに、骨癒合遅延と関連の深い病態の一つである糖尿病（diabetes mellitus, DM）において遷延治癒のメカニズムを検討した。DM群ではコントロールに比して仮骨が有意に小さく、II、X型コラーゲン、オステオポンチンの発現が有意に低下していた。将来、細胞成長因子や副甲状腺ホルモンなどの全身または局所投与によって骨折治癒促進が可能になることが期待されるが、同時に効率的な使用方法が求められる。そのためには分子細胞レベルでのメカニズムの解析が重要であることを忘れてはならない。

Key words: 骨折治癒、分子細胞生物学、塩基性線維芽細胞増殖因子、副甲状腺ホルモン、糖尿病

略語一覧: bFGF: basic fibroblast growth factor
PTH: parathyroid hormone
DM: diabetes mellitus

はじめに

運動器疾患を扱う整形外科において、筋骨格系の外傷は日常診療において最も頻繁に遭遇する疾患である。米国では毎年約3,300万人が筋骨格系の外傷を負うといわれており、これは米国民100人当たり13.8回の頻度にあたる。この中でおよそ

620万件が骨折によるものである[1]。骨折治療の基本は整復と固定であり、手術方法や固定材料の開発など近年の整形外科および材料工学の進歩によって多くは満足のいく結果を得ることが可能になった。しかしながら今なお5-10%に遷延治癒や偽関節に至る成績不良例が存在することも事実である[2]。

千葉大学大学院医学研究院整形外科
Arata Nakajima, Masashi Yamazaki and Kazuhisa Takahashi: Recent progress in fracture healing research through molecular and cellular biology.
Department of Orthopedic Surgery, Chiba University Graduate School of Medicine, Chiba 260-8670.
Tel. 043-227-1131. Fax. 043-227-1961. E-mail: a-nakaji@s7f.so-net.ne.jp
Received December 2, 2009.

骨折治癒過程は損傷した骨組織が機械的負荷に耐える強度を回復するための複雑な生理反応である。骨が他の組織と大きく異なるのは、損傷を受けてもほとんど瘢痕を残さずことなく再生できるという点である。これは治癒過程の異なったステージにおいて必要な細胞群がオートクライン、パラクラインに特定の細胞内情報伝達を行い、細胞分化、基質合成などの一連の生物学的反応が精巧な制御の下に行われているからである。しかしながら、ある病態ではこの一連の生物学的イベントが円滑に進行しないために遷延治癒や偽関節に至ると考えられる。以上のことから、安定した骨折治療法の確立には手術方法や固定材料の開発だけでは不十分であり、細胞生物学、分子生物学の面から治癒過程に出現する一連の生物学的イベントを理解しておくことが重要である。

骨組織が非常に高い再生能力を持つ理由として、基質内に細胞成長因子が豊富に蓄積されていることが考えられる。今から約40年前にUristは移植骨の基質内に骨新生を誘導する因子があることを発見し、bone morphogenetic protein (BMP) と名付けた[3]。その後WozneyらによってBMPファミリーのクローニングが行われ、現在までに少なくとも16種類が同定されている[4]。さらに骨基質にはBMPの他にfibroblast growth factor (FGF), transforming growth factor- β (TGF- β), insulin-like growth factor (IGF)などの細胞成長因子が豊富に存在することが知られている。これらの細胞成長因子は免疫組織学的手法やin situ hybridizationなどの分子生物学的手法によって骨折治癒過程に発現していることが示されている[5-9]。近年、遺伝子工学の発達によって大量のタンパク精製が可能になると、BMPを中心に細胞成長因子を用いた骨折治癒促進の研究が盛んになった[10]。我々もbasic FGFをラット大腿骨骨幹部骨折に局所投与し、その効果を検討した[2,11]。

本論では、これまでに我々が行ってきたbFGFによる骨折治癒への効果の他、最近、強力な骨形成作用を持つペプチドとして注目を集めている副甲状腺ホルモン (parathyroid hormone, PTH) による骨折治癒促進効果、また、遷延治癒、偽関節との関連が深い糖尿病における骨折治癒遷延の

メカニズムを中心に、最近の骨折骨癒合研究について文献的考察を加えて解説する。

1. 骨折の治癒過程

骨折治癒過程は主に炎症期、修復期（仮骨形成期）、リモデリング期の3つのステージから成り、そのステージによって幾種かの異なる細胞群が互いに協調しながら組織修復を行う、複雑な生理反応である。骨折が起こると、まず血腫が形成され、そこにマクロファージ、リンパ球などの炎症性細胞や未分化間葉系細胞の浸潤がおこる。炎症性細胞から放出されるTNF- α 、IL-1、IL-6などの炎症性サイトカインは骨折治癒を正常に開始するために重要な役割を担っている[12,13]。血腫に多量に存在する血小板からはTGF- β 、PDGFなどの成長因子が放出され、細胞増殖や骨折部にリクルートされた未分化間葉系細胞の（軟骨細胞や骨芽細胞への）分化に重要な役割を果たしている。

骨折治癒の基礎研究にとって最も大切なことは、組織学的に再現性よく治癒過程を観察することが可能な骨折モデルの作成である。Bonnarensらはラット大腿骨骨幹部にこの条件を満たす閉鎖性骨折モデルの作成に成功した[14]。この骨折モデルでは炎症期に続いて修復期が骨折後4日頃から始まり、内軟骨性骨化と膜性骨化という2つの骨化過程が共存しながら治癒過程が進んでいく。骨折部近傍では間隙を埋めるように内軟骨性骨化によって軟骨（軟性仮骨）が形成される。軟骨形成と平行して、骨折部から少し離れたところでは骨膜が肥厚し、膜性骨化によって骨膜下に骨組織（硬性仮骨）が形成される。このようにして骨折後2週間までに仮骨の大きさはピークに達する。しかしながら骨折部には軟骨が豊富に介在し、硬性仮骨は未熟な骨（wooven bone）であり正常な層板骨ではない。骨折後10日頃から軟骨は、長管骨における成長板の石灰化とほぼ同様のメカニズムで石灰化し、血管進入を受ける。肥大化した軟骨細胞はVEGFなどの血管新生因子やMMPなどの軟骨組織の吸収に必要なプロテアーゼを大量に産生するが、最終的にアポトーシスによって細胞死に至る。その後、石灰化軟骨への進入血管は骨芽細胞の前駆細胞をリクルートし、1次海面骨を

形成する。その後、石灰化軟骨が破骨（軟骨）細胞によって吸収されるにしたがって成熟した海面骨組織（2次海面骨）へと構造化する。骨折後4週頃、軟骨がすべて骨組織に置換され骨癒合に至る。この後2-4週の長い期間をかけて機械的負荷に耐えうる層板構造をもった正常骨組織へとリモデリングし、瘢痕を残すことなく骨折前の形態に回復していく。

II. 塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) による骨折治癒促進の試み

FGFファミリーは30年以上前に下垂体中存在する分子量17kDaのタンパク (acidic FGF, aFGF; basic FGF, bFGF) として同定された[15]。その後の研究からFGFは下垂体のみならず、全身のほとんどの組織に存在し、多様な生理活性を有していることが明らかになった。現在までに23のサブタイプが報告されており、そのシグナルは4つのFGF受容体 (FGFR1-4) によって細胞内に伝達される。このリガンド-レセプター系は多対多対応をなして広範囲な組織に発現しており、多彩な生物情報を精巧に制御している[16]。FGFの生理作用として個体発生、特に中胚葉、神経外胚葉由来の細胞に対する細胞増殖、血管新生作用が報告されているが、中でもbFGFは細胞増殖、遊走、分化、血管新生に対して強力な作用を有している[17]。bFGFは血管、神経、骨格系の発達に重要な役割を果たしているばかりでなく、創傷治癒や組織修復にも深く関与している。

