

図 後縦靭帯骨化症患者の JOACMEQ 評価による各機能の重症度別にみた同居する介助者の認知的介護評価得点 (各構成因子の項目数で除した平均値)

2. 医療機関における調査について

平成24年11月30日までに回収された質問紙は患者用が73名分、同居者用が71名分であり、このうち患者と同居者のペアは69対であった。回収期限を平成24年12月31日まで延長の予定である。

D. 考察

後縦靭帯骨化症の主な症状は神経麻痺ならびに痛み・しびれである。手指の運動制限や下肢の運動障害、歩行困難、歩行不能となる場合もある。しかし、後縦靭帯骨化症の生命予後は比較的良好なため、本症に特有のしびれや痛みは、ともすると軽く評価されがちである。患者の約2割が階段の下降時に「介助してほしいが現在は自力でおこなっている」状況である。

同居の介助者は、患者が重症になるほど介護負担感が増す一方で、介護役割充足感など介助することに対する肯定感は重症度に関係がみられなかった。難病患者等居宅生活支援事業（市町村）や訪問看護、ホームヘルプサービスの利用は患者の6-8%であり、同居者による介助とともに患者への支援体制の充実が望まれる。

E. 結論

質問紙調査により、後縦靭帯骨化症患者の日常生活動作を支援するための介助の必要性や社会資源の利用状況ならびに同居者の介助に関する認知的評価を把握した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

文献

- 1) 藤原奈佳子. 後縦靭帯骨化症患者の日常生活動作とその支援に関する研究. 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業 脊柱靭帯骨化症に関する調査研究, 平成23年度総括・分担研究報告書 (主任研究者: 戸山芳昭). 2012, 65-66.
- 2) 日本整形外科学会 日本脊椎脊髄病学会 診断評価等基準委員会(編). JOABPEQ、JOACMEQ マニュアル. 南江堂、東京、2012.
- 3) 広瀬美千代、岡田進一、白澤政和. 家族介護者の介護に対する認知的評価を測定する尺度の構造. 肯定・否定の両側面に焦点をあてて. 日本在宅ケア学会誌. 2005, 9(1), 52-60.

頌椎後縦靱帯骨化症患者の疼痛治療に関する考え方の研究

研究分担者 米延 策雄 独立行政法人国立病院機構 大阪南医療センター 院長

研究要旨 疼痛治療の推進が奨励されている。頌椎後縦靱帯骨化症患者の最も頻度の高い愁訴は痛みであり、本症における疼痛治療も例外ではない。病態から判断して、オピオイドが選択肢の一つとなるが、頌椎後縦靱帯骨化症における疼痛治療として受け入れられるか否か、未だ明らかでない。本症に対するオピオイドの臨床治験を行うことでこの解明にあたった。

A. 研究目的

頌椎後縦靱帯骨化症に伴う疼痛に対して、別途行われているオピオイドを治療薬の一部とした臨床試験を行う課程で、オピオイドに対する患者の受け入れを明らかにする。

B. 研究方法

別途実施中の頌椎後縦靱帯骨化症に伴う慢性疼痛に対するオピオイドの有効性に関する臨床試験の課程で得られる患者のオピオイドに対する対応を、臨床試験担当者の観察を通じて分析した。

（倫理面での配慮）

本研究では、直接介入ではなく、また個人情報直接扱わないのでこれに関わる倫理的問題はない。

C. 研究結果

別途実施中の臨床試験が完了していないので、本研究の結果も未定である。本症患者で慢性疼痛を訴える中には、オピオイドをネガティブなものとして捉えて、疼痛治療の選択肢としては求めない例が少なからずある。

D. 考察

頌椎後縦靱帯骨化症患者のQOLを障害している要因の中で、慢性疼痛の順位が高いとの報告がある。しかし、後縦靱帯骨化

症に伴う疼痛の病態は未だ明確にされておらず、一方では従来は非ステロイド系消炎鎮痛薬など選択肢も限定的であった。疼痛治療薬の選択肢が本邦でも増加してきているが、その選択法が未だ確定していない。特に、オピオイドは癌性疼痛の治療においても、その活用が進んでいないとの報告がある。非がん性慢性疼痛に適応する場合には、さらに国によって国民の受け入れも異なると言われている。新しく導入された疼痛治療薬を使うことで、病態のみならず、それぞれの薬物に対する認識を明らかにすることが重要と考える。

E. 結論

慢性疼痛の治療においては、患者や社会が持っている薬物に対する考え方が選択に影響する可能性が大きい。

F. 健康危険情報

総括研究報告書にまとめて記載。

G. 研究発表

未

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

脊柱靱帯骨化症に関する調査研究

研究分担者 松山 幸弘 浜松医科大学整形外科教授

術中脊髄モニタリングのアラームポイント

～脊椎脊髄病学会脊髄モニタリングワーキンググループによる多施設前向き研究～

Alarm point of transcranial electrical stimulation motor evoked potentials for intraoperative spinal cord monitoring. A prospective multicenter study of Japanese Society for Spine Surgery and Related Research (JSSR).

