

Nakamura M, Toyama Y, Chiba K. Risk factors for development of subaxial subluxations following atlantoaxial arthrodesis for atlantoaxial subluxations in rheumatoid arthritis. *Spine (Phila Pa 1976)*. 35(16):1551-1555. 2010

Tajima K, Takaishi H, Takito J, Tohmonda T, Yoda M, Ota N, Kosaki N, Matsumoto M, Ikegami H, Nakamura T, Kimura T, Okada Y, Horiuchi K, Chiba K, Toyama Y. Inhibition of STAT1 accelerates bone fracture healing.

*J Orthop Res*. 28(7):937-941. 2010

## 2. 学会発表

辻崇, 渡辺航太, 細金直文, 石井賢, 中村雅也, 千葉一裕, et al., editors. 腰椎変性すべり症に対する固定術後の隣接椎間病変の発生に影響を及ぼす因子の検討. 第19回日本脊椎インストゥルメンテーション学会; 2010 10月28日~29日; 札幌.

松本守雄, 渡辺航太, 細金直文, 辻崇, 石井賢, 中村雅也, et al., editors. 脊椎全摘術後の遅発性instrumentation failure. 第19回日本脊椎インストゥルメンテーション学会; 2010 10月28日~29日; 札幌.

細金直文, 渡辺航太, 辻崇, 石井賢, 中村雅也, 戸山芳昭, et al., editors. 頸椎腫瘍に対する椎弓根スクリー法の治療成績. 第19回日本脊椎インストゥルメンテーション学会; 2010 10月28日~29日; 札幌.

渡辺航太, 名倉武雄, 桐山善守, 細金直文, 戸山芳昭, 千葉一裕, et al., editors. Sagittal Imbalance例の3次元歩行解析に

よる手術効果判定. 第44回日本側彎症学会; 2010 10月27日~28日; 札幌.

渡辺航太, 細金直文, 戸山芳昭, 千葉一裕, 松本守雄, editors. 側弯症後方矯正固定術中の椎体動態のモニタリング. 第44回日本側彎症学会; 2010 10月27日~28日; 札幌.

渡辺航太, 細金直文, 戸山芳昭, 千葉一裕, 松本守雄, editors. 思春期特発性側弯症における後方矯正固定術による胸郭矯正について. 第44回日本側彎症学会; 2010 10月27日~28日; 札幌.

川端走野, 細金直文, 石井賢, 中村雅也, 戸山芳昭, 千葉一裕, et al., editors. 神経線維腫症に伴う重度頸椎後弯変形に対して矯正固定術を施行した4例. 第44回日本側彎症学会; 2010 10月27日~28日; 札幌.

松本守雄, 細金直文, 千葉一裕, 戸山芳昭, 渡辺航太, editors. Lenke type 1 胸椎カーブに対する近位固定範囲短縮の試み. 第44回日本側彎症学会; 2010 10月27日~28日; 札幌.

松本守雄, 細金直文, 千葉一裕, 戸山芳昭, 渡辺航太, editors. 重度脊柱後側弯症に対するposterior vertebral column resectionによる矯正手術. 第44回日本側彎症学会; 2010 10月27日~28日; 札幌.

小倉洋二, 渡辺航太, 細金直文, 戸山芳昭, 千葉一裕, 松本守雄, editors. 術後胸腔内出血を呈した特発性脊柱側弯症の1例. 第44回日本側彎症学会; 2010 10月27日~28日; 札幌.

細金直文, 戸山芳昭, 千葉一裕, 松本守雄, 渡辺航太, 河野仁, et al., editors. 腰椎変性後側弯症の治療成績(矢状面アライメントに着目して). 第44回日本側彎症学会;

2010 10月27日～28日；札幌。

細金直文，戸山芳昭，千葉一裕，松本守雄，河野仁，斎藤正史，editors. 腰椎変性側弯症に対する除圧術後の側弯変形進行に関する検討. 第44回日本側弯症学会；2010 10月27日～28日；札幌。

吉岡研之，細金直文，戸山芳昭，千葉一裕，松本守雄，渡辺航太，editors. 術後に重篤な呼吸器合併症を発症した

Russell-Silver症候群に合併した側弯症の一例. 第44回日本側弯症学会；2010 10月27日～28日；札幌。

塩野雄太，細金直文，戸山芳昭，千葉一裕，松本守雄，渡辺航太，editors. 側弯症患者の術中細菌培養検査による術野の清潔度の評価. 第44回日本側弯症学会；2010 10月27日～28日；札幌。

Cui G，細金直文，戸山芳昭，千葉一裕，松本守雄，渡辺航太，editors. 特発性側弯症におけるフリーハンドテクニックを用いた胸椎椎弓根スクリュー設置のための胸椎の放射線学的検討. 第44回日本側弯症学会；2010 10月27日～28日；札幌。

尾崎正大，中村雅也，石井賢，戸山芳昭，千葉一裕，松本守雄，editors. 上位頸髄砂時計型髄膜腫の1例. 第45回日本脊髄障害医学会；2010 10月21日～22日；長野県。

藤吉兼浩，中村雅也，辻収彦，戸山芳昭，千葉一裕，松本守雄，editors. 腰仙椎部脊髄脂肪腫の手術成績. 第45回日本脊髄障害医学会；2010 10月21日～22日；長野県。

辻収彦，中村雅也，藤吉兼浩，戸山芳昭，千葉一裕，松本守雄，editors. 脊髄血管芽細胞腫の臨床像と手術成績. 第45回日本脊髄障害医学会；2010 10月21日～22日；長野県。

中村雅也，石井賢，戸山芳昭，千葉一裕，松本守雄，editors. 脊髄星細胞腫の手術成績. 第45回日本脊髄障害医学会；2010 10月21日～22日；長野県。

渡辺航太，細金直文，辻崇，石井賢，中村雅也，千葉一裕，et al.，editors. 成人特発性側弯症の手術治療成績（30歳以上例）. 第59回東日本整形災害外科学会；2010 9月17日～18日；盛岡。

渡辺航太，細金直文，辻崇，石井賢，中村雅也，千葉一裕，et al.，editors. 腰椎変性すべり症に対する棘突起縦割式椎弓切除術の治療成績. 第59回東日本整形災害外科学会；2010 9月17日～18日；盛岡。

船尾陽生，石井賢，金子康仁，百島祐貴，大谷宗親，渡辺航太，et al.，editors. 最小侵襲脊椎固定術（MIS-TLIF）における医療従事者の放射線被曝量の検討. 第17回日本脊椎・脊髄神経手術手技学会；2010 9月17日～18日；横浜。

