

B. 研究方法

1. 対象

2014年に筑波大学附属病院整形外科に入院した重度胸椎 OPLL で、後方除圧固定術後にロボットスーツ HAL を用いた歩行リハビリテーションを導入した2症例である。

2. 検討項目

術後に離床が可能となった段階で、初回に両下肢用 HAL のフィッティングと椅子からの立ち上がり動作を確認した。転倒予防にハーネスを装着した状態で、1周 28m の平地コースで HAL による歩行トレーニングを行った。1回のトレーニングは HAL の脱着と休憩時間を含めて 60 分とした。頻度は週 2-3 回とし、理学療法士 2 名と医師 1 名の付き添いの元で実施した。

評価項目は、HAL 導入時と終了時に HAL を外した状態で行った 10m 歩行テスト[4] (快適歩行状態で 10m 歩行に要する時間と歩数を計測)における歩行速度、歩幅、歩行率、ASIA 分類 [5]、The walking index for SCI II (WISCI II) [6]、発生した有害事象とした。

C. 研究結果

症例 1：40 歳台、男性

主訴：歩行障害・両下肢筋力低下

現病歴：2014年3月末より右下肢しびれを自覚。4月には両下肢しびれを自覚し、前医受診。歩行困難感が出現し、精査にて胸椎 OPLL を指摘され、当院に紹介入院。

初診時身体所見：下肢筋力は徒手筋力テスト (MMT 右/左) で 3/4 と低下。立位・歩行が困

難で臍以下の体幹と両下肢全体にしびれと温痛覚・触覚低下を認めた。両下肢で振動覚と位置覚の低下と、肛門括約筋収縮の低下による便失禁を認めた。

入院時画像所見：脊髄造影 CT と MRI で T8-11 と L1-3 レベルに OPLL があり同部位で脊柱管狭窄を認めた。C2-3, C4-6 レベルにも OPLL を認めた。T10/11 レベルが最狭窄部であり、脊柱管占拠率は 80%であった。日整会点数 (JOA スコア) は 11 点中 1.5 点 (0-1-0.5-0)、ASIA 分類は D、WISCI II は 8 点であった。

手術：後方侵入で T8-12 椎弓切除と L2/3 部分椎弓切除および T7-L3 後方固定を行った。術中超音波で T10/11 レベルで骨化巣による圧迫は残存していたが、脊髄の拍動を認めた。術中 MEP で波形振幅の低下は認めなかった。手術は 9 時間 48 分、出血量は 2155g であった。術後経過：術後 2 日目にドレーン抜去し、術後 5 日目より離床リハビリテーションを開始した。術後 18 日目に起立性低血圧を生じ、離床リハビリテーションを一時中断したが、術後 25 日目より HAL を用いた歩行トレーニングを導入し、術後 46 日目までに計 9 回行った。歩行速度、歩幅、歩行率、歩容は著明に改善し、術後 47 日に両松葉杖歩行で自宅退院となった。終了時の JOA スコアは 5.5 点 (1-1.5-1-2) 点、WISCI II は 16 点に改善した (表 1)。有害事象はなかった。

症例 2：60 歳台、女性

主訴：歩行障害・両下肢筋力低下

現病歴：2014年6月中旬ごろより誘因なく歩

行時の不安定感を自覚し、T字杖を使用するようになった。7月に突然両下肢の脱力発作で歩行困難となり、前医に救急搬送された。精査にて胸椎 OPLL と診断され、当院に紹介転院となった。

初診時身体所見：下肢筋力は MMT で腸腰筋 3/2、大腿四頭筋以下 4/4 と低下。両鼠径部以遠にしびれを認め、位置覚が低下していた。

また右優位に温痛覚・触覚低下を認めた。

入院時画像所見：脊髄造影 CT および MRI で T5 椎体骨折および T3-7 レベルの OPLL を認めた。T4/5 レベルで骨化巣は不連続性で、脊柱管占拠率は 70%であった。JOA スコアは 11 点中 5.5 点(0-1.5-1-3)，ASIA 分類 D，WISCI II 0 点であった。

手術：後方侵入で T3-7 椎弓切除および T1-9 後方固定を行った。術中超音波では T4/5 レベルで骨化巣による圧迫は残存していたが、脊髄の拍動を認めた。術中 MEP で波形振幅の低

下は認めなかった。手術は 6 時間 35 分、出血量は 280g であった。

術後経過：術後 2 日目にドレーン抜去し、術後 5 日目より離床リハビリテーションを開始したが、7 日目に両下肢麻痺が出現 (MMT 0-1) した。単純 X 線および CT 評価でインプラントの設置に問題なく、MRI で硬膜外血腫は認めなかった。ず 3 週間のベッド上安静で麻痺は徐々に回復 (MMT 3) したため、術後 44 日目より HAL を用いた歩行リハビリテーションを開始し、術後 72 日目まで計 10 回行った。歩行速度、歩幅、歩行率、歩容は著明に改善し、術後 73 日に両松葉杖歩行で自宅退院となった。