研究協力者	四宮謙一	横浜市立みなと赤十字病院院長
研究協力者	川端茂徳	東京医科歯科大学整形外科講師
研究協力者	安藤宗治	和歌山労災病院整形外科部長
研究協力者	寒竹司	山口大学整形外科講師
研究協力者	齊藤貴徳	関西医科大学整形外科教授
研究協力者	高橋雅人	杏林大学医学部整形外科助教
研究協力者	伊藤全哉	名古屋大学大学院医学系研究科整形外科助教
研究協力者	村本明生	名古屋大学大学院医学系研究科整形外科
研究協力者	藤原靖	広島安佐市民病院整形外科部長
研究協力者	山田圭	久留米大学整形外科講師
研究協力者	木田和伸	高知大学医学部整形外科講師
研究協力者	山本直也	東京女子医科大学八千代医療センター整形外科准教授
研究協力者	里見和彦	久我山病院院長
研究協力者	谷俊一	高知大学医学部整形外科教授
研究協力者	小林祥	浜松医科大学整形外科助教

Spinal cord monitoring, multi center study, JSSR

研究要旨：振幅の70%低下を MEP のアラームポイントと定め、モニタリング総数 959 例の多施設前向き研究を行ったところ、感度 95%、特異度 91%と良好な精度が得られた。

A. 研究目的

全国脊椎手術調査によると神経合併症は全脊椎手術中 1.7%に発生していると、種市らは報告した。なかでも胸椎 OPLL の手術神経合併症は非常に高頻度に発生しており、Matsumoto らの多施設研究によると胸椎 OPLL に対する後方除圧固定術の神経合併症は 26%と報告している、神経合併症は手術で重篤な合併症のひとつであり、回避すべく何らかの対策が必要である。術中脊髄機能モニタリングは神経合併症を最低限にするために非常に有用である。最近の報告では、モニタリングの Multimodality が推奨され、その成績も良好である。とりわけ Br (E) -MsEP は運動路を監視することができ、さらに SSEP や D-wave に比較し感度が良いモニタリング法である。ただし Br (E) -MsEP の成績の報告は多いものの、報告によってどのような波形の変化を有意とするかまちまちであり、未だ統一されたアラームポイント（警告基準）はないことが問題となっている。

そこで、日本脊椎脊髄病学会脊髄モニタリング委員会により 2007 年～2009 年までの True Positive であった 48 例を検討し、振幅の 70%低下を MEP のアラームポイントと定めた。このアラームポイントの妥当性を検証するために、日本脊椎脊髄病学会脊髄モニタリングワーキンググループ関連施設 16 施設を対象として多施設前向き研究を行った。

B. 研究方法

・対象と方法、2010 年 4 月～2012 年 4 月に後縦靭帯骨化症、脊髄腫瘍、側弯症手術を行い、術中モニタリングを行った。振幅の 70%低下を MEP のアラームポイントとした。

アンケートを各施設に送付し、1 年間におけるモニタリング症例を前向きに調査・集計した。全 16 施設からアンケートを回収し、モニタリング総数 959 例が集計された。検討項目は、1:モニタリングの種類、2:疾患名及びその数、3:施行した各モニタリングの刺激条件、導出筋・筋数、4:合併症、5:波形変化があった症例と False negative となった症例の疾患名、術式、導出部位・筋数、術前・術後の徒手筋力テスト (MMT)、術後感覚障害の有無、術後麻痺の期間、術中・術後波形とした。

C. 結果

対象疾患は 959 例中、脊髄腫瘍 360 例と側弯症 282 例、OPLL 317 例であった。難治性疾患である胸椎 OPLL は 114 例 (11.9%) であった。959 例中 True positive は 38 例、false positive は 78 例、False negative は 2 例にあった。術中にモニタリング波形の変動があり、最終波形までに回復したりカバリー症例を要検討例とした。モニタリングの精度は感度 95%、特異度 91%、陽性的中率 32.8%、陰性的中率 99.7%、偽陽性率 9%、偽陰性率 5%であった。モニタリングで警告され、術後麻痺が出現した True positive 症例は髄内腫瘍が多く 38 例中 7 例 (18.4%)、髄外腫瘍は 7 例 (18.4%)、胸椎 OPLL は 15 例 (39.5%)、頸椎 OPLL は 6 例 (15.8%) であった。

術後麻痺症例が 1 カ月未満の一過性で回復したのは波形消失した 12 例であった。また 3 か月以上回復しない麻痺は術中波形変化をコントロール振幅より 80%低下が 3 例、90%低下が 2 例、消失が 7 例であった。振幅低下の程度と麻痺期間は相関しなかった。さらに麻痺の程度を徒手筋力テストの低下

分とすると、MMT1 段階低下の軽微な麻痺では最終波形振幅が 54%しか低下しなかった。False negative 例があったが、また最終波形振幅が 52%しか低下しなかったが、MMT 2 段階低下した髄内腫瘍例が 1 例あった。それ以外の MMT2 段階以上低下した重度の麻痺では全ての症例は振幅 70%以下に低下していた。モニタリングで警告され、最終波形が回復したレスキュー症例では術後麻痺例はなかった。この 55 例のレスキュー症例こそモニタリングの使用意義があったと考えた。

D. 考察

脊椎・脊髄手術を行なう際、特に脊髄腫瘍摘出術・後縦靭帯骨化症手術・側彎症矯正術などでは神経合併症のリスクが高く、術後運動、感覚障害などを最小限に防ぐ安全な処置が望まれる。脊髄モニタリングの重要性を説く論文は数多く報告されており、その中でも Br-MsEP は最も鋭敏なモニタリングとして位置づけられている。Br-MsEP のアラームポイントは振幅 50%低下、潜時の 10%延長とするものや、振幅 80%低下 (Langeloo DD et al., SPINE 26, 2001)、波形消失 (Sala F et al., Eur Spine J 16, 2007)、波形形態変化 (Quinones HA et al., Neurosurgery 56, 2005) とするものなど定まったものではなく、対象症例も多岐にわたっている。

本研究では振幅 70%の低下をアラームポイントとし、感度 95%、特異度 91%と良好な成績が得られた。False negative 例は振幅 54%と 52%だけ低下した髄内腫瘍の症例であった。False negative 例からは髄節障害と脊髄障害または髄内腫瘍手術でアラームポイントが異なる可能性が示され、今後

は疾患ごとに分けて詳細に調査を行う必要も感じられた。

E. 結論

OPLL, 脊髄腫瘍, 脊柱側弯症の難治例に対する術中脊髄モニタリングの新しい Br-MsEP のアラームポイントを振幅の 70%減少とした。この新しい基準により多施設前向き研究を行い、安全で有用なアラームポイントと考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

Hanada M, Sugiura Y, Shinjo R, Masaki N, Imagama S, Ishiguro N, Matsuyama Y, Setou M. Spatiotemporal alteration of phospholipids and prostaglandins in a rat model of spinal cord injury. Anal Bioanal Chem. 403. 1873-84. 2012.