我々はラット閉鎖性大腿骨骨幹部骨折モデルを用いて、bFGFの骨折治癒への効果を検討した[2,11]。まず、骨折直後にヒト遺伝子組み換え型bFGF100 μ gを骨折部に単回投与し、骨折治癒過程における内軟骨性骨化（軟骨形成）への効果を検討した。bFGF投与群では、コントロール群に比べて早期に大きな軟骨を形成し、in situ hybridizationでは骨折後14日目にII型コラーゲン (COL2A1)、X型コラーゲン (COL10A1) 遺伝子の発現が広範囲にわたり認められた。Northern blotによる定量的解析では、bFGF投与群ではコントロール群に比してCOL2A1とCOL10A1の発現が約2倍に亢進していた。骨折

部における細胞増殖能を、抗PCNA抗体を用いた免疫染色にて解析したところ、骨折部近傍の未分化間葉系細胞の細胞増殖が有意に増加していた。しかしながら、内軟骨性骨化の最終段階である軟骨から骨組織への置換は両群において明らかな差は認められなかった。

次に、膜性骨化（骨形成）に及ぼす影響を検討したところ、骨折後1週以内の早期においてbFGF投与群ではコントロール群に比して骨膜下の前骨芽細胞様細胞の細胞増殖が約2倍に増加していた。bFGFが石灰化に及ぼす影響を分子レベルで調べるために、仮骨からRNAを抽出し、経時的にosteopontin mRNAの発現を解析した。しかしながら、骨折後28日までに両群間で有意差は認められず、発現パターンもほぼ同じであった。さらに、骨折後6、8週の時点で、仮骨の骨密度、力学強度、ねじり強度についても解析を行ったが、骨密度、力学強度については両群間に有意差は認められず、8週時点でのねじり強度はbFGF投与群でむしろ有意な低下を認めた。以上の結果から、閉鎖性長管骨骨折においてbFGF単回投与は仮骨を増大する作用があるものの、骨癒合は促進しないと結論した。

しかしながら我々とは全く逆の結果を報告する論文も見られる。複数のグループから、長管骨骨幹部骨折に対してbFGFを骨折部に単回投与することによって仮骨の増大と力学強度の有意な増加を認めたとの報告がある[18-22]。このような骨折治癒に対するbFGFの効果の差異は主に骨折モデルの違いから生じるものと考えられる。すなわち、我々の骨折モデルは完全な閉鎖性骨折であるために骨折部にリクルートされる未分化間葉系細胞の多くは軟骨細胞分化に向かう。一方、他のグループでは骨切りモデルが用いられており、この場合、骨折部近傍の未分化間葉系細胞が骨折部から大量に流出すると考えられる。従って、局所に投与されたbFGFは骨膜に存在する前骨芽細胞に選択的に作用することになる。また、我々の骨折モデルでは骨折部の固定性が比較的弱いことも軟骨形成を助長し、骨折治癒促進に対して逆効果となった可能性も考えられる。これまでの研究成果からbFGFの局所投与が将来の骨折治癒に応用される可能性はあるものの、骨折の状態や固定性な

どを十分に考慮した上で慎重に使用されるべきと考える。

Ⅲ. 副甲状腺ホルモン (parathyroid hormone, PTH) による骨折治癒促進効果

内因性の副甲状腺ホルモン (PTH) は骨や腎尿細管から Ca^{2+} を吸収し血中の Ca バランスを調節する重要な働きを担っている。一方、外因性の PTH はその投与方法によって骨組織に対して全く異なる作用をもつことが明らかにされている [23-28]。即ち、持続的に投与した場合には骨に対して異化作用を示すが、間欠的に投与した場合には同化作用を呈する。遺伝子組み換え型ペプチドとしては full length の PTH (1-84) と N 末端の 34 アミノ酸から成る PTH (1-34) が中心であるが、その生理作用は同じであると考えられている。最近の研究から、骨折治癒過程において PTH (1-34) の間欠投与は仮骨形成を促進し、力学強度を著明に増加させることが明らかとなった [29,30]。Andreassen らはラット大腿骨骨幹部骨折モデルを用い、骨折後 60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の 2 つの用量で PTH (1-34) を連日皮下投与し、200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群において、より大きな仮骨形成と強度をもった仮骨が得られたと報告した [29]。米国で行われた骨粗鬆症患者に対する大規模臨床試験においても、20-40 $\mu\text{g}/\text{day}$ の低用量の PTH (1-34) 皮下投与によって平均 21 ヶ月後に骨密度の増加が得られたと報告された [31]。米国では 2002 年にヒト組み換え型副甲状腺ホルモン [rhPTH (1-34); 一般名: teriparatide, 商品名: Forteo[®]] が重症骨粗鬆症患者への投与が承認されており、今後、強力な骨形成作用をもつ薬剤として広く骨粗鬆症患者に使用されていくことが予想される。さらにこの薬剤は、将来的に骨折治癒促進の新しい治療戦略として臨床応用への可能性も秘めている。動物実験では 60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ という高用量において著明な骨折治癒促進効果が示されたが [29]、この用量はかなりの高用量であり現実的ではない。臨床応用を視野に入れた、より低用量での効果を検討することが必要であった。

そこで我々はより現実的な用量を想定し、投与

量を 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ とし、ラット閉鎖性大腿骨骨幹部骨折モデルを用いて、その骨折治癒促進効果を分子レベルで解析した [32]。PTH 投与群ではコントロール群に比べて治癒過程早期から後期まで X 線学的に仮骨形成が著明であり (図 1)、骨折後 4、6 週において仮骨の骨塩量、骨密度、力学強度はいずれも有意な増加を認めた。抗 PCNA 抗体を用いた免疫染色による細胞増殖能評価では、骨折後 2 日目の早期において骨膜下の前骨芽細胞の有意な増殖を認めた。仮骨リモデリングに重要な破骨細胞への影響を調べるために酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ (TRAP) 染色を行い、仮骨内の破骨細胞数を比較した。その結果、骨折後 7 日目において PTH 投与群ではコントロール群に比して有意な増加を認めた。さらに、主要な骨基質タンパクである I 型コラーゲン、オステオネクチン、オステオカルシンの発現量を遺伝子レベルで解析するために仮骨から RNA を抽出し、Northern blot にて経時的な発現量の変化を調べた。その結果、骨折後 4-21 日のいずれの時点においても PTH 群で有意な発現量の増加を認めた。これまでに PTH による骨へ

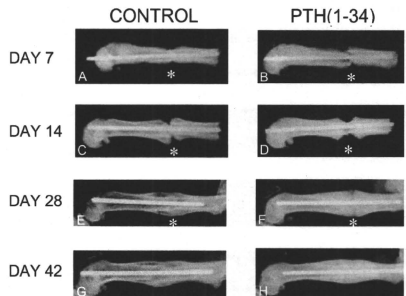


図 1 ラット閉鎖性大腿骨骨幹部骨折に対する PTH (1-34) の治癒促進効果。コントロール群 (A, C, E, G) と PTH 投与群 (B, D, F, H) の X 線写真を示す。骨折部の安定化のために、髓腔内には鋼線が挿入されている。PTH 投与群ではコントロール群に比べて骨折後 7 日目において仮骨形成促進が明らかであり (B)、14 日目においてその差はさらに著明となる (D)。骨折後 28、42 日目において、コントロール群では仮骨のリモデリングが認められるが (E, G)、PTH 投与群では引き続き骨形成が見られる (F, H)。米印は骨折部を示す。

のアナボリック効果はinsulin-like growth factor (IGF-I) を介する作用であることが報告されているため[26,33], 骨折治癒過程におけるIGF-Iの発現をin situ hybridization, Northern blotにより検討した。IGF-I mRNAは骨膜下の骨芽細胞様細胞や骨梁周囲の成熟骨芽細胞に発現が認められ、PTH群においてより強いシグナルが観察された。Northern blotでは骨折後4-7日においてPTH群において有意な発現の増加を認めた。