細金直文，河野仁，斎藤正史，千葉一裕，戸山芳昭，松本守雄，editors. 腰椎変性側弯症に対する除圧術後の側弯変形進行に関する検討. 第59回東日本整形災害外科学会；2010 9月17日～18日；盛岡。

渡辺航太，松本守雄，辻崇，石井賢，中村雅也，戸山芳昭，et al.，editors. 脊柱側弯症に対する椎弓根スクリューを使用した後方矯正固定術のラーニングカーブについて. 第83回日本整形外科学会学術総会；2010 5月27日 - 30日；東京。

中村雅也，石井賢，渡辺航太，辻崇，松本守雄，戸山芳昭，et al.，editors. 頸髄砂時計型神経鞘腫の長期手術成績. 第83回日本整形外科学会学術総会；2010 5月27日 - 30日；東京。

石井賢, 松本守雄, 渡辺航太, 辻崇, 中村雅也, 戸山芳昭, et al., editors. 関節リウマチの環軸関節後方固定術後における新たな頸椎病変発生の危険因子. 第83回日本整形外科学会学術総会; 2010 5月27日 - 30日; 東京.

森岡秀夫, 中山ロバート, 高石官成, 西本和正, 保坂聖一, 松本守雄, et al., editors. 甲状腺癌骨転移に対する外科的治療. 第83回日本整形外科学会学術総会; 2010 5月27日 - 30日; 東京.

松本守雄, 辻崇, 高石官成, 千葉一裕, 戸山芳昭, editors. 上位胸椎後縦靭帯骨化症の集手術成績と問題点 - 多施設調査および自験例の結果より -. 第83回日本整形外科学会学術総会; 2010 5月27日 - 30日; 東京.

松本守雄, 岡田英次朗, 市原大輔, 千葉一裕, 戸山芳昭, 藤原広和, et al., editors. 頸椎前方固定術後の隣接椎間変性 - 健常者との比較検討 -. 第83回日本整形外科学会学術総会; 2010 5月27日 - 30日; 東京.

奥山訓子, 森岡秀夫, 松本守雄, 千葉一裕, 戸山芳昭, editors. 整形外科診察法習得における、動画教材を収載した携帯デジタルプレイヤーの有用性. 第83回日本整形外科学会学術総会; 2010 5月27日 - 30日; 東京.

渡辺航太, 松本守雄, 辻崇, 石井賢, 中村雅也, 戸山芳昭, et al., editors. 腰部脊柱管狭窄症に対する腰椎棘突起縦割式椎弓切除術の治療成績 (術後2年). 第83回日本整形外科学会学術総会; 2010 5月27日-30日; 東京.

石井賢, 松本守雄, 金子康仁, 渡辺航太, 辻崇, 中村雅也, et al., editors. 低侵襲

脊椎後方固定術における傍脊椎起立筋侵襲と術後腰痛の検討. 第83回日本整形外科学会学術総会; 2010 5月27日-30日; 東京.

藤吉兼浩, 疋島啓吾, 辻収彦, 山田雅之, 渡辺航太, 辻崇, et al., editors. QSIを用いた霊長類脊髄損傷における髄鞘可視化法の開発. 第39回日本脊椎脊髄病学会; 2010 4月22日-24日; 高知市.

藤吉兼浩, 疋島啓吾, 辻収彦, 山田雅之, 渡辺航太, 辻崇, et al., editors. QSIによる髄鞘可視化法" Myelin map" の脱髄動物モデルを用いた検証. 第39回日本脊椎脊髄病学会; 2010 4月22日-24日; 高知市.

渡辺航太, 松本守雄, 辻崇, 石井賢, 高石官成, 中村雅也, et al., editors. 安全な胸椎椎弓根スクリュー設置法 (ball tip法) の有効性の検証. 第39回日本脊椎脊髄病学会; 2010 4月22日-24日; 高知市.

渡辺航太, 松本守雄, 辻崇, 石井賢, 高石官成, 中村雅也, et al., editors. 上位頸椎原発腫瘍に対する下顎縦割アプローチを用いた前後合併手術の治療成績. 第39回日本脊椎脊髄病学会; 2010 4月22日-24日; 高知市.

渡辺航太, 松本守雄, 辻崇, 石井賢, 高石官成, 中村雅也, et al., editors. 高齢者腰部脊柱管狭窄症に対する棘突起縦割式椎弓切除術の治療成績. 第39回日本脊椎脊髄病学会; 2010 4月22日-24日; 高知市.

渡辺航太, 松本守雄, 船尾陽生, 辻崇, 石井賢, 高石官成, et al., editors. 脊柱側弯症に対する変形矯正と胸椎前弯化の関係について - 三次元側弯症モデルと術中レントゲン所見を用いた検討 -. 第39回日本脊椎脊髄病学会; 2010 4月22日-24日; 高知市.

辻収彦, 岡野James洋尚, 神吉浩明, 原央子, 藤吉兼浩, 安田明正, et al., editors. 神経因性疼痛のライブイメージング [第1報]. 第39回日本脊椎脊髄病学会; 2010 4月22日-24日; 高知市.

中村雅也, 辻収彦, 藤吉兼浩, 渡辺航太, 辻崇, 石井賢, et al., editors. 脊髄内腫瘍術後の脊髄障害性疼痛の評価 (第1報). 第39回日本脊椎脊髄病学会; 2010 4月22日-24日; 高知市.

船尾陽生, 中村雅也, 渡辺航太, 辻崇, 石井賢, 松本守雄, et al., editors. 胸腰椎部に発生した硬膜外くも膜嚢腫の12例～その臨床像と手術成績～. 第39回日本脊椎脊髄病学会; 2010 4月22日-24日; 高知市.

千葉一裕, 中村雅也, 戸山芳昭, 松本守雄, editors. 術後硬膜外血腫・髄液漏 -予防と対策-. 第39回日本脊椎脊髄病学会; 2010 4月22日-24日; 高知市.

千葉一裕, 三尾太, 廣瀬裕一郎, 松本守雄, 川口善治, 三上靖夫, et al., editors. 一塩基多型を用いた大規模相関解析による腰椎椎間板ヘルニアの原因遺伝子解析. 第39回日本脊椎脊髄病学会; 2010 4月22日-24日; 高知市.