小林祥、松山幸弘、四宮謙一、川端茂徳、安藤宗治、寒竹司、齊藤貴徳、高橋雅人、伊藤全哉、村本明生、藤原靖、木田和伸、山田圭、和田簡一朗、山本直也、里見和彦、谷俊一：術中脊髄モニタリングのアラームポイント 日本脊椎脊髄病学会モニタリング委員会報告。臨床整形外科。47(9)。823-827。2012。

2. 学会発表

小林祥、松山幸弘、四宮謙一、川端茂徳、安藤宗治、寒竹司、齊藤貴徳、高橋雅人、伊藤全哉、村本明生、藤原靖、木田和伸、山田圭、和田簡一朗、山本直也、里見和彦、谷俊一：術中脊髄モニタリングのアラームポイント、第 34 回脊髄機能診断研究会 (2012. 2. 4) 東京

小林祥、松山幸弘、四宮謙一、川端茂徳、安藤宗治、寒竹司、齊藤貴徳、高橋雅人、伊藤全哉、村本明生、藤原靖、木田和伸、山田圭、和田簡一郎、山本直也、里見和彦、谷俊一：振幅 70%低下をアラームポイントとした術中脊髄モニタリング—多施設前向き研究—，第 41 回日本脊椎脊髄病学会（2012. 4. 19～4. 21）久留米

小林祥、松山幸弘、四宮謙一、川端茂徳、安藤宗治、寒竹司、齊藤貴徳、高橋雅人、伊藤全哉、村本明生、藤原靖、谷口慎一郎、山田圭、和田簡一郎、山本直也、里見和彦、谷俊一：多施設前向き研究による術中脊髄モニタリング(Br-MsEP)のアラームポイント，第 84 回日本整形外科学会（2012. 5. 20～5. 23）京都

小林祥、松山幸弘、四宮謙一、川端茂徳、安藤宗治、寒竹司、齊藤貴徳、高橋雅人、伊藤全哉、村本明生、藤原靖、谷口慎一郎、山田圭、和田簡一郎、山本直也、里見和彦、谷俊一：多施設前向き研究による術中脊髄モニタリング(Br(E)-MsEP)のアラームポイント，第 回日本臨床神経生理学会（2012. 11. 8～11. 9）東京

Sho Kobayashi, Yukihiro Matsuyama, Kenichi Shinomiya, Shigenori Kawabata, Muneharu Andou, Zenya Ito, Takanori Saitou, Yasushi Fujiwara, Naoya Yamamoto, Kazuhiko Satomi, Toshikazu Tani. Alarm point of transcranial electrical stimulation motor evoked potential for intraoperative spinal cord monitoring. A prospective multicenter study. Cervical Spine Research Society Asia Pasific section 3rd Annual Meeting (2012. 4. 27～4. 28) Hakata

Sho Kobayashi, Yukihiro Matsuyama, Kenichi Sinomiya, Shigenori Kawabata,

Muneharu Ando, Naoya Yamamoto, Kazuhiko Satomi, Toshikazu Tani. Alarm point of transcranial electrical stimulation motor evoked potentials for intraoperative spinal cord monitoring. A prospective multicenter study of Japanese Society for Spine Surgery and Related Research The 22nd Japanese-Korean Combined Orthopaedic Symposium (2012. 6. 7～6. 9) Nikko

Sho Kobayashi, Yukihiro Matsuyama, Kenichi Sinomiya, Shigenori Kawabata, Muneharu Ando, Tsukasa Kanchiku, Takanori Saito, Masahito Takahashi, Zenya Ito, Akio Muramoto, Yasushi Fujiwara, Kazunobu, Kida, Naoya Yamamoto, Kazuhiko Satomi, Toshikazu Tani. Alarm point of transcranial electrical stimulation motor evoked potential for intraoperative spinal cord monitoring. A prospective multicenter study. Spine Across the Sea (2012. 7. 29～8. 2) Kauai

Sho Kobayashi, Yukihiro Matsuyama, Kenichi Sinomiya, Shigenori Kawabata, Muneharu Ando, Tsukasa Kanchiku, Takanori Saito, Masahito Takahashi, Zenya Ito, Akio Muramoto, Yasushi Fujiwara, Kazunobu, Kida, Naoya Yamamoto, Kazuhiko Satomi, Toshikazu Tani. New Alarm point of transcranial electrical stimulation motor evoked potentials for intraoperative spinal cord monitoring. A prospective multicenter study. Scoliosis Research Society 47th Annual Meeting (2012. 9. 5～8) Chicago

Sho Kobayashi, Yukihiro Matsuyama, Kenichi Sinomiya, Shigenori Kawabata, Muneharu Ando, Tsukasa Kanchiku, Takanori Saito, Masahito Takahashi,