終了時の JOA スコアは 6.5 点(1-1.5-1-3) 点、WISCI II は 8 点に改善した。有害事象はなかった (表 1)。

表 1. 胸椎 OPLL 術後の HAL を用いたリハビリテーション

	症例 1	症例 2	Sakakima ら
骨化巣	T8-11	T3-7	T2-10
麻痺	両側	両側	片側
手術	後方除圧固定	後方除圧固定	前方固定
導入時期	術後 3 週	術後 4 週	術後 8 週
1 回の時間	60 分	60 分	70 分
週の回数	2-3 回	2-3 回	6 回
総時間	420 分	600 分	3360 分
ASIA 分類 (導入前→終了時)	D→D	D→D	C→D
WISCI II (導入前→終了時)	8→16	0→8	0→8
経過	自宅退院	自宅退院	転院

D. 考察

Sakakima ら[7]は、片麻痺となった胸椎 OPLL の 1 例に両下肢用 HAL を用い、術後早期の導入が歩行機能の改善に効果があったことを報告している。今回我々は、両下肢麻痺で歩行困難となった胸椎 OPLL の 2 症例に、術後 3-4 週の早期から HAL を用いたリハビリテーションを導入し、比較的短期間で著明な歩行能力の改善を得ることができた。

ロボットスーツ HAL は、装着者の随意的な四肢の運動に伴い皮膚表面から検出される生体電位信号と足底センサーからの信号を基に、コンピューター制御された関節外速アクチュエーターによって四肢運動をアシストすることができる装着型人支援ロボットである。脳卒中や脊髄損傷の慢性期に HAL を用いた研究では、HAL により補助された反復運動が運動機能を改善させることが示されている [1, 2]。

今回の 2 症例における歩行機能の回復機序についても、筋力低下と痙性や運動失調により歩行困難となった状態でも、HAL を用いて補助することで歩行動作の反復運動を行うことが可能となったことで、筋力の回復が促進された可能性がある。また、補助された随意動作の感覚フィードバックが中枢神経系に作用し、深部覚や位置覚・脊髄後索路の機能が改善したことで、協調運動機能の改善が得られた可能性がある。

胸椎 OPLL は術直後のみならず、術後の動的要素によっても麻痺が発生する危険性がある。症例 2 では術後に両下肢麻痺の増悪で 3 週間の安静臥床後に HAL を用いたリハビリテ

ーションを約 1 か月行ったが、最終的に術後 73 日に両松葉杖歩行で自宅退院できたという経過は極めて良好である。今回の検討からは、より早期に HAL を用いた歩行トレーニングを導入することが、重度 OPLL で歩行困難となった患者の歩行機能の回復に良い影響をもたらす可能性が示唆された。

E. 結論

重度胸椎 OPLL で歩行困難となった症例に対する術後早期からのロボットスーツ HAL を用いた歩行リハビリテーションは、筋力の回復のみならず協調運動障害の改善に有効であることが示唆された。

参考文献

1. Kawamoto H, Kiyotaka K, Yoshio N et al: Pilot study of locomotion improvement using hybrid assistive limb in chronic stroke patients. BMC Neurol. 2013; 13:141
2. Kubota S, Nakata Y, Eguchi K et al: Feasibility of rehabilitation training with a newly developed wearable robot for patients with limited mobility. Arch Phys Med Rehabil. 2013; 94:1080-1087
3. Arch M, Cruciger O, Sczesny-Kaiser M et al: Voluntary driven exoskeleton as a new tool for rehabilitation in

chronic spinal cord injury: a pilot study. *The Spine J.* 2014 (in press)

4. Van Hedel HJ, Wirz M, Curt A. Improving walking assessment in subjects with an incomplete spinal cord injury: responsiveness. *Spinal Cord* 2006; 44:352-356.
5. Piepmeier JM, Jenkins NR. Late neurological changes following traumatic spinal cord injury. *J Neurosurg* 1988; 69:399-402.
6. Ditunno JF, Ditunno PL. Walking index for spinal cord injury (WISCI II): scale revision. *Spinal Cord* 2001; 39:654-656.
7. Sakakima H, Ijiri K, Matsuda F et al: A newly developed robot suit hybrid assistive limb facilitated walking rehabilitation after spinal surgery for thoracic ossification of the posterior longitudinal ligament: A case report. *Case Reports in Orthop.* 2013; 2013:621405.