石井賢, 渡辺航太, 辻崇, 中村雅也, 戸山芳昭, 千葉一裕, et al., editors. 陳旧性環軸関節回旋位固定における軸椎椎間関節変形のリモデリングを指標とした保存的固定術の短・中期治療成績. 第39回日本脊椎脊髄病学会; 2010 4月22日-24日; 高知市.

石井賢, 金子康仁, 船尾陽生, 渡辺航太, 辻崇, 高石官成, et al., editors. 高齢者腰部脊柱管狭窄症に対するMIS-TLIFの有用性 -従来法との比較-. 第39回日本脊椎脊髄病学会; 2010 4月22日-24日; 高知市.

松本守雄, 渡辺航太, 辻崇, 石井賢, 高石官成, 中村雅也, et al., editors. 高度脊柱変形に対するposterior vertebral column resectionの手術成績. 第39回日本脊椎脊髄病学会; 2010 4月22日-24日; 高知市.

松本守雄, 石井賢, 渡辺航太, 辻崇, 高石官成, 中村雅也, et al., editors. 高齢者腰仙椎部椎間孔外狭窄症に対する除圧術の治療成績と問題点. 第39回日本脊椎脊髄病学会; 2010 4月22日-24日; 高知市.

松本守雄, 岡田英次郎, 市原大輔, 渡辺航太, 千葉一裕, 戸山芳昭, et al., editors. 頸椎前方固定術は隣接椎間変性を加速させる. 第39回日本脊椎脊髄病学会; 2010 4月22日-24日; 高知市.

許斐恒彦, 渡辺航太, 辻崇, 高石官成, 中村雅也, 松本守雄, et al., editors. 術後傍脊柱筋筋委縮と腰痛 -腰椎変性所見のない馬尾腫瘍手術例での検討-. 第39回日本脊椎脊髄病学会; 2010 4月22日-24日; 高知市.

塩野雄太, 渡辺航太, 辻崇, 石井賢, 高石官成, 中村雅也, et al., editors. 側弯症患者の術中細菌培養検査による術野の清潔度の評価. 第39回日本脊椎脊髄病学会; 2010 4月22日-24日; 高知市.

崔冠宇, 渡辺航太, 辻崇, 石井賢, 中村雅也, 戸山芳昭, et al., editors. Lower leg pain caused by lumbar spondylolisthesis associated with butterfly vertebra -A case report-. 第50回関東整形災害外科学会 The Kanto Society of Orthopedics and Traumatology; 2010 3月19日-20日; 東京都.

石井賢，金子康仁，船尾陽生，渡辺航太，辻崇，中村雅也，et al.，editors. 低侵襲腰椎後方固定術（MIS-TLIFT）における傍脊柱起立筋侵襲と術後腰痛の検討 -従来法との比較-. 第50回関東整形災害外科学会；2010 3月19日-20日；東京都.

栄利昌，石井賢，渡辺航太，辻崇，中村雅也，戸山芳昭，et al.，editors. 軸椎脊索腫治療後の後弯変形に対し後方矯正固定術を施行した一例. 第50回関東整形災害外科学会；2010 3月19日-20日；東京都.

内田勲，松本守雄，渡辺航太，辻崇，石井賢，中村雅也，et al.，editors. 軸椎に発生した骨巨細胞腫の1例. 第11回圧迫性脊髄症研究会；2010 1月23日；東京都.

辻崇，千葉一裕. 画像診断の進め方. 腰痛クリニカルプラクティス. 東京：株式会社 中山書店；2010. p. 38-54.

船尾陽生，石井賢，永井重徳，佐々木あや，相澤守，岡田保典，et al.，editors. 定量的慢性骨髄炎モデルの確立 ～新しい抗菌性生体材料の開発を目指して～ 第14回骨軟部吸収性材料フォーラム；2009 12月12日；愛知県名古屋市.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

特になし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

慢性脊髄圧迫モデル(twy/twy)における microglia/macrophage の動態

中嶋秀明 内田研造 平井貴之 彌山峰史 Alexander Guerrero 渡邊修司 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  
研究分担者 内田 研造 福井大学整形外科准教授

研究要旨

慢性圧迫脊髄における microglia/macrophage の動態およびその役割に注目し、慢性圧迫脊髄モデル (twy/twy) を用いて免疫組織化学的検討を行った。脊髄残余面積が 50%以下となった twy マウス高度圧迫部脊髄では、灰白質および白質に圧迫部およびその近傍部に OX-42 陽性細胞の増殖を認め、特に圧迫対側である前索での発現が高度となった。また、炎症性サイトカインおよび神経栄養因子の発現上昇が確認された。M1 (neurotoxic) および M2 (regenerative) type macrophage は圧迫が高度になるに伴い発現がいずれも上昇していたが、M2 type の増加が M1 type よりも有意であった。慢性圧迫脊髄における神経細胞の生存・維持に、macrophage の subtype の変化が関与している可能性があると考えられた。

A. 研究目的

脊髄が慢性的な圧迫を受けた場合、圧迫高位の脊髄では、灰白質での神経細胞の脱落、白質全域の著しい脱髄と海綿状変性が観察される。しかし、慢性圧迫脊髄には急性脊髄損傷とは大きく異なり、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が存在することが推測される。我々は twy マウスを用いた慢性圧迫脊髄の病態に関する研究を行ってきた。脊髄前角細胞の動態をみた研究では、神経細胞は圧迫部では減少するものの、圧迫部から、特にその頭側・内側に migrate し、細胞体面積や樹状突起長の増加といった形態的变化がみられた。これらの対応は慢性圧迫状態における前角細胞の plasticity (可塑性) あるいは生存維持のための代償性変化を示唆するものと思われる。また、この形態学的可塑性と関連し、

脊髄圧迫部近傍部においては、BDNF や NT-3 といった神経栄養因子の発現上昇がみられることを報告しており、これらは神経細胞の生存・維持に寄与しているものと考えられます。

一方、急性脊髄損傷では、近年特に macrophage/microglia の動態や役割が注目されており、これらは炎症反応惹起による組織障害性をもつ一方で、血管新生や組織修復、glial scar の resolution などの組織再生にも関与していることが報告されている。このことから本研究では、慢性脊髄圧迫における macrophage/microglia の動態とその役割について免疫組織化学的に検討することを目的とした。

B. 研究方法

animal model には、後環軸膜に経時的に石灰沈着が生じる脊髄慢性圧迫モデルである

twy マウスを用いた。本研究では、圧迫の指標として最大圧迫部脊髄残余面積が50%から70%を中等度圧迫群、残余面積が50%以下を高度圧迫群とし、圧迫の程度に応じた変化を観察した。