Zenya Ito, Akio Muramoto, Yasushi Fujiwara, Kazunobu, Kida, Naoya Yamamoto, Kazuhiko Satomi, Toshikazu Tani. New Alarm point of transcranial electrical stimulation motor evoked potentials for intraoperative spinal cord monitoring. A prospective multicenter study. Cervical Spine Research Society 40th Annual Meeting (2012.12.6~8) Chicago

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業））
分担研究報告書

胸椎後縦靭帯骨化症手術に関する多施設、前向き研究（中間報告）

研究分担者 今釜 史郎 名古屋大学整形外科助教
研究協力者 伊藤 全哉 名古屋大学整形外科特任助教
研究協力者 安藤 圭 名古屋大学整形外科病院助教

研究要旨 後縦靭帯骨化症（OPLL）の中でも割合の少ない胸椎 OPLL の手術成績を多施設、前向きに調査し評価した。後方除圧固定術後、一定の症状回復は得られたものの、術後運動麻痺や感染など合併症も問題であった。まだ中間報告であり、8 症例、経過観察期間も十分長くないが、今後は症例をさらに集積し、術後経過期間を長く取ることで、至適な手術方法を検討する予定である。

A. 研究目的

後縦靭帯骨化症（OPLL）の中でも割合の少ない胸椎 OPLL の手術成績を多施設、前向きに調査し評価する。

B. 研究方法

脊髄圧迫に伴う脊髄症状を呈し手術に至った胸椎 OPLL 患者の症状、理学所見、画像所見を集積し、術後成績を評価して、胸椎 OPLL に対する最適な手術方法を検討する。参加施設においては胸椎 OPLL 手術決定時に症例を登録し、必要な検査などを施行後、手術後の症状経過についても最低 2 年間経過観察し、手術成績、合併症、脊髄症状や運動麻痺の回復程度を評価する。

（倫理面での配慮）

患者データ使用にあたっては患者および家族の同意を得ており、データの扱いに関しても個人情報の遵守に努めている。

C. 研究結果

2011 年 11 月～2012 年 6 月まで 8 ヶ月の間に登録された症例は 8 例（男性 4 名、女

性 4 名）で平均年齢 51 歳、BMI 34 であった。手術既往として頸椎椎弓形成術を 2 例に、腰椎固定術を 1 例に施行されていた。糖尿病の合併は 2 例であった。術前症状は下肢不全麻痺 5 例、体幹しびれ 1 例、下肢痛、下肢しびれ 2 例で、臥位での下肢症状悪化が 3 例にみられた。術式は胸椎後方除圧固定術 6 例、後方固定術 1 例、後方除圧術 1 例で、平均手術時間 530 分、平均出血量 3870ml（251～11731ml）であった。術後麻痺悪化なし 3 例であったが、麻痺悪化（一過性含む）4 例、後索症状出現 1 例を認めた。術後合併症として、implant を併用した後方除圧固定術 6 例中、1 例に感染を、1 例に経過観察中の麻痺進行を認め胸椎前方除圧固定術を行った。術後症状は緩やかな回復を示した。

D. 考察

胸椎 OPLL に対しては implant を用いた後方除圧固定術が行われることが多いが、半数に一過性を含む運動麻痺悪化を呈しており、慎重な術中操作に心がけることは勿論、

術中脊髄モニタリングの変化には常に留意する必要がある。

E. 結論

胸椎 OPLL の手術症例を、多施設前向きに登録し、術前の症状、画像変化、術後経過を検討した。まだ8ヶ月の中間報告であり、今後さらに症例を数多く集積し、胸椎 OPLL に対する適切な術式を模索する予定である。

F. 健康危険情報

総括研究報告書にまとめて記載。

G. 研究発表

1. 論文発表

胸椎後縦靭帯骨化症に対する後方除圧矯正固定術。今釜史郎, 伊藤全哉, 安藤圭, 平野健一, 田内亮吏, 村本明生, 松井寛樹, 松本智宏, 松山幸弘, 石黒直樹. 臨床整形外科. 47(9):829-835. 2012

重度後縦靭帯骨化症に対する術式選択と合併症 胸椎 胸椎後縦靭帯骨化症に対する一期的後方除圧矯正固定術の手術成績。今釜史郎, 松山幸弘, 石黒直樹 臨床整形外科 47 (5) : 431-436. 2012

The cutoff amplitude of transcranial motor-evoked potentials for predicting postoperative motor deficits in thoracic spine surgery. Muramoto A, Imagama S, Ito Z, Wakao N, Ando K, Tauchi R, Hirano K, Matsui H, Matsumoto T, Matsuyama Y, Ishiguro N. Spine (Phila Pa 1976). 2013 Jan 1;38(1):E21-7.

2. 学会発表

胸椎後縦靭帯骨化症の手術治療 一期的後方除圧矯正固定術後の手術成績と QOL。今釜史郎, 伊藤全哉, 安藤圭, 平野健一, 田内亮吏, 村本明生, 松井寛樹, 築瀬誠, 若尾典充, 松山幸弘, 石黒直樹, 第 85 回日本整形外科学会 (京都) 2012.

嘴状型胸椎後縦靭帯骨化症に対する一期的後方除圧矯正固定術。今釜史郎, 伊藤全哉, 安藤圭, 平野健一, 田内亮吏, 村本明生, 松井寛樹, 松本智宏, 鵜飼淳一, 小林和克, 新城龍一, 中島宏彰, 築瀬誠, 松山幸弘, 石黒直樹, 第 41 回日本脊椎脊髄病学会 (久留米) 2012.