F. 研究発表 論文発表

1. Kawaguchi Y, Matsumoto M, Iwasaki M, Izumi T, Okawa A, Matsunaga S, Chiba K, Tsuji T, Yamazaki M, Fujimori T, Yoshii T, Toyama Y. New classification system for ossification of the posterior longitudinal ligament using CT images. *J Orthop Sci.* 19(4): 530-536, 2014.
2. Takahashi H, Aoki Y, Kanajima A, Sonobe M, Terajima F, Saito M, Taniguchi S, Yamada M, Watanabe F, Furuya T, Koda M, Yamazaki M, Takahashi K, Nakagawa K. Phosphorylated neurofilament subunit NF-H becomes elevated in the cerebrospinal fluid of patients with acutely worsening symptoms of compression myelopathy. *J Clin Neurosci.* 2014 July 22. [Epub ahead of print]
3. Kamiya K, Koda M, Furuya T, Kato K, Takahashi H, Sakuma T, Inada T, Ota M, Maki S, Okawa A, Ito Y, Takahashi K, Yamazaki M. Neuroprotective therapy with granulocyte colony-stimulating factor in acute spinal cord injury: a comparison with high-dose methylprednisolone as a historical control. *Eur Spine J.* 2014 Jun 25. [Epub ahead of print]
4. Koda M, Furuya T, Kato K, Mannoji C, Hashimoto M, Inada T, Kamiya K, Ota M, Maki S, Okawa A, Takahashi K, Ishikawa T, Yamazaki M. Delayed granulocyte colony-stimulating factor

- treatment in rats attenuated mechanical allodynia induced by chronic constriction injury of the sciatic nerve. Spine (Phila Pa 1976). 39(3): 192-197, 2014.
5. Inada T, Takahashi H, Yamazaki M, Okawa A, Sakuma T, Kato K, Hashimoto M, Hayashi K, Furuya T, Fujiyoshi T, Kawabe J, Mannoji C, Miyashita T, Kadota R, Someya Y, Ikeda O, Hashimoto M, Suda K, Kajino T, Ueda H, Ito Y, Ueta T, Hanaoka H, Takahashi K, Koda M. Multicenter prospective non-randomized controlled clinical trial to prove neurotherapeutic effects of granulocyte colony-stimulating factor for acute spinal cord injury: analyses of follow-up cases after at least 1 year. Spine (Phila Pa 1976). 39(3): 213-219, 2014.
6. 橋本光宏, 山崎正志, 望月真人, 山縣正庸, 池田義和, 中島文毅, 高橋和久. 頰髄症に対する頰椎長範囲前方除圧固定術の10年以上の長期成績. J Spine Res 5(2): 162-165, 2014.
- 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

後縦靭帯骨化症の骨化前線部の内軟骨骨化における
軟骨細胞分化・成熟に関する転写紳士発現に関する研究

研究分担者 杉田 大輔 福井大学整形外科助教
中嶋 秀明 福井大学整形外科助教
内田 研造 福井大学整形外科准教授

研究要旨 OPLL の骨化巣の進展様式は内軟骨骨化の形態をとるといわれている。本研究では頸椎前方除圧固定術を行った OPLL 患者から採取した骨化巣を含んだ後縦靭帯組織を利用して OPLL 骨化前線部の細胞の持つ遺伝子学的特性、転写因子の組織学的な局在について検討した。マイクロアレイ解析では、骨化巣を含むサンプルで *Ihh*、*Runx 2* の遺伝子発現の増加がみられ、その他、*Ihh signaling* の *GLI2*、*GLI3* や *Sox9*、*BMP2*、*VEGF*、*COL 11 A2* などの遺伝子発現の上昇がみられた。また、*Hedgehog signaling* の pathway 解析では *Ihh*、受容体である *GLI2*、*GLI3*、*PTCH* を含む 7 個の遺伝子の発現上昇が確認できた。OPLL から得た培養細胞に *cyclic tensile strain* を加えたところ、*Ihh signaling* に関与する遺伝子の発現変化が確認でき、また Western Blotting 法でタンパク発現量の半定量的評価では、*cyclic tensile strain* によるタンパク発現の増加がみられた。免疫組織学的検討では骨化前線周囲に局在がみられ、*Ihh*、*Sox9* は前肥大軟骨細胞、*Runx2* は肥大軟骨細胞で陽性細胞が多く観察できた。四肢の内軟骨骨化で重要な役割を果たす *Ihh signaling* の *cyclic tensile strain* による発現亢進が OPLL 骨化巣進展に関与している可能性が考えられた。

A. 研究目的

これまで我々はヒト頸椎 OPLL の手術で得られた標本を観察して、OPLL 骨化前線部の組織学的な特徴や、多様なサイトカインや成長因子の発現とその局在を骨化に関する重要な所見と考え報告してきた¹⁻³⁾。

OPLL の骨化巣は内軟骨骨化と同様の形態をとることが指摘されており、四肢の内軟骨骨化では Indian *Hedgehog* (*Ihh*)とその *signaling* が重要な因子と考えられている。本研究では OPLL 骨化前線部における *Ihh* の発現とその局在を OPLL 前方手術から

得られた培養細胞および標本を用いて検討を行った。

B. 研究方法

2013 年までに頸椎 OPLL に対して前方除圧固定術を行った 185 例のうち、骨化巣を *en bloc* に摘出した 35 例の標本を用いて実験を行った。標本から *Explant* 法で培養細胞を得て *Flexercell 3000* を用いて *cyclic tensile strain* を 24 時間与え、strain 前後の培養細胞の遺伝子発現の変化を *Microarray* を用いて解析を行った。