評価項目は、① macrophage/microglia に対する一次抗体として OX-42 を用い、圧迫程度に応じた OX42 陽性細胞の脊髄内での分布について検討、② 最大圧迫部における TNF- $\alpha$ , IL-6 の炎症性サイトカインと、NGF, NT-3, BDNF の神経栄養因子の発現の変化について検討、③ cytotoxic に作用する macrophage (M1 type: 一次抗体に iNOS を使用) と、neurotrophic に作用する macrophage (M2 type: 一次抗体に arginase-1 を使用) の発現の変化を観察した。

(倫理面での配慮)

実験動物に対する処置などの際の取り扱い方法、除痛処置については、学内の委員会に了承済みである。

### C. 研究結果

OX42 陽性細胞は、中等度圧迫群では最大圧迫部の圧迫周辺に発現がみられ、高度圧迫群では頭尾側方向に拡がり、特に圧迫対側である前索での発現が高度となった (図1)。

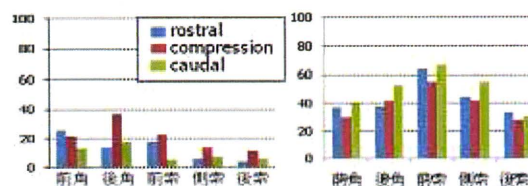
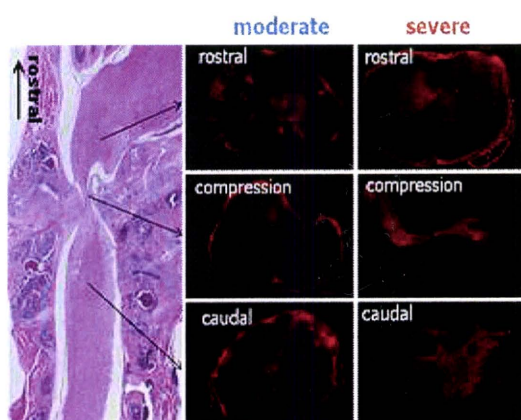


図1 OX-42 陽性細胞の脊髄内分布

(左：中等度圧迫群、右：高度圧迫群)

炎症性サイトカインと神経栄養因子の発現は、中等度圧迫群では TNF- $\alpha$ , IL-6 といった炎症性サイトカインの発現は極めて少なく、NGF, NT-3, BDNF といった少数の神経栄養因子の発現がみられた。圧迫が高度になると、これらの炎症性サイトカインおよび神経栄養因子の発現はともに上昇した (図2)。

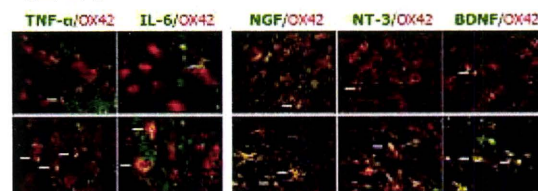
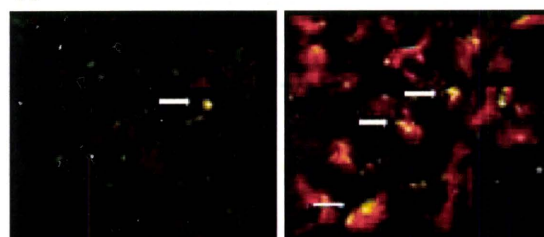


図2 炎症性サイトカインおよび神経栄養因子発現の変化

(上：中等度圧迫群、下：高度圧迫群)

macrophage の役割別にその発現を調べると、M1 type macrophage (一次抗体に iNOS) および M2 type macrophage (一次抗体に arginase-1) の発現は、いずれも中等度圧迫群ではわずかにみられ、高度圧迫群でその発現は上昇していたが、M2 type の増加が M1 type よりも有意であった (図3)。



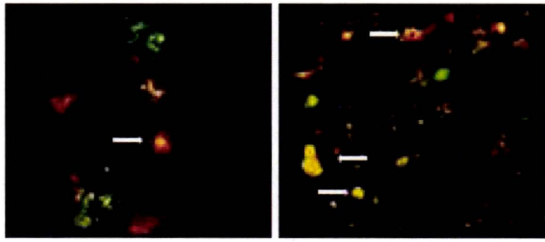


図3 M1 および M2 type macrophage 発現の変化 (上 : M1 type; iNOS, 下 : M2 type; arginase-1, 左 : 中等度圧迫群、右 : 高度圧迫群)

#### D. 考察

急性脊髄損傷においては、損傷後 1-3 日目の急性期において M1 および M2 type macrophage の発現は上昇し、損傷後 1 週以降では特に neurotoxic に働く M1 macrophage の発現が有意な状態になることが報告されている。一方、今回の慢性圧迫脊髄の結果では、脊髄残余面積が 50%以下となった高度圧迫群においても組織修復に働く M2 macrophage の発現が維持されており、この macrophage の動態が神経細胞の生存・維持に関与している可能性が考えられた(図4)。

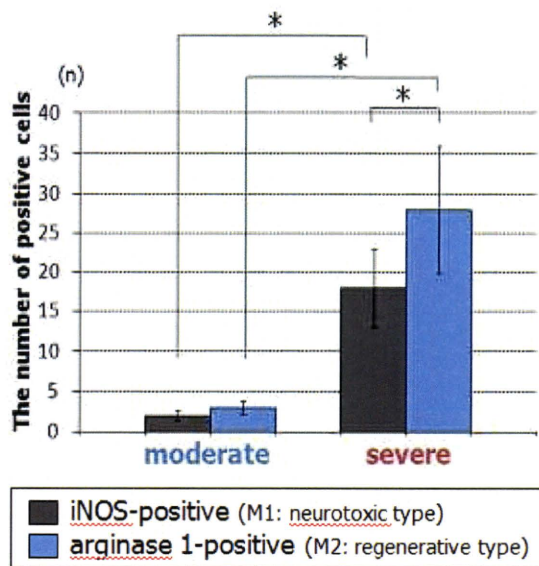


図4 iNOS および arginase-1 陽性細胞数の変化

我々のこれまでの研究において、脊髄が慢性的に圧迫を受けると灰白質および白質での TUNEL 陽性細胞がみられ、これには TNF- $\alpha$  の発現が関与していることを報告している。しかし、今回の研究結果から、慢性圧迫脊髄では、活性化・遊走した macrophage や microglia が TNF- $\alpha$  などによって誘導されると考えられる M1 type macrophage の発現以上に、組織修復に関与すると考えられている M2 type macrophage の発現を維持することで、神経細胞の生存・維持に関与しているものと考えられた。