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

なし

当院胸部 CT 受験者からみた胸椎靭帯骨化症の有病率に関する研究

研究分担者 森 幹士 滋賀医科大学整形外科講師

研究要旨 脊椎靭帯骨化症（OYL、OPLL）の有病率、特に胸椎についての詳細な報告はあまりなされていない。本研究では、当院で施行済みの胸部 CT 検査結果を用いてこの有病率を調査した。3013 名中、36%に OYL が、1.9%に OPLL が認められた。OYL は男性に、OPLL は女性に有意に多かった。OPLL では Body Mass Index が有意に高かった。OYL の高位分布は T4/5 および T10/11 にピークを持つ二峰性を示した。脊椎靭帯骨化の脊柱管占拠率や形態などと臨床症状との相関についての調査が今後の課題である。

A. 研究目的

胸椎靭帯骨化症（OYL、OPLL）の有病率に関する詳細な報告はなされていない。胸椎では、解剖学的な位置関係から単純レントゲン(Xp)のみでは脊椎靭帯骨化の有無判断には限界がある。しかし、有病率の調査方法として一般的な住民検診では Xp 以外の画像診断法の導入は難しい。本研究の目的は、脊椎靭帯骨化症の描出に優れるコンピューター断層撮影(CT)を用いて、その有病率を調査することである。

B. 研究方法

当院にて胸部疾患、またはその疑いのために施行された胸部 CT 検査のうち、15 歳以下の小児、脊椎手術の既往が有るもの、全胸椎の評価が不可能であるものを除く連続症例を対象とした。胸部 CT 撮影データをソフトウェア (AquariusNet Viewer, TeraRecon, Inc., CA) を用いて骨条件に変換し、OYL および OPLL の有無、罹患形態などについて調査した。CT による OYL の形態分類には確立されたものがなく、独自に基

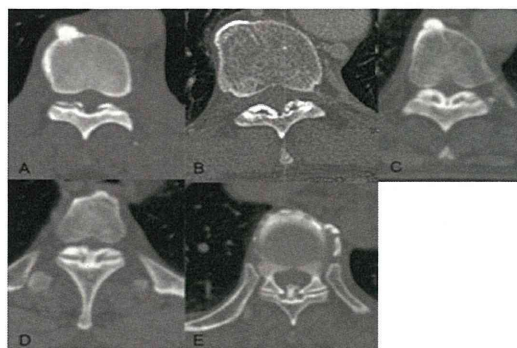


図 1. CT での黄色靭帯骨化の形態分類

A: small, B: medium, C: large, D: huge, E: central

準を設けた (図 1)。OPLL は厚さ 3mm 以上の骨化とし、椎間板レベルに限局する hard disc type は除外した。また、年齢や性別、body mass index (BMI) なども併せて調査した。

(倫理面-での配慮)

本研究は当施設の倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

3013 名 (男性 1752 名、女性 1261 名、平均年齢 65 歳) についての調査が可能であった。OYL は 36%に認められ、その高位別分布は T4/5 および T10/11 にピークを持つ二峰

性を示した (図 2)。前者は central type、後者は non-central type により形成されていた。

図 2. 胸椎黄色靭帯骨化症の高位分布

これまで、central type はあまり注目されておらず、OYL のひとつの subtype として認識が統一されていたものではない。我々は本調査を通じて、このような骨化が相当数あることを確認し、手術症例から得た標本の組織学的検討から、これが紛れもなく OYL の subtype であることを確認した (図 3)。

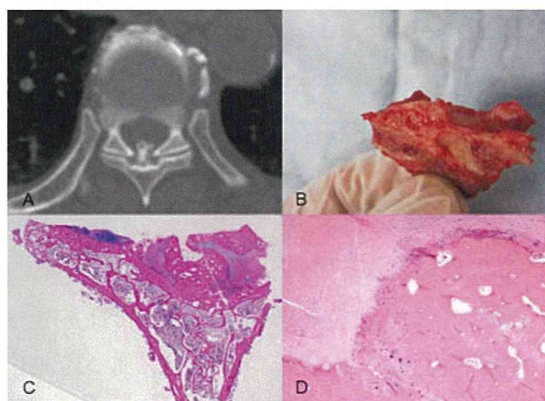


図 3. A: central type の CT axial 像. B: 切除標本. C: panorama view. D: H-E 染色.

OYL は男性の 38%、女性の 34% に認められ男性に有意に多かった ($p=0.022$)。OYL は 30 代以降ほぼ一定の割合で認められるが、その大きさは年齢とともに増大傾向