PTHのhomologueである副甲状腺ホルモン関連ペプチド (PTHrP) は胎児や長管骨の発生過程において軟骨の肥大化を抑制することが知られているため[34,35], 骨折治癒過程においても軟骨の肥大化を抑制し, 内軟骨性骨化を遅延させる可能性が考えられた。このため我々はPTHの骨折治癒過程における軟骨形成への効果を検討した[36]。骨折後14日目においてPTH群ではコントロール群に比して軟骨面積の有意な増加を認めた。抗PCNA抗体を用いた免疫染色による細胞増殖能評価では, 骨折後4-7日目の早期において骨折部近傍の未分化間葉系細胞の有意な増殖を認めたが, 軟骨細胞では明らかな差はなかった。In situ hybridizationでも骨折後4日目においてIGF-I mRNAは骨折部近傍の未分化間葉系細胞に

Mechanisms of enhancement of fracture healing by PTH(1-34)
- Intramembranous ossification -

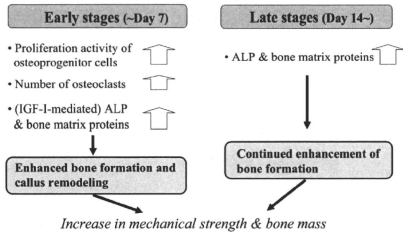


図2-A PTH (1.34) による骨折治癒促進のメカニズム (膜性骨化)。PTH投与は, 骨折後7日目までの早期において, 骨膜下の前骨芽細胞の増殖と骨梁周囲の破骨細胞の増加を促す。またIGF-Iを介してアルカリホスファターゼ (ALP) の発現や骨基質タンパクの産生を増加させる。これらの結果, 骨形成とリモデリングが促進される。14日以降の後期においても引き続きALPの発現や骨基質タンパクの産生を増加させる。最終的に仮骨の骨密度, 力学強度は増加する。

Mechanisms of enhancement of fracture healing by PTH(1-34)
- Endochondral ossification -

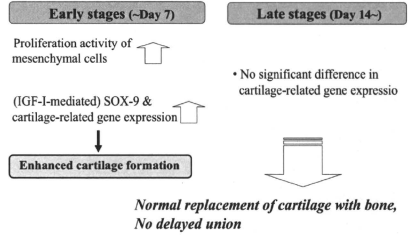


図2-B PTH (1.34) による骨折治癒促進のメカニズム (内軟骨性骨化)。PTH投与は, 骨折後7日目までの早期において, 骨折部近傍の未分化間葉系細胞の増殖とIGF-Iを介したSOX-9および軟骨関連遺伝子の発現を増加させる。これらの結果, 軟骨形成は促進される。14日以降の後期では, 軟骨関連遺伝子の発現は影響を受けない。最終的に正常な軟骨から骨への置換が行われ, 骨癒合は遅延しない。

強い発現を認めたが, 軟骨細胞では明らかな差はなかった。Northern blotでは骨折後4日目において軟骨分化の重要な転写因子であるSox-9の発現がPTH群で有意に増加しており, 同時期におけるII型コラーゲンの発現も増加していた。しかしながら, 骨折後14日目以降は両群間においてII型コラーゲン, X型コラーゲン, オステオポンチン, Sox-9の発現に有意差は認められなかった。以上の結果から, PTH間欠投与によって速やかに膜性骨化が刺激され, 早期に機械的負荷に耐えうる骨組織に回復させることが可能であるが, 内軟骨性骨化には影響を及ぼさないことが明らかになった (図2-A, -B)。

IV. 糖尿病における骨折治癒遅延のメカニズム

糖尿病と骨折後の癒合不全, 偽関節との関連はこれまでに数多く報告されている[37-41]。また, 実験的に作成した糖尿病モデルにおいても同様に多くの報告がある[42-47]。しかしながら, そのほとんどは骨折治癒過程における膜性骨化への影響であり, 内軟骨性骨化に対する影響については不明であった。また癒合不全に至りやすいメカニズムを分子レベルで解析した論文も少なかった。そこで我々は実験的にI型糖尿病ラットを作成,

閉鎖性大腿骨幹部骨折を作成し、特に内軟骨性骨化への影響に着目して分子レベルでの解析を行った[48]。X線学的評価では骨折後4週においてDM群ではコントロール群に比して有意に骨癒合率の低下を認めたが、6週では両群間で有意差は認めなかった。Toluidine blue染色による軟骨面積の計測では、骨折後4週までいずれの時期においてもDM群で有意に低下していた。抗PCNA抗体を用いた免疫染色による細胞増殖能評価では、骨折部近傍の未分化間葉系細胞、軟骨細胞においてともに骨折後4、7日目の早期においてDM群で有意に低下を認めた。さらに、主要な軟骨基質であるⅡ型コラーゲンや軟骨肥大化の指標となるX型コラーゲン、オステオポンチンの発現をNorthern blotにて検討したところ、骨折後4週までいずれの時点においてもDM群で低下していた。以上のことから、DMでは未分化間葉系細胞の増殖と主にⅡ型コラーゲンの産生が低下するために小さい仮骨を形成することが示された。さらに内軟骨性骨化の最終分化段階である軟骨細胞の肥大化や石灰化が遅延することで、遷延治癒または偽関節に至りやすくなるメカニズムが考えられた。

DMの病態であるインスリン欠乏または抵抗性がいかなる機序によって骨癒合不全に至るのであろうか？ Shimoakaらはインスリン・シグナルに重要な共通の基質であるinsulin receptor substrate-1 (IRS-1) のノックアウトマウスの脛骨骨折モデルを作成し、野生型との治癒過程を比較検討した[49]。その結果、IRS-1ノックアウトマウスでは仮骨形成が著明に減少しており、骨癒合の遅延、偽関節の発生が多く認められた。組織学的には骨折部近傍の未分化間葉系細胞の増殖が抑制され、修復期の膜性骨化が抑制されるとともに、内軟骨性骨化においても十分な軟骨細胞の増殖がないまま分化が進行してアポトーシスに至るため、骨癒合が遅延する所見が得られた。これらの事実は正常な骨折治癒にはIRS-1を介したインスリン・シグナルが必須であることを示している。事実、DMモデルに認められた骨折治癒の遅延は、インスリンの全身あるいは局所投与によって正常に回復されることが報告されている[45,50-52]。DMによる骨折治癒遅延のメカニ

ズムはインスリン・シグナルの異常の他、Dlx5, Runx2, c-fos, c-junなど骨芽細胞分化を制御する転写因子の発現低下[53]、内軟骨性骨化の過程で軟骨細胞が十分に肥大化する前に破骨(軟骨)細胞によって軟骨基質が吸収され[54]、その際にTNF- α の過剰発現が関与する[55]などのメカニズムが考えられている。

V. 今後の展望—骨折治癒促進法の確立を目指して—

骨折治療法の習得は整形外科医の最も基本的事項であるが、未だ確立されたものとは言い難い。冒頭に述べたように、骨折治癒過程は炎症期、修復期(仮骨形成期)、リモデリング期の3つのステージが順に出現し、内軟骨性骨化と膜性骨化という2つの異なる骨化過程が存在する。さらに、そのステージ、場所によって幾種かの異なる細胞群が共存している。これらを考えると、ある一種の薬剤(ペプチド)の投与で骨折治癒過程の全てのステージを促進することは極めて困難である。骨折治癒促進の難しさは正にこの点にあるといっても過言ではない。

このような中で、現在最も可能性のある治癒促進法はBMPなどの細胞成長因子を骨折局所に投与する方法であろう。しかしながら、安全かつ効率的に作用させるためにはdrug delivery system (DDS)の開発が不可欠である。DDSとして合成担体(多孔性 β -tricalcium phosphate, hydroxyapatiteなど)が開発されており、既に骨欠損モデルでその有用性が報告されている[56,57]。また、生物種によって細胞成長因子に対する感受性が大きく異なる点も臨床応用への弊害となっている。特にヒトや霊長類のBMPに対する感受性は、げっ歯類に比べて極端に低いため、骨形成誘発には高用量のペプチドが必要であり、コスト面から骨再生医療材料としての汎用性が妨げられている。これらの問題を解決するためには、BMP単独ではなくその効果を増強する因子の併用や生産コストの低減が求められる。