また、strainを加えた培養細胞における Ihh signaling のタンパク発現量の変化を Western Blotting 法を用いて半定量化して評価した (Ihh, Runx 2, Sox9, PTHrP, Gli2, Gli3)。

得られた標本からは薄切切片を作成し骨化前線部における Ihh signaling の局在を検討した (Ihh, Runx 2, Sox9, GLI2, GLI3, SMO)。

(倫理面での配慮)

手術前の患者には摘出した骨化巣の医学的な研究目的の使用について十分な説明を行い、書類での同意を得た。得られた標本はすべて OPLL の骨化形態と年齢、性別のみを記録して暗号化し個人情報の保護に努めた。

C. 研究結果

マイクロアレイでは OPLL の 2 サンプルで Ihh, Runx 2 の遺伝子発現の増加がみられた。その他、Ihh signaling の GLI2, GLI3 や Sox9, BMP2, VEGF, COL 11 A2 などの遺伝子発現の上昇がみられた。また、Hedgehog signaling の pathway 解析では Ihh, 受容体である GLI2, GLI3, PTCH を含む 7 個の遺伝子の発現上昇が確認できた。

Western Blotting 法によるタンパク発現量の半定量化では Cyclic tensile strain によって Ihh は 12 時間以降、Sox9 は 24 時間以降優位にタンパク発現量が上昇しており、GLI2, GLI3 は 6 時間でタンパク発現量が優位に増加していた。

免疫組織学的検討では Ihh, Sox9 は前肥大軟骨細胞、Runx2 は肥大軟骨細胞で陽性細胞が多く観察できた。PTHrP は前肥大軟骨細胞、肥大軟骨細胞層に多く見られ、GLI2, GLI3 は前肥大軟骨細胞層に陽性細胞が多くみられた (図 1)。

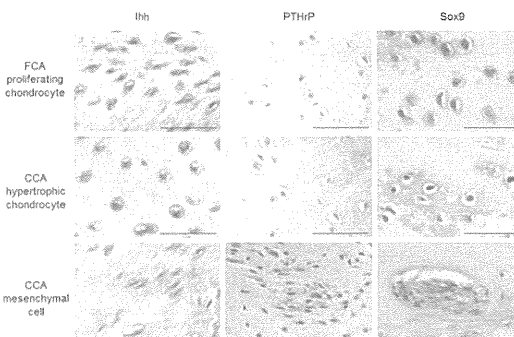


図 1

D. 考察

OPLL 骨化巣進展において cyclic tensile strain は重要な local factor として考えられており、これまで我々は cyclic tensile strain による組織学的、生物学的な変化についても報告してきた⁴⁾。

また、OPLL は多因子疾患であり特に近年は遺伝子学的研究が進み、OPLL と関連のある遺伝子や染色体について報告がされているがそれらの遺伝子と cyclic tensile strain の関係は未だ解明されていない。

Ihh signaling は正常骨幹端部での軟骨成長において重要な役割を持つが、Ihh は PTHrP との共作用のみでなく Sox9, Runx2 とそれぞれ連携することで軟骨細胞分化および肥大に促進的、抑制的の両方の面で働いている可能性が報告されており^{5,6)}、OPLL において Ihh とその受容体の発現が見られたことから軟骨細胞の肥大、成熟の調節に関わっている可能性が考えられた。

我々のこれまでの研究を踏まえると OPLL において局所因子としての cyclic tensile strain が加わることで骨化前線での弾性繊維の変性、新生血管の増生と間葉系の未分化細胞の流入に加え、軟骨細胞の肥大、分化が autocrine / paracrine に進行していく可能性が考えられた。

E. 結論

1. ヒト OPLL 靱帯由来培養細胞を用いて cyclic tensile strain 負荷による遺伝子発現量変化をマイクロアレイを用いて観察した
2. 軟骨細胞の肥大、分化に関与する Ihh と受容体 Gli2, Gli3 についてマイクロアレイでその遺伝子発現量の増加が見られ、Western Blotting 法でも mRNA 発現量の増加を確認できた
3. OPLL 骨化前線で cyclic tensile strain によって Ihh、受容体の発現の亢進が軟骨細胞分化、肥大の調節に関わり骨化巣進展に寄与している可能性が考えられた

【Acknowledgment】

This work was supported by Health Labour Sciences Research Grant.

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

1. Uchida K, Nakajima H, Guerrero AR, Johnson WE, Masri WE, Baba H. Gene therapy strategies for the treatment of spinal cord injury. *Ther Deliv* 5 (5): 591-607, 2014
2. Uchida K, Nakajima H, Takeura N, Yayama T, Guerrero AR, Yoshida A, Sakamoto T, Honjoh K, Baba H. Prognostic value of changes in spinal cord signal intensity on magnetic resonance imaging in patients with cervical compressive myelopathy. *Spine J* 14 (8):

1601-1610, 2014

3. Sugita D, Yayama T, Uchida K, Kokubo Y, Nakajima H, Yamagishi A, Takeura N, Baba H. Indian Hedgehog signaling promotes chondrocyte differentiation in enchondral ossification in human cervical longitudinal ligament. *Spine* 2013 Oct 15; 38(22): 1388-1396.