にあった (図 4)。

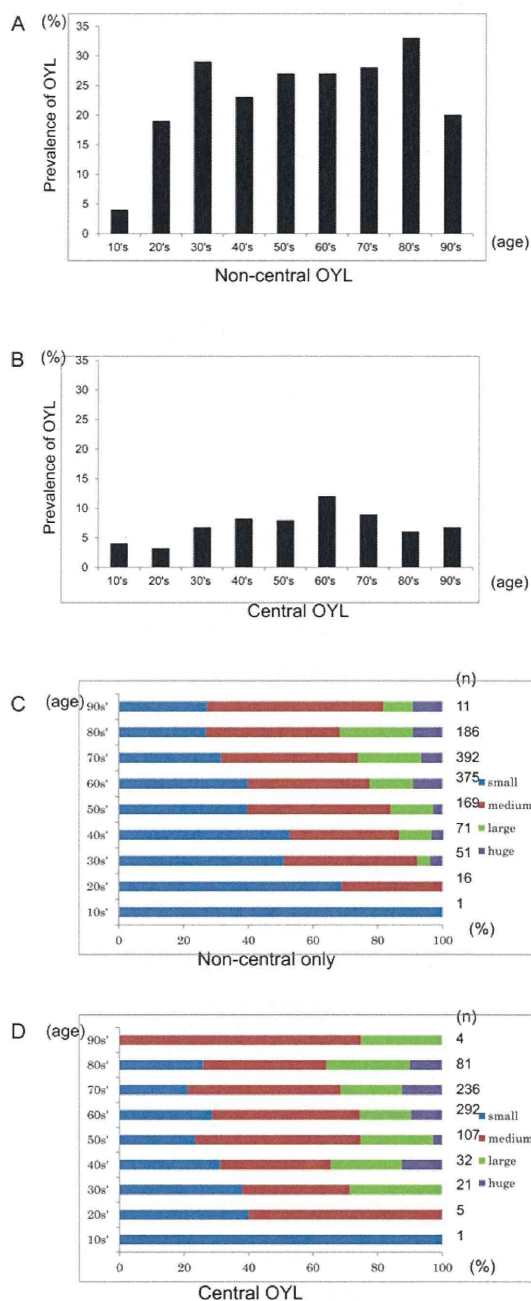


図 4. 胸椎黄色靭帯骨化症の年齢別罹患率 (A, B) とその年代別サイズ (C, D)

一方、OPLL は男性の 1.0%、女性の 3.1%、全体の 1.9% に認められ女性に有意に多かった ($p<0.0001$)。胸椎 OPLL の 63% に胸椎 OYL を認めた。

OYLの有無とBMIとは有意な関連を認めなかったが、OPLL有りはBMIが有意に高かった(p=0.0076)。

D. 考察

我々が渉猟しえた限りでは、これまでにOYLの有病率に関する英文論文は4編のみであるが、これらはサンプルサイズや対象症例数、年齢分布などに問題がある。胸椎OPLLのCTでの有病率の詳細な報告は見当たらなかった。本研究は、幅広い年齢層から、これまでの最大サンプル数を集めた解析である。

CTの高描出力のために、Xpと比較して脊柱靭帯骨化症を見落とす可能性は低く、今回の結果は真の有病率に近いと考えられる。既存の報告との直接的比較は難しいが、本研究でのOYLの有病率は既存の報告と比較して高率であった。

本研究の手法は、既に撮影済みのCT検査結果を調査することで、被験者に新たな被曝を強いることなく調査可能である。また、整形外科ではなく、呼吸器疾患、またはその疑いのために受診した患者を対象とすることで被験者選択におけるバイアスを最小限にできたと考える。しかし、対象は一般人口ではなく患者であること、比較的大きなOYL患者は歩行障害などで受診している可能性が高く、大きなOYLの有病率は低く算出された可能性があること、OYLのサイズや形態と麻痺の有無などの臨床症状との関連が不明であることなどが、本研究の限界である。

OYLの病因については未だ詳細は不明であるが、外傷、代謝、遺伝、変性要因などが指摘されている。本研究の結果から、遺

伝的要因と変性要因とが重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

脊柱靭帯骨化の脊柱管占拠率や形態などと臨床症状との相関についての調査が今後の課題である。

E. 結論

当院で施行された約3000例の胸部CT検査結果から求めた胸椎OYL、OPLLの有病率は、其々36%、1.9%であった。OYLは男性に、OPLLは女性に有意に多かった。

F. 健康危険情報

総括研究報告書にまとめて記載。

G. 研究発表

1. 論文発表

Mori K, Kasahara T, Mimura T, Nishizawa K, Murakami Y, Matsusue Y, Imai S. Prevalence, distribution and morphology of thoracic ossification of the yellow ligament in Japanese: results of CT-based cross-sectional study. (投稿中)

2. 学会発表

森 幹士、笠原俊幸、西澤和也、今井晋二、松末吉隆. 当院胸部CT受験者からみた胸椎靭帯骨化症の有病率 第41回日本脊椎脊髄病学会 久留米市 2012, 4, 19-21.

森 幹士. 胸部CT画像からの胸椎靭帯骨化症の有病率調査 (本調査の最終報告) 平成24年度第2回脊柱靭帯骨化症に関する調査研究班会議 東京 2102, 12, 1

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

該当するものなし。

2. 実用新案登録

該当するものなし。

3. その他

特記すべきことなし。

VI. 基礎研究

脊柱靱帯骨化におけるヒト脊柱靱帯由来幹細胞の同定・単離
および脊柱靱帯骨化症の発症・進展における役割の解明

研究分担者 藤 哲 弘前大学大学院医学研究科整形外科学講座教授

研究要旨：間葉系幹細胞は骨・脂肪・軟骨や靱帯に分化する組織幹細胞で、ヒトの様々な組織から同定されている。近年脊柱靱帯から間葉系幹細胞が分離・同定され、靱帯の骨化・肥厚への関与が注目されている。我々は間葉系幹細胞が靱帯の骨化に関与しているとの仮説を基に、脊柱靱帯由来間葉系幹細胞の特性および骨化靱帯における局在を検討した。

A. 研究目的

ヒト脊柱靱帯に存在する間葉系幹細胞 mesenchymal stem cells (MSCs)の特性および骨化靱帯における局在を検討することで、靱帯骨化において幹細胞が果たす役割を解明し、脊柱靱帯骨化症の病因解明を行うこと。

B. 研究方法

1. 骨化靱帯におけるMSCsの局在

①Hematoxylin-Eosin染色

脊柱靱帯骨化症患者の骨化した胸椎黄色靱帯組織(骨化症群)と非脊柱靱帯骨化症患者の胸椎黄色靱帯組織(対照群)を使用した。採取された靱帯組織は速やかにホルマリン固定を1週間行った。骨化部分を含んでいる靱帯組織についてはKC-X液を用いて更に1週間脱灰処理を行った。靱帯組織を矢状切断してパラフィン切片を作製した後、Hematoxylin-Eosin染色を行い、靱帯組織の組織学的評価を行った。