我々が研究を進めてきたPTH (1-34)の全身投与も臨床応用に近い治癒促進法であると考えている。特に本剤は骨粗鬆治療薬として既に臨床で使

用されている(本邦では臨床治験中)点が強みである。PTH (1-34) が本邦で骨粗鬆治療薬として使用認可が下りれば、次は骨折治療への適応を目指した臨床治験が始まる日もそう遠くはないであろう。全身投与に当たっては有害事象が問題となり、事実、ラットでは2年間の投与で骨肉種が発生したことが報告され[58]、我が国でのPTH臨床治験は過去に一度中止せざるを得ない状況になった経緯がある。その後の報告から骨肉種の発生は投与期間と量によることが報告され[59]、霊長類(カニクイザル)での報告では、2年間の投与後3年経過観察を行ったが骨肉種の発生はなかったと報告された[60]。我々の実験では屠殺時まで連日PTH (1-34) の皮下投与を行ったが、臨床応用に当たっては開始時期をいつにするか、投与はいつまで行うのか、などに関して十分な検討が必要であろう。PTH受容体(特にPTH1R)は骨、軟骨細胞に広く発現しており、同じ細胞でも骨折治癒過程のステージによって異なった細胞応答を示す。PTHを効率的に骨折治療に応用していくためには、同時に分子細胞レベルでのメカニズムの解析が極めて重要であることを忘れてはならない。

謝 辞

本論は中島文毅, 小笠原 明, 後藤憲一郎, 清水純人, 仲澤徹郎先生ら千葉大学整形外科骨代謝グループの研究成果を基に執筆させていただきました。ここに感謝申し上げます。

SUMMARY

Fracture healing is a complex physiologic process in which bone heals for the purpose of transferring mechanical loads. It consists of three different phases including inflammation, regeneration (callus formation), and remodeling where several types of cells participate in the healing process under the control of specific paracrine and autocrine intracellular signaling pathways. Recently, basic research aiming at enhancement of fracture healing by a local injection of growth factors such as bone morphogenetic proteins (BMPs) has been conducted, and we also investigated the effect of basic fibroblast growth factor (bFGF) on rat fracture healing. bFGF increased the callus size but had no effect on bone mineral density (BMD) or mechanical strength of the callus. Increasing

evidence has shown that intermittent treatment of parathyroid hormone (1-34) [PTH (1-34)] strongly stimulates bone formation, and we also verified the effect of a systemic injection of PTH (1-34) on rat fracture healing. PTH (1-34) significantly increased BMD and mechanical strength of the callus but had no effect on replacement of cartilage with bone, which is an important biological event for bone union. Furthermore, we analyzed mechanisms of delayed bone healing in rats complicated with diabetes mellitus (DM). In DM group, the callus size was significantly smaller than controls, and expression of type II-, type X-collagen, and osteopontin was significantly diminished. In the near future, fracture healing could be accelerated by clinical interventions of growth factors and/or PTH (1-34). We should note that molecular and cellular biological studies for the mechanism of bone healing are indispensable to effectively use these peptides in the future treatment of skeletal injuries.

文 献

- 1) Praemer A, Furner S, Price OP. Musculoskeletal conditions in the United States. Rosemont, IL. Am Orthop Surg 1992; 85-91.
- 2) Nakajima F, Nakajima A, Ogasawara A, et al. Effects of a single percutaneous injection of basic fibroblast growth factor on the healing of a closed femoral shaft fracture in the rat. Calcif Tissue Int 2007; 81: 132-8.
- 3) Urist MR. Bone. Formation by autoinduction. Science 1965; 150: 893-9.
- 4) Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ, et al. Novel regulators of bone formation: Molecular clones and activities. Science 1988; 242: 1528-34.
- 5) Bolander ME. Regulation of fracture repair by growth factors. Proc Soc Exp Biol Med 1998; 200: 165-70.
- 6) Bostrom MPG, Lane JM, Berberian WS, et al. Immunolocalization and expression of bone morphogenetic proteins 2 and 4 in fracture healing. J Orthop Res 1995; 13: 357-67.
- 7) Ishidou Y, Kitajima I, Obama H, et al. Enhanced expression of type I receptors for bone morphogenetic proteins during bone formation. J Bone Miner Res 1995; 10: 1651-9.
- 8) Onishi T, Ishidou Y, Nagamine T, et al. Distinct and overlapping patterns of localization of bone morphogenetic protein (BMP) family members and a BMP type II receptor during fracture healing in rats. Bone 1998; 22: 605-12.
- 9) Nakajima A, Nakajima F, Shimizu S, et al. Spatial and temporal gene expression of fibroblast growth factor type I receptor (FGFR1) during fracture healing in the rat. Bone 2001; 29: 458-66.
- 10) Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA. The role of growth factors in the repair of bone. Biology and clinical applications. J Bone Joint Surg Am 2002; 84-A: 1032-44.

- 11) Nakajima F, Ogasawara A, Goto K, et al. Spatial and temporal gene expression in chondrogenesis during fracture healing and the effects of basic fibroblast growth factor. *J Orthop Res* 2001; 19: 935-44.
- 12) Gerstenfeld LC, Cho TJ, Kon T, et al. Impaired intramembranous bone formation during bone repair in the absence of tumor necrosis factor- α signaling. *Cell Tissues Organs* 2001; 169: 285-94.
- 13) Gerstenfeld LC, Cho TJ, Kon T, et al. Impaired fracture healing in the absence of TNF- α signaling: the role of TNF- α in endochondral cartilage resorption. *J Bone Miner Res* 2003; 18: 1584-92.
- 14) Bonnarens F, Einhorn TA. Production of a standard closed fracture in laboratory animal bone. *J Orthop Res* 1984; 2: 97-101.
- 15) Gospodarowicz D, Handley HH. Stimulation of division of Y1 adrenal cells by a growth factor isolated from bovine pituitary glands. *Endocrinology* 1975; 97: 102-7.
- 16) Thomas KA. Fibroblast growth factors. *FASEB J* 1996; 1: 434-40.
- 17) Gospodarowicz D, Ferrara N, Schweigerer L, et al. Structural characterization and biological functions of fibroblast growth factor. *Endocr Rev* 1987; 8: 95-114.
- 18) Kawaguchi H, Kurokawa T, Hanada K, et al. Stimulation of fracture repair by recombinant human basic fibroblast growth factor in normal and streptozotocin-diabetic rats. *Endocrinology* 1994; 135: 774-81.
- 19) Nakamura T, Hara Y, Tagawa M, et al. Recombinant human basic fibroblast growth factor accelerates fracture healing by enhancing callus remodeling in experimental dog tibial fracture. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 942-9.
- 20) Radomsky ML, Thompson AY, Spiro RC, et al. Potential role of fibroblast growth factor in enhancement of fracture healing. *Clin Orthop* 1998; 355: S283-93.
- 21) Radomsky ML, Aufdemorte TB, Swain LD, et al. Novel formulation of fibroblast growth factor-2 in a hyaluron gel accelerates fracture healing in nonhuman primates. *J Orthop Res* 1999; 17: 607-14.
- 22) Kawaguchi H, Nakamura K, Tabata Y, et al. Acceleration of fracture healing in nonhuman primates by fibroblast growth factor-2. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 875-80.
- 23) Hock JM, Gera I, Fonseca J, et al. Human parathyroid hormone (1-34) increases bone mass in ovariectomized and orchidectomized rats. *Endocrinology* 1988; 122: 2899-904.
- 24) Canalis E, Centrella M, Burch W, et al. Insulin-like growth factor mediates selective anabolic effects of parathyroid hormone in bone cultures. *J Clin Invest* 1989; 83: 60-5.
- 25) Liu CC, Kalu DN, Sallerno E, et al. Preexisting bone loss associated with ovariectomy in rats is reversed by parathyroid hormone. *J Bone Miner Res* 1991; 6: 1071-80.
- 26) Watson P, Lazowski D, Han V, et al. Parathyroid hormone restores bone mass and enhances osteoblast insulin-like growth factor I gene expression in ovariectomized rats. *Bone* 1995; 16: 357-65.
- 27) Whitefield JF, Morley P, Ross V, et al. Restoration of severely depleted femoral trabecular bone in ovariectomized rats by parathyroid hormone (1-34). *Calcif Tissue Int* 1995; 56: 227-31.
- 28) Iahizuya T, Yokose S, Hori M, et al. Parathyroid hormone exerts disparate effects on osteoblast differentiation depending on exposure time in rat osteoblastic cells. *J Clin Invest* 1997; 99: 2691-70.
- 29) Andreassen TT, Ejersted C, Oxulund H. Intermittent parathyroid hormone (1-34) treatment increases callus formation and mechanical strength of healing rat fractures. *J Bone Miner Res* 1999; 14: 960-8.
- 30) Holzer G, Majeska RJ, Lundy MW, et al. Parathyroid hormone enhances fracture healing: A preliminary report. *Clin Orthop* 1999; 366: 258-63.
- 31) Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, et al. Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2001; 344: 1437-41.
- 32) Nakajima A, Shimoji N, Shiomi K, et al. Mechanisms for the enhancement of fracture healing in rats treated with intermittent low-dose human parathyroid hormone (1-34). *J Bone Miner Res* 2002; 17: 2038-47.
- 33) Miyakoshi N, Kasukawa Y, Linkhart TA, et al. Evidence that anabolic effects of PTH on bone require IGF-I in growing mice. *Endocrinology* 2001; 142: 4349-56.
- 34) Amizuka N, Warshawsky H, Henderson JE, et al. Parathyroid hormone-related peptide-depleted mice show abnormal epiphyseal cartilage development and altered endochondral bone formation. *J Cell Biol* 1994; 126: 1611-23.
- 35) Vortkamp A, Lee K, Lanske B, et al. Regulation of rate of cartilage differentiation by Indian hedgehog and PTH-related protein. *Science* 1996; 273: 613-22.
- 36) Nakazawa T, Nakajima A, Shiomi K, et al. Effects of low-dose, intermittent treatment with recombinant human parathyroid hormone (1-34) on chondrogenesis in a model of experimental fracture healing. *Bone* 2005; 37: 711-9.
- 37) Cozen L. Does diabetes delay fracture healing? *Clin Orthop* 1972; 82: 134-40.
- 38) Loder RT. The influence of diabetes mellitus on the healing of closed fractures. *Clin Orthop* 1988; 232: 210-6.
- 39) Stuart MJ, Morrey BF. Arthrodesis of the diabetic neuropathic ankle joint. *Clin Orthop* 1990; 253: 209-11.