#### E. 結論

慢性圧迫脊髄では、圧迫程度が高度になるに従って、OX42 陽性細胞が圧迫から頭尾側方向に拡がり、組織修復に働く M2 type macrophage が、neurotoxic に働く M1 macrophage より有意に発現した。慢性圧迫脊髄における神経細胞の生存・維持に、macrophage の subtype の変化が関与している可能性が示唆された。

#### F. 研究発表

##### 論文発表

1. Chen KB, Uchida K, Nakajima H, Yayama T, Guerrero AR, Kobayashi S, Ma WY, Liu SY, Baba H. Tumor necrosis factor-alpha antagonist reduces apoptosis of neurons and oligodendroglia in rat spinal cord injury. Spine in press
2. Uchida K, Nakajima H, Hirai T, Yayama T, Chen KB, Kobayashi S, Roberts S, Johnson WE, Baba H. Microarray analysis of expression of cell death-associated



- genes in rat spinal cord cells exposed to cyclic tensile stresses in vitro. *BMC Neurosci* 11:84, 2010
3. Nakajima H, Uchida K, Yayama T, Kobayashi S, Guerrero AR, Furukawa S, Baba H. Targeted retrograde gene delivery of brain-derived neurotrophic factor suppresses apoptosis of neurons and oligodendroglia after spinal cord injury in rats. *Spine* 35:497-504, 2010
  4. 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
  5. Uchida K, Nakajima H, Takamura T, Furukawa S, Kobayashi S, Yayama T, Baba H. Gene expression profiles of neurotrophic factors in rat cultured spinal cord cells under cyclic tensile stress. *Spine* 33:2596-604, 2008
  6. 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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

脊柱靭帯骨化症に関する調査研究

研究分担者 江藤 智生（財）実験動物中央研究所 動物資源管理部 室長

研究要旨 （財）実験動物中央研究所で維持されている疾患モデルの TWY-ttw Jic マウスを、脊柱靭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、Osteopontin マウスとの掛合せと、背景遺伝子の変更をおこなった。また当該研究のために疾患モデル個体を供給すると共に一部は実験処置もおこなった。

A. 研究目的

脊柱靭帯骨化症に関する研究を推進する上で、（財）実験動物中央研究所（以下、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）は有用なツールとなる。そのため本年度は、以下の TWY-ttw を主軸においた研究を推進した。1. 新たな動物の作製：TWY-ttw と KO マウスの組合せと、TWY-ttw の背景遺伝子の変換。2. 実験に使用する動物の作製と動物実験。

これらをおこない、脊柱靭帯骨化症に関する研究に供するリソースの充実と動物実験から知見を得て、脊柱靭帯骨化症の克服に貢献することが本研究の目的である。

B. 研究方法

本年度の研究は、以下の方法で行われた。  
1-1) TWY-ttw と Osteopontin KO の組合せ。生殖工学技術を使用して、遺伝子型が ttw/ttw, KO/KO およびコントロールに使用するマウスの作製をおこなった。  
1-2) TWY-ttw の遺伝的背景の変換。他の系統の脊柱靭帯骨化症に関する実験データとの相関を取りやすくするため、TWY-ttw の遺伝的背景を C57BL/6 系統に置き換える検討を開始した。背景の置換は、ダイレクトクロスでおこなった。また ttw 遺伝子はへ

テロ型では Phenotype 発現しないので、PCR 法により各世代 Genotyping をおこなった。

2-1) 実験に使用する動物個体の作製。

TWY-ttw、TWY-c および C57BL/6-Osteopontin KO マウス個体の作製を、生殖工学技術を使用しておこなった。2-2) 高リン食投与実験。TWY-ttw および TWY-c マウスの 4 週齢より給餌を高リン食でおこない、Phenotype の発現を確認した。尚、これら研究は動物の作製を実験動物中央研究所 動物実験等に関する規定のもとにして、同所・動物実験委員会の指導を遵守しておこなわれた。また実中研ではヒトに関する実験材料は使用していない。

C. 研究結果

1-1) F1 作製は、ttw/ttw と KO/KO 使用した。次に得られた産子 (ttw/+, KO/+) 同士をもう一度掛合せて ttw/ttw, KO/KO (7 匹)、ttw/+, KO/KO (18 匹)、ttw/ttw, KO/+ (22 匹)、ttw/+, KO/+ (42 匹)、ttw/ttw, WT (12 匹)、WT, KO/KO (6 匹)、ttw/+, WT (14 匹)、WT, KO/+ (28 匹)、WT, WT (7 匹) の F2 産子を得ることができた。得られた F2 のうち

ttw/ttw, KO/KO、WT, KO/KO、ttw/ttw, WT、WT, WT は実験用に慶応大学に発送し、残り はリソースの保存のために、超低温保存胚の作製材料にした。1-2)まず TWY-ttw/ttw と C57BL/6 を体外受精～胚移植して N1 の ttw/+を作製した。N2 からは Genotyping により ttw/+を確認できた個体を使用して自然交配による継代をおこなった。現在 N4 世代の ttw/+を得ている。以降も継代を重ねて背景遺伝子を C57BL/6 に純化する予定である。2-1)TWY-ttw と TWY-c マウスは、超低温保存胚を使用して計画生産をおこなった。C57BL/6- Osteopontin KO マウスは、まず KO/+の超低温保存胚を加温して個体復元した。次に F1 の KO/+個体同士で体外受精をおこない、KO/KO 及びコントロールの F2 実験個体を作製した。何れの計画生産も個体供給まで順調に行われた。2-2)TWY-ttw ♂および TWY-c ♂マウスの 4 週齢より、放射線滅菌した高リン食かコントロール用の CL-2 (CLEA 社)を自由給餌で投与した。6 週以降に試験 1 区の動物が何れも衰弱する傾向が確認された。解析の詳細は慶応大学整形外科の報告を参照のこと。

#### D. 考察

TWY-ttw と Osteopontin KO の複合動物の作製は、ダブルヘテロ同士の組合せで全ての遺伝子型が出現した。またそれら遺伝子型の出現頻度は理論値とかけ離れることは無かったので、生殖工学技術を使用したダブルホモ個体の作製は、効率的かつ胎性致死を引き起こすことはないことが分かった。TWY マウスの遺伝的背景は染色体のマーカーの情報が作製されていないため、スピードコンジェニックによる背景遺伝子の置換