②免疫組織染色

二重蛍光染色法を用いて免疫組織学的検討を行った。一次抗体は、MSCs表面マーカー

(CD73、CD90およびCD105)、血管内皮細胞表面マーカー(CD31)と血管周皮細胞表面マーカー(α -SMA)を使用した。表面マーカーCD73/CD90、CD73/CD105、CD90/CD105、CD73/CD31、CD73/CD31、CD105/CD31、CD73/ α -SMA、CD73/ α -SMA、およびCD105/ α -SMAの組み合わせで染色した後、靱帯組織において血管領域(特に内皮細胞層と周皮細胞領域)、および靱帯実質部、そして骨化靱帯組織の骨化前線領域でのMSCs表面マーカーの発現を蛍光顕微鏡にて検討した。

2. 脊柱靱帯由来 MSCs の特性解析

①細胞培養

脊柱靱帯骨化症患者7例(骨化症群)および非骨化症患者7例(対照群)の術中に得られた黄色靱帯を、過去の文献に従い¹⁾コラゲナーゼで処理し、ストレーナーで濾過した後、得られた細胞をプラスチックディッシュに播種し培養に供した。

②MSCsの選別

Fluorescence-activated cell sorterを用いて、第1継代細胞からMSCsに特徴的な細胞表面マーカーである

CD34陰性、CD105陽性を満たす細胞を選別し実験に用いた。

③骨・脂肪・軟骨分化能

およびコロニー形成能の検討

骨・脂肪・軟骨誘導培地¹⁾で培養し、それぞれへの分化能を骨化症群と対照群で比較・検討した。骨・脂肪誘導開始後21日目で組織特異的染色であるAlizarin Red S染色（骨組織）、Oil Red O染色（脂肪組織）を行い、それぞれの吸光度を計測することで定量的に評価を行った。軟骨誘導はペレット培養にて行い、誘導培養後21日目でペレットの重量と最大径を計測した。またAlcian Blue染色を行い、軟骨基質の形成を評価した。コロニー形成能は単細胞培養を行い、30細胞以上に増殖した場合をコロニー形成能ありと評価した。

（倫理面での配慮）

本研究は弘前大学大学院医学研究科倫理委員会の承認を得て、被検者に対する十分なインフォームドコンセントを経て行った。

C. 研究結果

1. 脊柱靭帯におけるMSCsの局在

①非骨化黄色靭帯組織のHematoxylin-Eosin染色では、波状の弾性線維の中に線維芽細胞を少数認めた。靭帯組織の周辺では多数の血管新生像を認めたが、靭帯実質部では血管新生は乏しかった。一方、骨化黄色靭帯組織では、骨化前線周辺で多数の軟骨細胞を認め、骨化前線近傍の靭帯実質部では弾性線維構造の破綻像が観察され、その周辺に多数の血管新生

を認めた。

②二重免疫蛍光染色法によるMSCs表面マーカー発現の検討では、靭帯組織内部の血管および靭帯組織を囲む血管の周囲にMSCs表面マーカーCD73/CD90、CD73/CD105およびCD90/CD105の全ての発現を認めた。さらに、血管組織内では、血管内皮細胞表面マーカーCD31陽性の細胞ではMSCs表面マーカーの発現を認めなかった。一方、血管周皮細胞領域では血管周皮細胞表面マーカー α -SMA陽性の細胞はMSCs表面マーカーの発現を認めた。また、靭帯実質部でも全てのMSCs表面マーカーが発現した線維芽細胞様細胞が観察された。MSCs表面マーカー陽性細胞の出現率は、非骨化黄色靭帯より骨化黄色靭帯で高かった。多数の軟骨細胞が存在する骨化前線の周辺でも同様に、全てのMSCs表面マーカーを発現する軟骨芽細胞様細胞が観察された。

2. 脊柱靭帯由来MSCsの特性解析

①両群のMSCsとも紡錘形の線維芽細胞様形態を呈し、あきらかな群間の相違は認めなかった。

②第1継代細胞中に占めるCD34陰性、CD105陽性細胞の割合は対照群 $92.1 \pm 2.2\%$ 、骨化症群 $90.8 \pm 2.9\%$ で有意差を認めなかった。

③骨分化誘導において、骨化症群では対照群と比較し石灰化を認めるコロニーを多く認めた。Alizarin Red S染色の吸光度を計測すると、対照群 1.16 ± 0.65 、骨化症群 4.05 ± 1.68 で骨化症群は有意に骨分化能が高かった。脂肪分化誘導では、Oil Red O染色で両群とも脂肪滴の形成を認め、その吸光度は対照群 0.18 ± 0.04 、骨化症群 0.24 ± 0.04 で有

意差を認めなかった。軟骨分化誘導ではペレットの重量は対照群 $0.53 \pm 0.05\text{g}$ 、骨化症群 $0.54 \pm 0.05\text{g}$ 、最大径は対照群 $1.02 \pm 0.06\text{mm}$ 、骨化症群 $1.00 \pm 0.03\text{mm}$ であり、いずれも有意差を認めなかった。形成されたコロニー数は 192 ウェル中、対照群が 42.6 ± 5.9 ウェル、骨化症群が 29.7 ± 5.1 ウェルであり、有意差を認めなかった。