- 40) Papa J, Myerson M, Girard P. Salvage, with arthrodesis, in intractable diabetic neuropathic arthroplasty on the foot and ankle. *J Bone Joint Surg Am* 1993; 75: 1056-66.
- 41) Tisdell CL, Marcus RE, Heiple KG. Triple arthrodesis for diabetic peritalar neuroarthropathy. *Foot and Ankle Int* 1995; 16: 332-8.
- 42) Spanheimer RG. Correlation between decreased collagen production in diabetic animals and in cells exposed to diabetic serum: response to insulin. *Matrix* 1992; 12: 101-7.
- 43) Topping RE, Bolander ME, Balian G. Type X collagen in fracture callus and the effects of experimental diabetes. *Clin Orthop* 1994; 308: 220-8.
- 44) Funk JR, Hale JE, Carmines D, et al. Biomechanical evaluation of early fracture healing in normal and diabetic rats. *J Orthop Res* 2000; 18: 126-32.
- 45) Beam HA, Parsons JR, Lin SS. The effects of blood glucose control upon fracture healing in the BB Wistar rat with diabetes mellitus. *J Orthop Res* 2002; 20: 1210-6.
- 46) Follak N, Kloting I, Wolf E, et al. Delayed remodeling in the early period of fracture healing in spontaneously diabetic BB/OK rats depending on the diabetic metabolic state. *Histol Histopathol* 2004; 19: 473-86.
- 47) Follak N, Kloting I, Merk H. Influence of diabetic metabolic state on fracture healing in spontaneously diabetic rats. *Diabetes Metab Res Rev* 2005; 21: 288-96.
- 48) Ogasawara A, Nakajima A, Nakajima F, et al. Molecular basis for affected cartilage formation and bone union in fracture healing of the streptozotocin-induced diabetic rat. *Bone* 2008; 43: 832-9.
- 49) Shimoaka T, Kamekura S, Chikuda H, et al. Impairment of bone healing by insulin receptor substrate-1 deficiency. *J Biol Chem* 2004; 279: 15314-22.
- 50) Hough A, Avioli LV, Bergfeld MA, et al. Correction of abnormal bone and mineral metabolism in chronic streptozotocin-induced diabetes mellitus in the rat by insulin therapy. *Endocrinology* 1981; 108: 2228-34.
- 51) Macey LR, Kana SM, Jingushi S, et al. Defects of early fracture-healing in experimental diabetes. *J Bone Joint Surg Am* 1989; 71: 722-33.
- 52) Kayal RA, Alblowi J, McKenzie E, et al. Diabetes causes the accelerated loss of cartilage during fracture repair which is reversed by insulin treatment. *Bone* 2009; 44: 357-63.
- 53) Lu H, Kraut D, Gerstenfeld LC, et al. Diabetes interferes with the bone formation by affecting the expression of transcription factors that regulate osteoblast differentiation. *Endocrinology* 2003; 144: 346-52.
- 54) Kayal RA, Tsatsas D, Bauer MA, et al. Diminished bone formation during diabetic fracture healing is related to the premature resorption of cartilage associated with increased osteoclast activity. *J Bone Miner Res* 2007; 22: 560-8.
- 55) Alblowi J, Kayal RA, Siqueria M, et al. High levels of tumor necrosis factor-alpha contribute to accelerated loss of cartilage in diabetic fracture healing. *Am J Pathol* 2009; 175: 1574-85.
- 56) Hoshino M, Egi T, Terai H, et al. Regenerative repair of long intercalated rib defects using porous cylinders of beta-tricalcium phosphate: an experimental study in a canine model. *Plast Reconstr Surg* 2007; 119: 1431-9.
- 57) Hoshino M, Egi T, Terai H, et al. Repair of long intercalated rib defects in dogs using recombinant human bone morphogenetic protein-2 delivered by a synthetic polymer and beta-tricalcium phosphate. *J Biomed Mater Res* 2009; 90: 514-21.
- 58) Vahle JL, Sato M, Long GG, et al. Skeletal changes in rats given daily subcutaneous injections of recombinant human parathyroid hormone (1-34) for 2 years and relevance to human safety. *Toxicol Pathol* 2002; 30: 312-21.
- 59) Vahle JL, Long GG, Sandusky G, et al. Bone neoplasms in F344 rats given teriparatide [rhPTH (1-34)] are dependent on duration of treatment and dose. *Toxicol Pathol* 2004; 32: 426-38.
- 60) Vahle JL, Zuehlke U, Schmidt A, et al. Lack of bone neoplasms and persistence of bone efficacy in cynomolgus macaques after long-term treatment with teriparatide [rhPTH (1-34)]. *J Bone Miner Res* 2008; 23: 2033-9.

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

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

藤由崇之*¹ 山崎正志*² 小西宏昭*³ 大河昭彦*²
蓮江文男*¹ 田中正*¹ 高橋和久*²

Takayuki Fujiyoshi*¹, Masashi Yamazaki*², Hiroaki Konishi*³, Akihiko Okawa*²,
Fumio Hasue*¹, Tadashi Tanaka*¹, Kazuhisa Takahashi*²

要 旨

頸椎 OPLL のうち、後方除圧術のみでは間接的な脊髄除圧が望めない K-line (-) 例において、後方から不安定性を制御した頸椎後方除圧固定術が有効であるかを検討した。対象は2000年から2007年までに後方法を施行した椎弓形成7例(LMP群)、椎弓形成+後方 instrumentation 固定7例(PDF群)である。年齢、術後観察期間、JOA score、改善率、骨化占拠率および最大圧迫高位での椎間可動域(SRM)を検討したところ、改善率がLMP群-7.3%、PDF群41.3%であり有意にPDF群で改善を認めた($p < 0.05$)。われわれは、頸椎 OPLL の手術は完全な脊髄除圧が望ましいと考えていた。しかし、無症候例の解析から、脊髄圧迫が存在しても同部位での不安定性がなければ脊髄障害が起りにくく、また不安定性が脊髄障害の危険因子であることを報告した。本研究より、後方固定を併用すれば、不安定性を制御することができ、その結果として有意な改善が得られたものと推察した。

Abstract

[Objective] To analyze the efficacy of posterior decompression with instrumented fusion for patients with cervical myelopathy due to the K-line (-)-type OPLL.