2. 学会発表

1. 杉田大輔、内田研造、中嶋秀明、本定和也、坂本拓己、山岸淳嗣、馬場久敏：メカニカルストレスはヒト OPLL においてインディアンヘッジホッグ (Ihh) とその受容体の発現増加を促進させ軟骨細胞の成長を進行させる、第 29 回日本整形外科学会基礎学術集会 (2014. 10. 9-10)、鹿児島
2. Sugita D, Uchida K, Nakajima H, Watanabe S, Yoshida A, Baba H. Indian Hedgehog signaling induces hypertrophy and differentiation of chondrocytes in the ossification front of human cervical OPLL. *Euro Spine* 2014 (October 1-3) Lyon, France.
3. 杉田大輔、内田研造、中嶋秀明、竹浦直人、吉田藍、馬場久敏。頸椎後縦靱帯骨化症の骨化巣における軟骨細胞分化・肥大に関する遺伝子学的検討。第 43 回日本脊椎脊髄病学会学術集会 (2014. 4. 17-19)、京都
4. 杉田大輔、内田研造、中嶋秀明、竹浦

直人、吉田藍、馬場久敏. 頸椎 OPLL の骨化前部における軟骨細胞分化、肥大に関する転写因子のマイクロアレイを用いた検討. 第122回中部日本整形外科災害外科学会・学術集会 (2014.4.11-12)、岡山

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

文献

- 1、Furusawa N, Baba H, Imura S, Fukuda M. Characteristics and mechanisms of the ossification of posterior longitudinal ligament in the tip-toe walking Yoshimura (*twy*) mouse. *Eur J Histochem*, 1996; 40(3): 199-210.
- 2、Sato R, Uchida K, Kobayashi S, Yayama T, Kokubo Y, Nakajima H, Takamura T, Bangirana A, Itoh H, Baba H. Ossification of the posterior longitudinal ligament of the cervical spine : histopathological findings around the calcification and ossification front. *J Neurosurg Spine*. 2007 Aug; (2): 174-183.
- 3、Uchida K, Yayama T, Sugita D, Nakajima H, Yamagishi A, Takeura N, Baba H. Initiation and progression of ossification of the posterior longitudinal ligament of the cervical spine in heredity in spinal hyperostotic mouse (*twy/twy*). *Eur Spine J*. 2012 Jan; 21(1): 149-155.
- 4、Cai HX, Yayama T, Uchida K, Nakajima H, Sugita D, Guerrero AR, Yoshida A, Baba H. Cyclic tensile strain facilitates the ossification of ligamentum flavum through β -catenin signaling pathway: in vitro analysis. *Spine* 2012 May15; 37(11): 639-646.
- 5、Shimoyama A, Wada M, Ikeda F, Hata K, Matsubara T, Nifuji A, Noda M, Amano K, Yamaguchi A, Nishimura R, Yoneda T. Ihh / Gli2 signaling promotes osteoblast differentiation by regulating Runx 2 expression and function. *Mol Biol Cell*. 2007 Jul; 18(7): 2411-2418.
- 6、Amano K, Hata K, Sugita A, Takigawa Y, Ono K, Wakabayashi M, Kogo M, Nishimura R, Yoneda T. Sox 9 family members negatively regulate maturation and calcification of chondrocytes through upregulation of parathyroid hormone-related protein. *Mol Biol Cell*. 2009 Nov; 20(21): 4541-4551.

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業(難治性疾患政策研究事業)
分担研究報告書

脊椎後縦靭帯骨化症原因候補遺伝子の組織学的発現解析

研究分担者 小宮節郎 鹿児島大学整形外科 教授

研究要旨 後縦靭帯骨化症(OPLL)の原因候補遺伝子について、我々は全ゲノム関連解析(GWAS)プロジェクトに参加することによって疾患感受性ゲノム領域を絞るに至った。しかし実際のOPLL病理に関わっているかは、候補遺伝子各々について少なくとも後縦靭帯やOPLL組織におけるコード蛋白の発現を確認する必要がある。今年度はその組織採取の為の情報収集と免疫染色の為の準備を行った。

A. 研究目的

OPLL 原因候補遺伝子コード蛋白の OPLL 組織発現を検討し、GWAS 及び我々独自の知見から抽出した候補遺伝子の OPLL 病理への関わりを予想する事。その為に、OPLL 及び対照症例を選定し、組織をどのように採取するか戦略を練りその計画を立てる。