D. 考察

脊柱靭帯骨化症の病因として遺伝子、内分泌、環境因子などが報告されているが、いまだ解明されていない点が多い²⁾。また異所性骨化の起源となる細胞は不明であった。近年脊柱靭帯からMSCsが分離・同定され¹⁾、さらに黄色靭帯から単離されたMSCsがTGF- β 1に反応することから、黄色靭帯肥厚症の病因にMSCsが関係している可能性が報告されている³⁾。MSCsと異所性骨化に関して、全身の軟部組織に異所性骨化が生じる進行性骨化性線維異形成症は、遺伝子異常により血管内皮細胞が内皮間葉転換を起こし、これにより生じる間葉系幹細胞様の性質を持った細胞により異所性骨化が引き起こされることが解明された⁴⁾。また石灰性腱炎の石灰化は、腱組織に存在するMSCsのerroneous differentiationに起因するとの説が提唱されている⁵⁾。

今回の我々の結果から、MSCsは非骨化黄色靭帯より骨化黄色靭帯の血管周皮細胞において多く認められた。さらに、骨化靭帯組織では、MSCsは血管周皮領域だけでなく靭帯実質部および骨化前線周辺でも多数認め、軟骨芽細胞様細胞へと変化したことから、

血管組織からMSCsが遊走し、骨化に関与した可能性もある。また、MSCsの特性解析では、骨化症群でより高い骨分化能を有していたことから、MSCsの特性の違いが脊柱靭帯骨化の一因となっている可能性が考えられた。

今後は、脊柱靭帯骨化症の病態におけるMSCsの役割を解明するため、骨化靭帯組織内におけるMSCsの分化に関わる因子、遊走に関わる因子の発現、血管新生と骨化との関連などを検討していく予定である。さらに、MSCsの特性の違いをもたらす因子および骨分化のメカニズムを解析することで、新たな検査・治療法の開発につながることを期待される。

E. 結論

骨化脊柱靭帯におけるMSCsの局在は血管周皮細胞領域、靭帯実質部、骨化前線領域であった。また脊柱靭帯骨化症患者ではMSCsがより高い骨分化能を有していた。今後、脊柱靭帯におけるMSCsの詳細な働きを解析することにより、脊柱靭帯骨化の病態解明につながると考えている。

F. 研究発表

1. 論文発表

2. 学会発表

1) Shunfu Chin et al; Immunohistochemical localization of mesenchymal stem cells in human spinal ligament. ORS, 2013 (accepted)

2) 陳俊輔 他; ヒト脊柱靭帯における間葉系幹細胞の同定ならびにその局在の組織化学的な検討. 日整会基礎, 2012

3) 原田義史 他; 脊柱靭帯骨化症患者では

脊柱靱帯由来間葉系幹細胞の骨分化能が高い. 日整会基礎, 2012

G. 文献

- 1) Asari T et al.; Biochem Biophys Res Commun. 2012
- 2) Furukawa KI.; Pharmacol Ther. 2008
- 3) Chen YT et al.; Spine. 2011
- 4) Medici D et al.; Nat Med. 2010
- 5) Rui YF et al.; Chin med J. 2011

幹細胞由来靭帯組織発現メカニズムに関する研究

研究分担者 永田 見生 久留米大学学長

研究要旨 幹細胞から靭帯様組織の作製に成功した。この組織の特徴は、FISHにて骨融合を確認でき、mRNA、プロトアレイの結果、コラーゲンのパスウェイを呈し、動物靭帯組織の断裂部位に導入すると、1週間後にはコラーゲン繊維が再生した。これらの結果、この組織は靭帯組織であると考えられ、OPLLの靭帯骨化のメカニズムを解明するために対象組織として重要な研究である。

A. 研究目的

*In vitro*系にて靭帯組織が完成されればOPLLの医薬品開発に、発現メカニズムの解明、分子応答の研究が進むであろうことは明白である。靭帯特異的タンパク質を幹細胞に導入したところ、靭帯様組織が完成した。この組織の特徴を検証することを目的とする。

B. 研究方法

OPLL靭帯組織と骨化を呈しない靭帯組織を蛍光二次元電気泳動法にて、発現タンパク質の発現誘導プラスミドベクターを幹細胞に導入した。同じくshRNAベクターではタンパク質のノックダウンを行い、検証した。幹細胞由来靭帯組織は、mRNA解析、プロトアレイ解析を実施し、パスウェイ解析を行った。

（倫理面での配慮）

倫理委員会で承認後、インフォームドコンセント後、書面にてご承諾後、摘出組織を使用した。

C. 研究結果

幹細胞由来靭帯様組織の fluorescence in situ hybridization : FISHによる骨融合を

行った結果、染色体に取り込まれ、骨融合し、動物実験において、靭帯断裂組織は、このプラスミドを導入後、1週間後にはコラーゲン繊維の再生を確認できた。また、トランスジェニックマウスでは、野生型マウスと比較し、骨組織の変成はなかった。



図1. 幹細胞由来靭帯組織



図2. 靭帯移植組織

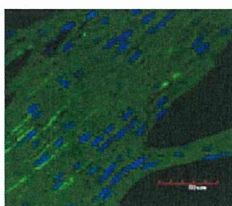


図3. 脊柱靭帯組織

免疫組織染色像

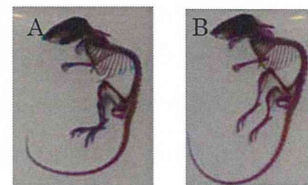


図4. 遺伝子改変マウス

A:Wt B:Tg

D. 考察

二次元電気泳動法からOPLL靭帯組織と健常靭帯組織の共通タンパク質を幹細胞に導入した結果、繊維状の組織ができ、この検証の結果、靭帯組織であると考えた。また、この組織の発現メカニズムを調べた結果、特異的なパスウェイを呈し、靭帯組織