[Methods] Since January 2000 through March 2007, 14 patients with the K-line (-)-type OPLL underwent posterior decompression surgery. Laminoplasty was performed in 7 patients (LMP group) and posterior decompression (laminoplasty/laminectomy) with instrumented fusion in 7 patients (PDF group). We investigated age at surgery, follow-up period, pre-/post-op. JOA score, recovery rate, OPLL occupation ratio and segmental range of motion at the maximum spinal cord compression level (SRM).

[Results] Pre-/post-op. JOA score was 9.8/9.3 points in LMP group and 6.7/10.8 points in PDF group. The recovery ratio was -7.3% in LMP group and 41.3% in PDF group ($p < 0.05$). No significant difference was found in the others.

[Conclusions] We previously reported that larger SRM was a risk factor leading to poor surgical outcome after laminoplasty for cervical OPLL patients. The present results demonstrate that the addition of posterior instrumented fusion can knock-out the dynamic factor and obtain better surgical outcome even in the K-line (-) group. When laminoplasty is selected for such cases, the addition of posterior instrumented fusion is desirable for stabilizing the spine and decreasing damage to the cord.

Key words : 頸椎後縦靱帯骨化症 (cervical ossification of the posterior longitudinal ligament), 後方除圧固定術 (posterior decompression with instrumented fusion), K-line

*¹ 君津中央病院整形外科 (〒292-8535 木更津市桜井1010) Department of Orthopaedic Surgery, Kimitsu Chuo Hospital
*² 千葉大学大学院医学研究科整形外科 *³ 長崎労災病院整形外科

はじめに

脊髓症状を有する頸椎後縦帯骨化症(OPLL)に対しての外科的手術は大きく分けて、前方法・後方法がある。両術式は、それぞれ一長一短があるものの、術式選択を的確に行えば両者の術後成績に大きな差はあまりないとする報告が多い^{2,5)}。しかし、静的因子として頸椎 OPLL の形態や大きさ、頸椎 alignment、さらに動的因子として椎間不安定性が重要な要素であることは周知のとおりである。

われわれは、頸椎 OPLL に対して前方法を第一選択としているが、なんらかの理由で前方法が施行できない場合は後方法を選択している。しかし、脊髓の圧迫が大きい症例では、後方法の代表的術式である椎弓形成術のみでは成績不良となることが多く、椎弓形成術の限界を認める。そこで、術前に椎弓形成術の適応外を判断するために K-line (C2 および C7 脊柱管の midpoint を結んだ線) を作製し(図 1)、頸椎単純 X 線側面にて OPLL がこの K-line を背側に超えた場合、K-line(-) は椎弓形成術のみでは脊髓除圧が図れないことを術中エコーにて証明し、また術後の臨床成績が不良であることを報告した³⁾。

われわれは、頸椎 OPLL の脊髓症状発生の要因を探るために無症候例を検討し、報告した⁴⁾。

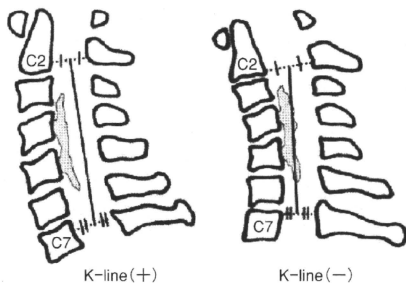


図 1 K-line の定義³⁾

頸椎 X 線側面像において、C2 および C7 脊柱管の midpoint をそれぞれ結んだ線を K-line とした。OPLL が K-line 腹側にある場合を K-line (+) とし、OPLL が K-line を超えて背側にあるものを K-line (-) とした。

Matsunaga ら⁷⁾は、骨化占拠率 60% 以上の症例は長期経過により脊髓症状を発生したと報告している。われわれの検討では、無症候例は連続型が多く、50% を超える骨化占拠率を有する症例は全例連続型であった。また、最大圧迫高位における前後屈椎間可動域は平均 3.8 度であり、大きな可動性を認めていなかった。Masaki ら⁶⁾は椎弓形成術の術後成績不良因子として、術前における最大圧迫高位での椎間不安定性を報告し、動的因子の重要性を示している。

これまでの報告・検討から、われわれは脊髄が形態的に圧迫されていても障害部位での椎間不安定性が制御できれば、脊髓症状の増悪は生じないのではないかと推測した。それ以降、われわれは頸椎 OPLL に対し後方法が選択された場合、最大圧迫高位において椎間不安定性を認める症例に対しては、積極的に椎弓形成術に加えてインプラントを併用した後方固定術を施行している。

目的

頸椎 alignment や高い骨化占拠率などの問題により、椎弓形成術単独のみでは脊髓の完全な除圧が期待できない「K-line(-) 症例」に対する後方除圧固定術の有効性を検証すること。

対象と方法

対象は、脊髓症状を有する頸椎 OPLL の K-line (-) 症例で、2000 年 1 月から 2007 年 3 月までの期間に後方法を施行した 14 例とした。内訳は、椎弓形成術 7 例 (LMP 群)、椎弓形成術 + 後方 instrumentation 固定 7 例 (PDF 群) である。各群における年齢、術後観察期間、術前における骨化占拠率および最大圧迫高位での椎間可動域 (segmental range of motion: SRM)、術前・術後 JOA score、平林法を用いた改善率を比較検討した。

統計処理は、Student's *t* 検定を用い、危険率 5% 未満を有意差ありとした。

手術方法

両群の手術はスリーピンを使用して腹臥位とし、後正中切開アプローチにて行った。LMP 群は C2-T1 までを展開し、C3-7 までの片開き式椎弓形成術を行った。また、PDF 群は C1-7 までを展開し、除圧の前に C2 および C7 椎弓根スクリューは側面イメージを用いながら挿入し、さらに C3, 4, 5 の外側塊スクリュー刺入部を 2 mm のスチールバーにてマーキングした。その後、正中縦割式の椎弓形成術にて除圧を行い、残りのスクリューを挿入した。術中に頸椎 alignment の矯正は行わず、*in situ* にてロッドをスクリューに設置し固定した。両群とも切除した棘突起を粉砕し移植骨とし、開いた椎弓の脇に移植し、ドレージを留置し閉創した。

結果

手術時平均年齢は LMP 群 65.6 歳、PDF 群 67.7 歳、術後観察期間は LMP 群 48.1 か月、PDF 群 43.1 か月であった。骨化占拠率は LMP 群 63.8%、PDF 群 65.1%、最大圧迫高位での SRM は LMP 群 7.8 度、PDF 群 10.5 度であり、両群間に有意な差は認めなかった。術前 JOA score は LMP 群 9.8 点、PDF 群 6.7 点、術後の最終観察時 JOA score は LMP 群 9.3 点、PDF 群 10.8 点であった。平林法を用いた改善率は LMP 群 -7.3%、PDF 群 41.3% であり、PDF 群において有意に改善を認めた ($p < 0.05$) (表 1)。

考察

頸椎 OPLL に対しての手術方法・手術成績は散見される。まず、大きく前方法、後方法に分けることができるが、われわれの施設では、直接的な除圧を図ることができる前方法のほうが間接的な除圧をする後方法と比べて良好な成績を得ている⁶⁾。しかし、OPLL が長範囲に及ぶ場合、術後の halo-vest 装着は必須であり、高齢者においては術後呼吸器合併症・不穏など精神状態の問題などがあり、なかなか施行できないのが現状である。

表 1 結果

	LMP 群	PDF 群
年齢	65.6 歳	67.7 歳
術後平均観察期間	48.1 か月	43.1 か月
術前 JOA score	9.8 点	6.7 点
最終観察時 JOA score	9.3 点	10.8 点
改善率*	-7.3%	41.3%
骨化占拠率	63.8%	65.1%
SRM	7.8 度	10.5 度