B. 研究方法

GWAS 候補遺伝子のうち STK38L、及び我々の過去の知見から内軟骨性骨化に重要と考えられる SnoN (Kawamura I, et al, *J Biol Chem*, 287:29101-29113, 2012) と Smpd3 (Kakoi H, et al, *J Biol Chem* 289: 8135-8150, 2014) について、免疫組織化学染色を行う。免疫染色の実際については、マウス軟骨サンプルにおいて熟練しているが、抗体が人サンプルにおいても有効か、ヒト細胞株を用いた細胞免疫染色やウエスタンブロットを前もって施行する。OPLL 組織に関しては頸椎前方固定術適応症例の選定を行い、症例が少なければ近似疾患である腰椎黄色靭帯骨症(OYL)の組織サンプルも考慮する。本研究班の他施設との連携を無駄なく行う為の方法論を練るために、研

究班班会議に参加して情報収集と議論を交わす。また、拡大 GWAS の為の新たな採血に向けて、症例のリストアップを行う。

(倫理面での配慮)

組織採取、及び採血に関しては、全て学内臨床研究倫理委員会の承認を得る予定であり、その準備を行う。十分なインフォームドコンセントを行い、サンプルと情報の管理に間違いや漏洩がないように細心の注意を払う。

C. 研究結果

現時点は、OPLL 及び OYL 組織、採血の為の症例選定を行っているところである。STL38L、SnoN そして Smpd3 についてヒト軟骨細胞株における蛋白発現の確認を行い、検出できた。従って抗体の有効性と至適条件を把握できた。

D. 考察

今後対象症例について臨床倫理委員会に研究申請を行える状態にあり、研究の進行が期待出来る。臨床サンプル採取が可能になれば、すぐに実験に移行できる条件が整っている。

E. 結論

本年度は、本研究対象症例抽出と情報収集を行い、研究遂行の為の準備を推進した。

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

Nakajima M, Takahashi A, Tsuji T, Karasugi T, Baba H, Uchida K, Kawabata S, Okawa A, Shindo S, Takeuchi K, Taniguchi Y, Maeda S, Kashii M, Seichi A, Nakajima H, Kawaguchi Y, Fujibayashi S, Takahata M, Tanaka T, Watanabe K, Kida K, Kanchiku T, Ito Z, Mori K, Kaito T, Kobayashi S, Yamada K, Takahashi M, Chiba K, Matsumoto M, Furukawa K, Kubo M, Toyama Y, [Genetic Study Group of Investigation Committee on Ossification of the Spinal Ligaments including Kawamura I], Ikegawa S. A genome-wide association study identifies susceptibility loci for ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine. *Nat Genet* 46: 1012-1016, 2014.

2. 学会発表

なし

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

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

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業(難治性疾患政策研究事業)
分担研究報告書

片開き式頸椎椎弓形成術後の laminar closure に関する研究

研究分担者 田中 雅人 岡山大学整形外科准教授

研究要旨 laminar closure (LC) は片開き式頸椎椎弓形成術の問題点のひとつであり、後弯変形や OPLL が危険因子として報告されている。後弯変形予防のために棘突起形成を併用した平林変法と従来法について術前頸椎前弯角と LC の観点から比較検討した。術前前弯角が 10° 以下の症例において平林変法は従来法より LC の発生を減少させる可能性がある。OPLL の存在は LC の危険因子とはならない。

A. 研究目的

頸椎後縦靭帯骨化症 (OPLL) および頸椎症 (OA) による頸髄症に対する後方からの手術術式としては頸椎椎弓形成術が最も一般的である。椎弓形成術には片開き式椎弓形成術と両開き式椎弓形成術があるが、当科では主に片開き式椎弓形成術を行ってきた。Laminar closure (LC) は片開き式頸椎椎弓形成術の問題点のひとつあり、頸髄症再発の原因となる。LC の危険因子として後弯変形や OPLL の存在が示唆されている。我々は頸椎前弯の減少した症例に対して後弯変形予防のため棘突起形成を併用した術式 (平林変法) を施行してきた。同術式と従来法における治療成績、特に LC に対する頸椎前弯角および OPLL の影響を明らかにすることが本研究の目的である。

B. 研究方法

当科で手術を施行し、経過観察期間が6ヵ月以上の OPLL による頸髄症 59 例および OA による頸髄症 45 例を対象とした。術式は平林変法が 18 例 (M 群) (OPLL 10 例、OA 8 例) で従来法が 86 例 (O 群) (OPLL 49 例、

OA 37 例) であった。術前前弯角と LC の発生頻度、術前後の JOA スコアについて検討した。前弯角は、C2 と C6 椎体後縁のなす角として計測した。また頸椎単純 X 線側面像での脊柱管径/椎体径を測定し、術直後から 15%以上の減少を LC ありとした。

(倫理面での配慮)