が出来ない。そのため、N10～N12 世代まで C57BL/6 系統と自然交配して継代をおこなう必要がある。現状までに 4 回のバッククロスが行われたことは、タイムスケジュール的に考えても順調だといえる。以降の世代では、近交化が進むことにより妊娠率産子数の低下が考えられるので、交配ペアの増加や体外受精～胚移植技術の導入も視野に入れている。また遺伝的背景が変わることにより Phenotype が変わることも考えられるので、8 世代以降にホモ化をおこない、Phenotype の検査をおこなう予定である。

#### E. 結論

ヒト疾患モデルマウスは、遺伝病の解析を行うツールとして有効である。本研究も標的とする遺伝子の解析を行うために新しい動物の作製・実験個体の計画生産・動物実験をセットにしておこなった。これらの研究により、脊柱靭帯骨化症の克服を推進するためのツールの充実がおこない、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

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。

## VI. ガイドライン

## 頰椎後縦靱帯骨化症診療ガイドライン改訂

研究分担者 岩崎幹季 大阪大学整形外科

**要旨** 頰椎後縦靱帯骨化症に関する知見を系統的文献吟味(systematic review)の手法を用いて整理し、診療ガイドラインの改訂作業を行った。改訂に向けての一次選択の結果、和文論文 627 篇と英文論文 329 篇を得て、そのうち和文論文 173 篇と英文論文 103 篇の計 276 篇を査読し、最終的には 200 篇に対して構造化抄録を作成した。クリニカルクエスチョンは初版のものを原則利用して改訂文を作成し、エビデンスレベルおよび推奨グレードなどの再確認を行った。

### A. 目的

頰椎後縦靱帯骨化症診療ガイドラインの改訂を行うこと。

### B. ガイドライン改訂委員

頰椎後縦靱帯骨化症診療ガイドライン改訂委員会は岩崎幹季（大阪大学）を委員長とし、委員として内田研造（福井大学）、加藤真介（徳島大学）、川口善治（富山大学）、根尾昌志（京都大学）、松永俊二（今給黎総合病院）、松山幸弘（浜松医科大学）、村上英樹（金沢大学）を選定した（敬称、役職略）。また、関庄二、竹本充、中嶋秀明、中野正人、藤林俊介、安田剛敏、宮崎剛、彌山峰史に査読の協力をお願いした（敬称、役職略）。

### B. 方法

医学中央雑誌（採録年 2003-2009 年）、MEDLINE（出版年 2002-2009 年）、Cochrane（全年代）を対象データベースとして、選定されたキーワードをもとに文献を網羅的に検索した（検索担当者：大阪大学生命科学図書館の諏訪敏幸氏）。2009 年までの文献検索で収集した文献の一次選択の結果、

和文論文 627 篇と英文論文 329 篇を得た。

そのうち和文論文 173 篇と英文論文 103 篇の計 276 篇を査読し、さらにその経過にて追加した英文論文 6 篇を加え、各文献に批判的吟味を行い最終的には 200 篇に対して構造化抄録を作成した。クリニカルクエスチョンは初版のものを原則利用して改訂文を作成し、本委員会で承認されたエビデンスレベル（表 1）および推奨グレード（表 2）をもとに修正作業を行った。

改訂文を作成した後、日本整形外科学会理事・監事・代議員、日本脊椎脊髄病学会指導医にパブリックコメントを募集した結果、若干の修正を加えて最終案を出版社（南江堂）に入稿した。

### C. 頰椎後縦靱帯骨化症診断基準

本疾患の診断は、典型的な場合、すなわち頰椎側面単純 X 線検査で頰椎後縦靱帯骨化が明白に視認でき、かつ頰髄圧迫症状を示すとき、容易である。しかし、X 線コンピュータ断層検査(以下 CT)で初めて見ることができる程度の大きさの頰椎後縦靱帯骨化である場合、あるいは明白な臨床症状が生じていない段階で、これを「頰椎後縦

「靱帯骨化症」と診断するか否かについてはいまだ確たる合意が得られていない。加えて、本症発見の初期には脊髄障害に由来する重篤な神経症状が重視されたが、強直による脊柱運動障害やこれに起因する痛みもまた重度の障害をもたらしている。したがって、本委員会全員の了承のもとに頸椎後縦靱帯骨化症の診断基準は以下とした。

基本：後縦靱帯骨化を画像上確認でき、それによる臨床症状が出現している場合を頸椎後縦靱帯骨化症とする。(註)後縦靱帯骨化が存在しても、それによる臨床症状を認めない場合は「頸椎後縦靱帯骨化」とする。  
 詳細：以下の(1)と(2)の条件を満たすものを頸椎後縦靱帯骨化症とする。

(1) 画像要件：頸椎側面単純X線像で視認することのできる後縦靱帯骨化があること。ただし、単純X線像で判断が難しい場合は、CTを参考とする。なお、CTで初めて視認できる神経症状とは明らかに無関係の小骨化巣は診断要件としての後縦靱帯骨化とはしない。

(2) 臨床症状要件：次のいずれか、あるいはそのいくつかの臨床症状があること。

- 圧迫性頸髄障害の症状
  - 画像検査所見と対応する高位での脊髄症症状
  - 索路症状：深部腱反射の亢進、痙性手、痙性歩行、手袋・靴下状に分布する感覚障害など
  - 髄節症状：筋萎縮
- 神経根症状
  - 画像検査所見と対応する高位の神経根症状(運動麻痺、感覚麻痺、自覚的しびれ感、痛み)
- 頸椎可動制限による頸椎運動機能障害

- 日常生活動作に支障をきたす程度の頸椎可動域制限がある場合

表1 エビデンスレベル分類

Level	内容
1	全体で100例以上のRCTのMAまたはSR
2	全体で100例以上のRCT
3	全体で100例未満のRCTのMAまたはSR
4	全体で100例未満のRCT
5	CCTおよびcohort study
6	case-control study
7	case series
8	case report
9	その他

RCT: randomized-controlled trial, MA: meta-analysis, SR: systematic review, CCT: controlled clinical trial

表2 推奨グレード

推奨グレード	内容
A	強い科学的根拠があり、行うよう強く推奨する
B	中程度の科学的根拠があり、行うよう推奨する
C	科学的根拠は弱い、行うことを考慮しても良い
D	無効性あるいは害を示す科学的根拠があり、推奨しない
I	委員会の審査基準を満たす科学的根拠がない、あるいは複数の科学的根拠があるが結論が一様ではない