* $p < 0.05$: Student's *t*-test

SRM : segmental range of motion at the maximum spinal cord compression level

よって、一部の施設を除く多くの施設は後方法で対応することが多いのが現状である。しかし、術前より後方法では脊髄の除圧が不十分であることがはっきりとわかっている場合に後方法を選択することは問題があるといえる。われわれは、この術式選択基準の簡易的な指標として、K-line を提唱し報告した³⁾。すなわち、頸椎単純 X 線側面像にて C2 および C7 脊柱管の midpoint をそれぞれ結んだ線を K-line とし、この線より後縦靭帯骨化が腹側にある場合を K-line (+)、背側にある場合を K-line (-) とした。後方法を選択した際における脊髄除圧の状態を術中エコーで確認したところ、K-line (-) 症例では全例が除圧不十分であり腹側くも膜下腔の描出はできず脊髄が OPLL に圧排されている状態であった。また、術後 1 年の臨床成績では、有意に K-line (-) 症例では成績不良となっていた。よって、われわれは K-line (-) 症例は椎弓形成術のみは禁忌であると考えている³⁾。

また、Masaki ら⁶⁾は、頸椎 OPLL 手術例における椎弓形成術の術後不良因子として、最大圧迫高位での椎間不安定性を報告した。40% 以上の改善率が good、40% 未満が poor とし 2 群間比較を検討したところ、頸椎単純 X 線前後屈像にて最大圧迫高位の椎間可動域は good 群が 6.9 ± 4.1 度、poor 群は 10.0 ± 4.2 度と有意に poor 群は可動域が大きかったと述べている。

さらに、われわれは頸椎 OPLL の無症候例 27 例を検討したところ、平均骨化占拠率は 39.8%、平均最大圧迫高位での椎間可動域は 3.8 度であった。占拠率が高い症例ほど最大圧迫高位の椎間可動性

は低い負の相関がみられていた($p < 0.01$)。また、骨化占拠率50%以上の症例が3例あり、これらはすべて連続型であり、最大圧迫高位での椎間可動域はそれぞれ0度、1度、3度ときわめて小さい値であった⁴⁾。

Chen ら¹⁾は、頸椎 OPLL における頸椎後方除圧固定術の長期成績を報告した。83例に椎弓切除術および後方固定(C3-7までの lateral mass screw)を施行し、JOA score、頸椎前弯角、合併症について検討した。また、後方法の適応として、OPLL が①3レベル以上あること、②50%以上の占拠率、③C2またはC7椎体レベルに達しているものとしている。平均観察期間は術後4.8年であり、平均改善率(平林法)は $62.4 \pm 13.2\%$ と良好な成績であった。改善率50%以上の good 群は83例中59例(71.1%)、50%未満の poor 群は83例中24例(28.9%)であった。術後の頸椎前弯角は good 群が 16.1 ± 1.5 度、poor 群が 10.4 ± 1.3 度であり、有意に good 群のほうに頸椎前弯が保たれていたと報告した。

われわれの結果からも、PDF 群は LMP 群よりも有意に改善した結果が得られた。K-line(-)という severe な状況下において、脊髓への圧迫が残存しているにもかかわらず、椎間可動性を制御しうること、脊髓への障害を減少させ症状が改善したものと思われる。

また、われわれが頸椎 alignment の矯正を行わなかった理由の一つとして、術後の椎間孔狭窄による神経根障害の発生の危険性が挙げられる。Chen ら¹⁾は、頸椎後方除圧固定術を施行した83症例中、術後合併症としてC5麻痺が7例、C6麻痺が2例、C7麻痺が1例に認めたと報告し、神経根麻痺症例は頸椎前弯が非発症例と比べて有意に大きく矯正されていたと述べている。われわれは、無症候例の研究結果からあえて頸椎 alignment の矯正は必要なく動的因子の制御が重要と考えてい

るため施行していない。

まとめ

頸椎 OPLL の K-line(-)症例において、前方法がなんらかの理由で選択できない場合は後方除圧術に instrumentation を用いた後方固定術を併用することで、術後臨床成績は後方除圧術単独よりも明らかに良い成績が得られていた。よって、頸椎 OPLL における頸椎後方除圧固定術は、今後、有効な手術の選択肢の一つとなりうると考えられる。

文献

- 1) Chen Y, Guo Y, Chen D et al: Long-term outcome of laminectomy and instrumented fusion for cervical ossification of the posterior longitudinal ligament. *Int Orthop* 33: 1075-1080, 2008
- 2) Cheng W, Chang C, Lui T et al: Surgical treatment for ossification of the posterior longitudinal ligament of the cervical spine. *Surg Neurol* 41: 90-97, 1994
- 3) Fujiyoshi T, Yamazaki M, Konishi H et al: A new concept for making decisions regarding the surgical approach for cervical ossification of the posterior longitudinal ligament: the K-line. *Spine* 33: E990-E993, 2008
- 4) Fujiyoshi T, Yamazaki M, Okawa A et al: Static versus dynamic factors for development of myelopathy in patients with cervical ossification of the posterior longitudinal ligament. *J Clin Neurosci* 17: 320-324, 2010
- 5) Goto S, Kita T: Long-term follow-up evaluation of surgery for ossification of the posterior longitudinal ligament. *Spine* 20: 2247-2256, 1995
- 6) Masaki Y, Yamazaki M, Okawa A et al: 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* 20: 7-13, 2007
- 7) Matsunaga S, Kukita M, Hayashi K et al: Pathogenesis of myelopathy in patients with ossification of the posterior longitudinal ligament. *J Neurosurg* 96: 168-172, 2002

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

Anterior Pedicle Screw Fixation for Multilevel Cervical Corpectomy and Fusion : Its Process of Bony Union and Surgery-Related Complication

新 初 正 明^{*1} 政 木 豊^{*1} 大 河 昭 彦^{*2} 山 崎 正 志^{*2}

Masaaki Aramomi^{*1}, Yutaka Masaki^{*1}, Akihiko Okawa^{*2}, Masashi Yamazaki^{*2}

要 旨

前方椎弓根スクリュー(以下 APS)を用いた頸椎前方除圧固定術(以下 ASF)の臨床成績、特に骨癒合過程と合併症について検討した。対象は APS を用いて 3 椎間以上の ASF を施行した 26 例である。術後 1 年以上経過した症例の JOA score は術前平均 9.4 点から 13.9 点に改善し、術後 2 年以上経過した症例の骨癒合率は 91.7% と良好であった。合併症として髄液漏、術後感染、C5 麻痺、喀痰による気道閉塞、隣接椎間障害による C8 神経根症、軸性疼痛を各 1 例ずつ、軽度の採骨部障害を 4 例に認めたが、そのほとんどが治癒もしくは回復可能であった。術中椎骨動脈や神経の損傷はなく、移植骨やスクリューの脱転は認めなかった。APS は 71 本中 69 本(97.2%)が完全に椎弓根内に刺入されており、スクリュー露出と逸脱はそれぞれ各 1 本(1.4%)ずつであった。

APS に固有な合併症は発生しておらず、骨癒合も良好であった。APS は多椎間 ASF における移植骨脱転予防にきわめて有用である。

Abstract

[Introduction] Anterior pedicle screw (APS) fixation is a novel technique for multilevel cervical corpectomy and fusion. In the present study, we analyzed its surgical outcome.

[Methods] A total of 26 patients who underwent APS were analyzed. All cases were suffered from cervical myelopathy. Corpectomy of 2 vertebrae was performed in 9 cases, 3 vertebrae in 15 cases, and 4 vertebrae in 2 cases.

[Results] All patients improved neurologically. Spinal fusion was acquired in 11 out of 12 patients who were followed more than 2 year after operation. There was an intraoperative complication : 1 case of cerebrospinal fluid leakage. There were 9 postoperative complications : 1 case of deep wound infection, 1 case of C5 palsy, 1 case of airway occlusion by sputa, 1 case of radiculopathy caused from adjacent disc herniation at C7/T1, 1 case of axial pain, and 4 cases of donor site pain. No vertebral artery injury or graft dislodgement occurred. Sixty-nine screws(97.2%) of a total of 71 APS were placed precisely in the pedicles, whereas 1 APS(1.4%) was determined as screw-exposure type and another APS(1.4%) pedicle-perforation type.