十分な説明によるインフォームドコンセントを得る。個人情報には匿名化を行い、厳重に管理する。

C. 研究結果

M 群は全例術前前弯角が 10° 以下であった。O 群は術前前弯角 10° 以下が 21 例 (OPLL 16 例、OA 5 例)、 11° 以上が 65 例 (OPLL 33 例、OA 32 例) であった。OPLL と OA を合わせた全体において、前弯角 10° 以下での比較では LC 発生症例の割合は M 群が 39% (7/18)、O 群 : 76% (16/21) で、M 群が有意に少なかった ($p < 0.05$)。LC 発生椎弓数の割合においても M 群 : 17% (12/70)、O 群 : 38% (30/80) と M 群が有意に少なかった ($p < 0.01$)。OPLL 例のみでの LC 発生率をみ

ると、前弯角 10° 以下における M 群は 30% (3/10)、O 群は 75% (12/16) であった。また OPLL 例の LC 発生椎弓数は M 群が 13% (5/40)、O 群が 31% (19/62) であった。OPLL 例と OA 例での LC 発生症例率および LC 発生椎弓数率に大差を認めなかった。JOA スコア改善率は、M 群 : 46%、O 群 : 52% (前弯角 10° 以下 : 44%、10° 以上 : 54%) で有意差を認めなかった。

D. 考察

従来法における LC の発生頻度は、術前頸椎前弯角の減少に伴い増加していた。また LC の発生率は OA 群と OPLL 群で差を認めなかった。平林変法は、棘突起形成によって片側の傍脊柱筋附着部を温存でき、後弯変形の進行に有効であるため、術前前弯角の減少した症例に用いられる傾向にあった。そのような症例は LC のリスクも上昇するが、平林変法は従来法より LC の発生を減少させる可能性が示唆された。

E. 結論

術前前弯角が 10° 以下の症例において平林変法は従来法より LC の発生を減少させる可能性がある。OPLL の存在は LC の危険因子とはならない。

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

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

第 87 回日本整形外科学会

2014. 5. 22-25

片開き式頸椎椎弓形成術後の laminar closure に関する研究 -従来法と棘突起

形成を併用した平林変法との比較-

山根健太郎、田中雅人、杉本佳久、荒瀧慎也、瀧川朋亨、鉄永倫子、馬崎哲朗、尾崎修平、篠原健介、尾崎敏文
日整会誌 2014, 88(2), S207

8th Asia Pacific Cervical Spine Meeting
2014. 11. 13-15

Kentaro Yamane, Masato Tanaka, Yoshihisa Sugimoto, Shinya Arataki, Tomoyuki Takigawa, Toshifumi Ozaki

Modified Open-door Laminoplasty Decreased the Incidence of Lamina Closure - Comparison of Modified and Traditional Open-door Laminoplasty

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

進行性骨化性線維異形成症例における滑膜性骨軟骨腫症に関する研究

研究分担者 中島康晴 九州大学整形外科 准教授

研究要旨 過去に進行性骨化性線維異形成症（以下 FOP）における滑膜性骨軟骨腫症の合併を調査し、2 例に股関節滑膜性骨軟骨腫症を認められることを報告した。今回、その経過について調査した。2 例のうち、1 例（34 歳女性）は 20 歳時点で数個の骨軟骨腫が認められるが、その後の増加はなかった。しかし、残り 1 例（11 歳男児）では極めて多数の骨軟骨腫が経年的に増加しており、さらに locking などの臨床症状も呈するようになった。

A. 研究目的

FOP に合併する滑膜性骨軟骨腫症を調査した。

B. 研究方法

当科および北九州八幡総合病院に通院中の FOP 症例 10 例で検討した。

（倫理面での配慮）

すべての個人情報情報は匿名化した。

C. 研究結果

症例 1：34 歳 女性

10 歳代に確定診断された FOP 症例。初診時、すでに両股関節に滑膜性骨軟骨腫（4～5 個）が確認された。経時的に増大したが、20 歳以降の増悪傾向はなく、股関節痛はない。しかし軽度の変形性股関節症性変化と屈曲は約 90 度と可動域制限を認める。

症例 2：11 歳 男児

1 歳時に背部の骨化で診断された FOP 症例。7 歳までの X 線では明らかな左股関節内骨化像はない。8 歳時の X 線で骨化した小腫瘍の存在が確認され、その後おびただしい数の滑膜性骨軟骨腫が確認される。

可視化される骨軟骨腫はその後も経年的に増加しており、腫瘍数の増加および骨軟骨腫の一部骨化がその理由と思われる。locking 様の出現頻度が増し、股関節痛の原因となっている。右股関節には明らかな骨軟骨腫はない。

D. 考察 E. 結論

文献上は、1993 年にほぼ同様の所見を示す股関節内滑膜性骨軟骨腫の 1 例が報告されている。FOP の本態である異所性骨化ではないものの、関連する合併症の可能性があり、今後の経過観察を要する。