## VII. 多施設臨床研究

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

多施設研究

頰椎後縦靱帯骨化症患者における神経症状発現予測に関する多施設研究  
前向き再調査の最終報告

研究分担者 小宮節郎（鹿児島大学大学院運動機能修復学講座整形外科学教授）  
松永俊二（今給黎総合病院副院長）  
井尻幸成（鹿児島大学大学院運動機能復学講座整形外科学准教授）

研究要旨 頰椎後縦靱帯骨化を有する患者における脊髄症状発現を予測すること  
目的として前向き多施設研究を行った。全国の17診療施設から121名の患者を  
登録し解析した。静的因子として60%以上の脊柱管狭窄とCTにおける外側に偏  
倚した靱帯骨化および動的因子として頰椎可動域が大きいことが神経症状発現の  
危険因子であることがわかった。また頰椎への外傷の有無も重要な因子と考えら  
れた。

A. 研究目的

頰椎後縦靱帯骨化症（OPLL）患者における脊髄症状発現の機序は解明されてはいない。これまで脊髄症状発現について一般的には50%以上の脊柱管狭窄例では脊髄症状が発現するとされてきたが、これは古典的レ線撮影を用いた解析であり、CTあるいはMRIによる3次元解析は十分にはなされておらず診療ガイドラインにおけるエビデンスは低い。さらに本症において重篤な麻痺を起こす外傷による骨傷のない頰髄損傷発生の疫学についても詳細にはなされていない。そのため頰椎後縦靱帯骨化を発見した際にその患者が将来において神経症状を発症するか否かを予見することは難しい。本研究では本症における神経症状発現の予測因子の確定を目的として多施設前向き調査を行った。

B. 研究方法

多施設研究を行うための各研究施設に配布する調査用紙は前回調査時に使用したも

のを改変した。全班員の研究施設に配布した。研究対象のエントリー基準は以下とした。

1. 単純レントゲン写真で頰椎に後縦靱帯骨化を認める
2. 初診時脊髄症状が認められず最短5年臨床経過を観察できた症例かもしくは経過観察中に新たに脊髄症状の発現を認めた症例
3. 画像情報として頰椎レントゲン写真と頰椎CTもしくはMRIがある
4. 患者情報の研究使用に同意された患者  
全国17医療施設から121名（男性76名、女性45名）の頰椎OPLL患者の調査用紙を回収することができた。

【研究参加施設】

弘前大学医学部整形外科  
東京大学医学部整形外科  
杏林大学医学部整形外科  
大阪大学医学部整形外科  
慶応義塾大学整形外科



東京医科歯科大学整形外科  
東京医科大学整形外科  
東京女子医科大学整形外科  
日本大学医学部整形外科  
富山大学医学部整形外科  
名古屋大学医学部整形外科  
京都大学医学部整形外科  
自治医科大学整形外科  
高知大学医学部整形外科  
山口大学医学部整形外科  
久留米大学医学部整形外科  
鹿児島大学医学部整形外科（順不同）

調査用紙とともに患者の単純レントゲン写真、CT、MRIの画像を回収した。脊髄症状の有無と画像所見および外傷の有無との関係を調べた。

（倫理面での配慮）

研究対象者に対する人権擁護と研究対象者に対する不利益や危険性の排除や説明と理解（インフォームドコンセント）のための書類を作成し、鹿児島大学医学部・歯学部附属病院臨床研究に関する倫理委員会において審査を受け研究の実施の許可を得た。

### C. 研究結果

登録できた121名の患者の初診時平均年齢は59.8歳（41～84歳）であり追跡期間は2年～25年の平均10.7年であった。骨化型分類では分節型：20例、連続型：42名、混合型：59名であった。経過観察中に新たに脊髄症状が出現した患者が30名（24.8%）であり残りの91名は脊髄症状は発現しなかった。Kaplan-Meier法による累積脊髄症状非発現率は10年で82%、20年で62%、25年で50%であった。脊髄症状発現群と非発現群で初診時年齢、追跡期間、最終調査

時年齢、骨化型には有意差がなかった。最大脊柱管狭窄率は脊髄症状発現群が平均45.2%、脊髄症状非発現群が平均39.2%と脊髄症状発現群が狭窄率が大きかったが統計学的に有意なものではなかった。しかし、最大狭窄率60%以上の症例では7例中6例（86%）で追跡期間中に脊髄症状が発現していた。脊髄症状発現の時期は平均5.4年であった。最大狭窄率60%未満の症例に限って解析すると外傷誘因以外で脊髄症状が発現した症例は108例あったが全頚椎可動行が脊髄症状発現群では有意に大きかった。またCTにおける骨化型が外側偏倚型は感度91%、特異度62%で脊髄症状発現の予測因子であった。頚椎部への外傷を誘因として脊髄症状が発症した症例は8例あったが脊髄症状はJOAスコアで平均5.3と非外傷誘因の脊髄症状発現のJOAスコア平均11.6に比べ有意に重症の脊髄症状を呈していた。

### D. 考察

後縦靭帯骨化症は後縦靭帯の骨化に起因した脊髄あるいは神経根症状が認められた場合を意味しており、画像上確かな骨化が認められても無症状の場合は後縦靭帯骨化と呼ぶべきである。このような概念の背景には後縦靭帯骨化が認められても脊髄症状が実際に認められるのは外来受診時には30%から51%であり、また長期的に患者を追跡しても初診時に脊髄症状がない患者で新たに脊髄症状が出現するのは17%であるといような報告がある。しかし、その一方でこの症例のように外傷を契機として骨傷のない頚髄損傷が起こり患者の予後に影響を与える症例があることも事実である。

本研究班における調査では靭帯骨化による最大脊柱管狭窄率が60%以上の患者では

8 例中 7 例が脊髄症状を発現しており静的圧迫の許容限界と考えられる。しかし、最大脊柱管狭窄率が 60%未満の場合はむしろ頸椎可動域や脊椎横断面における骨化のパターンなど最大脊柱管狭窄率以外の関与が重要になっていると考えられた。残念ながら外傷誘因による脊髄症状発現症例が 8 例と少なくどのような症例が外傷を受けた場合に脊髄症状を発現し易いかは本研究では見出すことができなかつたが今後の重要な研究課題であると考えている。