[Conclusions] The present study has shown that APS fixation can provide rigid constructs safely. With APS method, we believe that the problem of graft dislodgement is considerably resolved.

Key words : 椎弓根スクリュー (pedicle screw), 前方手術 (anterior surgery), 椎体切除 (corpectomy)

^{*1} 国保成東病院整形外科 (〒289-1326 山武市成東167) Department of Orthopaedic Surgery, Kokuho Naruto Hospital

^{*2} 千葉大学大学院医学研究院整形外科

緒言

頸椎前方除圧固定術は前方圧迫要素を直接除圧できる優れた術式であるが、3椎間以上の多椎間手術では移植骨脱転をはじめとする合併症の危険が増す^{4,12,13)}。われわれは多椎間頸椎前方除圧固定術(以下ASF)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、基礎研究および臨床応用を行ってきた^{1,2,3)}。今回は、臨床成績、特にその骨癒合過程と合併症について検討した。

APSの手術手技

患者は仰臥位とし、メイフィールド頭蓋固定器を使用して後頭部まで消毒を行う。頭側からX線透視装置を入れる準備をし、左側 collar incision でアプローチする。頸椎を展開の後、予定した椎体切除を施行。斜位透視下に椎弓根の位置を確認し、そこをガイドワイヤーの刺入点とする。次に側面透視下に開削した椎体の内側壁から、両端を鋭にしたガイドワイヤーを椎弓根へ刺入する。さらに深くガイドワイヤーを刺入して後頭部を貫通し、椎弓根内にガイドワイヤーが隠れるまで後方に引き出ししておく。移植骨として採取・採型した腓骨を母床にはめ込み、逆行性にガイドワイヤーで移植骨を貫通する。ドリリングおよびタッピングの後、前方から4.0mm径の cannulated screw を刺入して移植骨を固定する。同様の操作を各椎体切除レベルについて行う^{1,2)}。術後はフィラデルフィアカラー6週、その後、ソフトカラー2週の

外固定を施行した。

対象および方法

対象は当科にてAPSを用いてASFを施行した26例である。男性20例、女性6例。手術時年齢は平均56.5歳(40~71歳)であった。経過観察期間は平均31ヵ月(1~52ヵ月)である。疾患は頸椎OPLL 12例、脊柱管狭窄を伴う頸椎椎間板ヘルニア5例、頸椎症性脊髄症3例、多椎間ヘルニア3例、頸椎症性筋萎縮症2例、巨大頸椎椎間板ヘルニア1例であり、固定範囲は3椎間9例(C3-6:1例, C4-7:7例, C5-T1:1例)、4椎間15例(全例C3-7)、5椎間2例(C2-7:1例, C3-T1:1例)であった。刺入したAPSは合計71本であった。

これらの症例の手術成績、術後CTによるスクリュー刺入角度と逸脱の有無、骨癒合過程、術中・術後合併症について検討した。

結果

手術時間は平均356分(258~482分)、出血量は平均844ml/(50~3,500ml)であった。術後1年以上(12~52ヵ月:平均31ヵ月)経過した17例のJOA scoreは術前平均9.4点だが、術後最終経過観察時には平均13.9点に改善し、改善率は平均63.6%であった。

術後CTによるスクリュー逸脱の評価では、完全に椎弓根内に刺入されている correct placementは69本、97.2%、スクリュー径の50%以下の露出を認める screw exposureは1本、1.4%、スクリュー

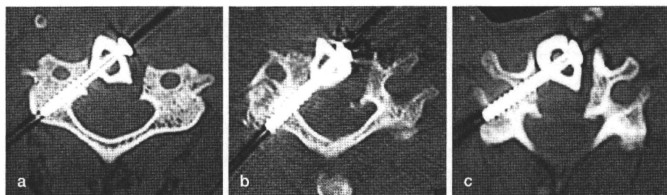


図1 術後CTによるAPS逸脱の評価

a: correct placement(69/71本, 97.2%), b: screw exposure(1/71本, 1.4%), c: pedicle perforation(1/71本, 1.4%)

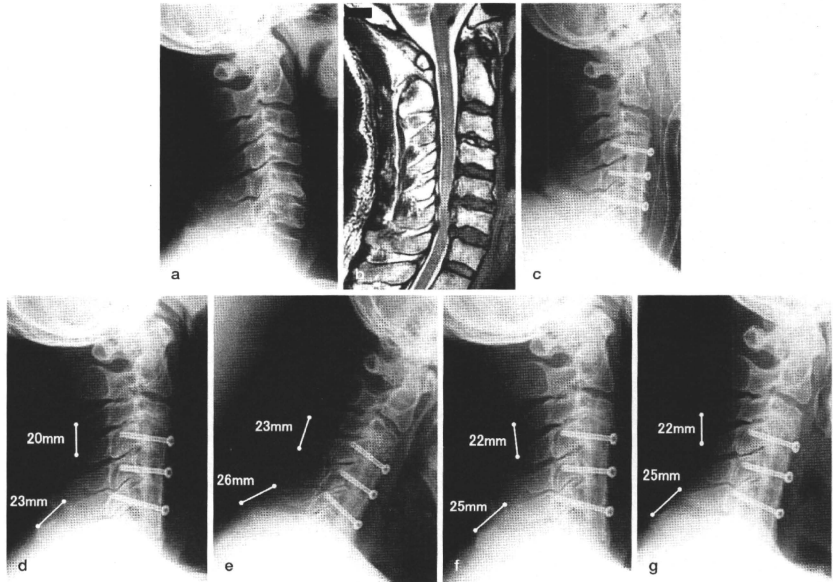


図2 頸椎 OPLL 症例に対する APS を用いた ASF

a : 術前単純 X 線側面像。 d, e : 術後 6 ヶ月 X 線前後屈像。
 b : 術前 T2 強調 MRI 正中矢状断像。 f, g : 術後 11 ヶ月 X 線前後屈像。
 c : 術直後単純 X 線側面像。

術後 6 ヶ月の時点では、移植骨の位置は良好に保たれているものの、固定椎間に可動性を有し、骨癒合は得られていない。術後 11 ヶ月では、固定椎間可動性が消失し、良好な骨癒合が得られている。

径の 50% 以上の逸脱である pedicle perforation は 1 本、1.4% であった(図 1)。全スクリューとも矢状面から 50 度を目標に刺入し、実際の刺入角度は 49.8 ± 4.9 (Mean \pm SD) 度であった。

骨癒合過程は、頸椎側面 X 線前後屈像での棘突起先端間距離の可動性が 1 mm 未満を骨癒合と判断した。術後 2 年以上経過した 12 例中、11 例が平均 13.5 ヶ月 (9 ~ 24 ヶ月) で骨癒合していた。骨癒合率は 91.7% であった。固定頭側端は平均 8.6 ヶ月 (3 ~ 24 ヶ月) と比較的早期に骨癒合しており、移植骨と母床との骨癒合はその尾側端で遷延する傾向を認めた。

合併症としては髄液漏、術後感染、C5 麻痺、喀痰による気道閉塞、隣接椎間障害による C8 神経根症、軸性疼痛をそれぞれ 1 例ずつ、軽度の採骨

部障害を 4 例に認めた。髄液漏は保存的に治療、術後感染では洗浄ドレナージにてスクリューを抜去せずに治療、C5 麻痺は経過観察中に短期間で完全回復、喀痰による気道閉塞では再挿管により回復した。C8 神経根症は保存治療で治療した。術中神経血管損傷はなく、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。

症例提示

患者 : 61 歳、男性

頸椎 OPLL 症例であり、術前 JOA score は 12.5 点であった。C4-6 に OPLL を認め、C3-7 ASF を施行した(図 2 a~c)。

術後 6 ヶ月時、移植骨の位置は良好に保たれて