#### E. 結論

頸椎後縦靭帯骨化を有する患者における脊髄症状発現に関係する因子を検討する目的で多施設による前向き調査を行い幾つかの危険因子を見出すことができた。

#### F. 健康危険情報

本研究により研究対象者に健康被害などの健康に関する危険はないことを知らせた。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Matsunaga S, Koga H, Miyaguchi F, Komiya S Preventing surgical site infection in older patients after spine surgery: Application and efficacy of nutrition support team (NST) European Spine Journal 19 : 249-250 2010
- 2) 松永俊二、古賀公明、小宮節郎 一般健常者における日本整形外科学会頸部脊髄症評価質問票調査 (JOACMEQ) -患者評価の基準として-脊椎脊髄ジャーナル 23(3) : 189-193 2010
- 3) 松永俊二、戸山芳昭、小宮節郎

多施設研究・頸椎後縦靭帯骨化症患者における神経症状発現予測に関する多施設研究-前向き再調査の中間報告-平成21年度総括・分担研究報告書  
平成21年度総括・分担研究報告書  
37-40 2010

- 4) 宮口文宏、古賀公明、松永俊二、今給黎尚典、田邊 史、石堂康弘、山元拓哉、井尻幸成、米 和徳、小宮節郎、富永博之、武富栄二、鮫島浩司、川内義久、東郷泰久、小倉 雅、尾辻正樹  
頸部神経根症に対する後方進入内視鏡椎間孔拡大術の治療経験 J Spine Res 1(6) : 1198-1199 2010

##### 2. 学会発表

- 1) Matsunaga S, Koga H, Miyauchi F, Komiya S Radiographic risk factors for spinal cord injury in patients with ossification of the posterior longitudinal ligament of the cervical spine. 1st annual meeting of Cervical Spine Research Society Asia Pacific section Kobe, Japan 2010/4/25
- 2) Matsunaga S, Koga H, Miyauchi F, Komiya S Preventing surgical site infection in older patients after spine surgery: Application and efficacy of nutrition support team (NST) Euro Spine 2010 Reed Messe Wien Exhibition & Congress center Vienna Austria 2010/9/15
- 3) Matsunaga S Etiology, natural history, measurement tool & diagnosis of OPLL 45th Annual Meeting of Scoliosis Research Society 京都国際

会議場 京都 2010/9/21

- 4) 松永俊二、古賀公明、宮口文宏、中村俊介、小宮節郎 当院における高齢者脊椎脊髄手術の手術部感染予防対策-NST 導入とその効果- 第 39 回日本脊椎脊髄病学会 高知県立県民文化ホール 高知市 2010/4/23
- 5) 松永俊二、中村耕三、戸山芳昭、小宮節郎 頸椎後縦靭帯骨化症患者の神経症状発現予測に関する多施設研究 第 83 回日本整形外科学会学術総会 東京国際フォーラム 東京 2010/5/28
- 6) 松永俊二、小宮節郎 頸椎頸椎後縦靭帯骨化患者の神経症状発現予測に関する多施設前向き研究 厚生労働省難治性疾患克服研究事業脊柱靭帯骨化症に関する調査研究班平成 22 年度第 1 回班会議 慶應義塾大学病院 東京 2010/5/15
- 7) 松永俊二、小宮節郎、井尻幸成、戸山芳昭 頸椎頸椎後縦靭帯骨化における神経症状発現予測に関する多施設研究-最終報告-厚生労働省難治性疾患克服研究事業脊柱靭帯骨化症に関する調査研究班平成 22 年度第 2 回班会議 慶應義塾大学病院 東京 2010/11/6
- 8) 松永俊二、酒匂 崇、武富栄二 頸椎頸椎後縦靭帯骨化が自然消失したと思われる一例 第 74 回西日本脊椎研究会 大正・富山製薬福岡支店 2010/11/12

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

本研究について特許取得や実用新案登録の予定はない。

**頸椎後縦靭帯骨化 (OPLL) を合併した重度頸髄損傷**  
**—多施設後ろ向き調査—**

研究分担者	筑田博隆	東京大学整形外科
	星地亜都司	自治医科大学整形外科
	中村耕三	東京大学整形外科

**研究要旨** 頸椎後縦靭帯骨化(OPLL)は、本邦での脊柱管狭窄の主な要因である。本研究では OPLL を合併した頸髄損傷の大規模な後ろ向き研究をおこない、その臨床像を調査した。OPLL の合併は重度頸髄損傷 (Frankel A, B, C) の 23%にみられ、そのほとんどが非骨傷性頸髄損傷であった。OPLL は、頸髄損傷、特に非骨傷性頸髄損傷の発生において重要な役割を果たしていることが明らかになった。

**A. 研究目的**

OPLL による脊柱管狭窄がある場合には、ごく軽度の外傷であっても、しばしば重度の頸髄損傷をきたすことが報告されている。しかし、これまで OPLL を合併した頸髄損傷大規模な実態調査は行われておらず、その臨床像は明らかではない。本研究の目的は、重度頸髄損傷における OPLL 合併例の頻度とその臨床上的特徴とを明らかにすることである。

**B. 研究方法**

厚生労働省特定疾患脊柱靭帯骨化症調査研究班に所属する国内 34 施設が参加した。対象は、2000 年 1 月より 2006 年 6 月までに、受傷後 48 時間以内に当該施設に搬送され、外傷性急性頸髄損傷と診断された症例のうち、外傷直後より歩行不能となった全症例 (Frankel A, B, C) である。各協力施設に調査用紙を郵送し、記入後に回収した。調査項目は、年齢、性別、骨傷の有無、初診時 Frankel 分類、追跡期間、最終追跡時の Frankel 分類である。OPLL 合併例については、受傷前に OPLL と知っていたかどうか、

受診状況、受傷機転、骨化型、最大脊柱管狭窄率、治療等についても調査を行った。麻痺の回復は、Frankel 分類で一段階以上の改善と定義した。麻痺の回復についての解析は、6 ヶ月以上のフォローアップが行われた症例について行った。カテゴリカルデータはカイ二乗検定または Fischer の正確検定を用いて解析した。統計処理は JMP を用い、有意水準は 0.05 とした。なお、個人情報保護のため、データは連結可能匿名化し、集計した。

**C. 研究結果**

計 453 名 (男性 367 名、女性 86 名、平均年齢 59 歳) が選択規準をみたした。平均追跡期間は 14.0 ヶ月 (1-91 ヶ月) であった。初診時の Frankel 分類は、A が 146 名、B が 105 名、C が 202 名であった。453 名のうち 274 名 (60%) が頸椎の骨折・脱臼などを伴わない非骨傷性頸髄損傷であった。OPLL は頸髄損傷例の 23%にあたる 106 名にみられた。OPLL 合併例は、男性 87 名、女性 19 名、受傷時平均年齢は 66 歳だった。OPLL 合併例の年齢分布のピークは 70 歳から 75 歳で