F. 健康危険情報
特記事項なし。

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
なし

FOP における手と頸椎のレントゲン学的特徴研究
研究分担者 鬼頭 浩史 名古屋大学整形外科准教授

研究要旨 FOP では早期に正確な診断を行って医原性の骨化、外傷を契機とした骨化などを予防することが重要である。FOP における母趾の短縮や変形はよく知られているが、母趾に異常を認めないものも散見される。一方、母指の短縮や頸椎の異常は FOP でしばしば認められる X 線学的所見である。本研究では、18 例（平均年齢 13.9 歳）の FOP 症例の手および頸椎の X 線学的な異常について定量的に評価した。母指末節骨の相対的短縮は全例に認め、第一中手骨の短縮は低年齢の FOP 症例で著明であった。また 4 歳以上の症例では、頸椎椎体の高さが前後径に比して大きかった。さらに、棘突起の前後径および高さは低年齢において著明に増大していた。これら頸椎の異常所見は、母趾に異常を認めなかった 2 例においても認めた。母指の短縮、頸椎棘突起の肥厚などは年少時より認められ、特徴的な母趾変形のない FOP 症例に対するレントゲン学的早期診断に極めて有用である。

A. 研究目的

FOP は BMP の受容体である ACVR1/ALK2 の恒常的活性化変異によって発症し、筋肉や腱などの軟部組織に進行性の骨化を生じる難病である。FOP では外傷や手術侵襲などで異所性骨化が増悪することが知られている。有効な治療法がない現状では、早期に確実な診断をすることにより避けられる骨化を少しでも防ぐことが重要となる。

FOP では外反母趾など母趾の短縮や変形は出生直後より存在することが知られている。我々はそれに加えて、母指の短縮や頸椎後方成分の肥厚も早期から認められる特徴であると報告した(J Bone Joint Surg Am, 2011)。本研究では、母指と頸椎の X 線学的異常所見を定量化し、FOP の早期診断に寄与する X 線学的所見を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

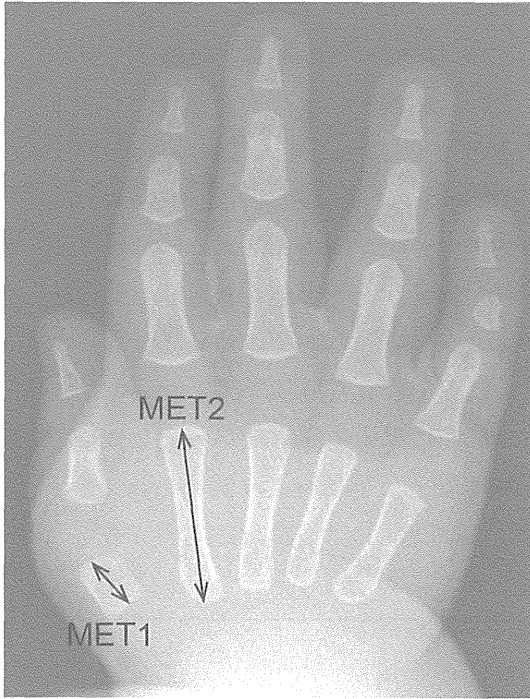
FOP 症例 18 例（男 9 例、女 9 例）、平均年齢 13.9 歳（0～39 歳）について、両手正面および頸椎側面の単純レントゲンを検討した。14 例に対して ALK2 の遺伝子解析を施行し、13 例は R206H、1 例は R258S の変異を認めた。

手では第一（MET1）および第二中手骨（MET2）、母指基節骨（P1）および母指末節骨（P1）の長さを計測し、MET2/MET1、MET2/P1、MET2/D1、MET1/P1、MET1/D1、および P1/D1 の比を算出した。

頸椎では、第 5 頸椎椎体の高さ（H）および幅（D）、棘突起の高さ（SH）および幅（SD）を計測し、H/D、SH+SD/D の比を算出した。

C. 研究結果

手部レントゲン所見：14例（男8例、女6例）、26手について検討した。年齢、性別に関わらず MET2/D1 は+1SD 以上であった。低年齢症例では、MET2/MET1 が著明に低下していた（図1、2）。MET2/P1 は低年齢症例で増大していたが、年齢とともに正常化する傾向にあった。MET1/P1、MET1/D1、P1/D1 には明らかな特徴は認めなかった。



る傾向にあった。MET1/P1、MET1/D1、P1/D1 には明らかな特徴は認めなかった。

図1：8ヶ月男児、第一中手骨の著明な短縮

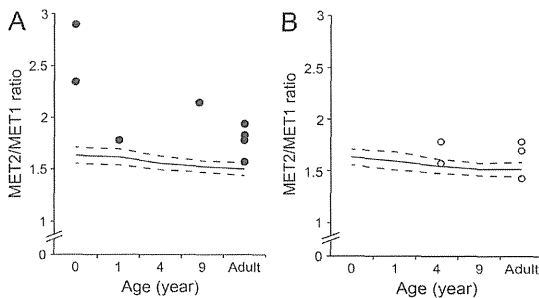


図2：MET2/MET1比。A：男性、B：女性

頸椎レントゲン所見：14例（男7例、女7例）の頸椎側面XPを評価した。H/Dは4歳以上の症例で+2SDを超えていた。また、SH+SD/Dは乳児1例を除いてすべて+2SD以上であった（図3、4）。

図3：8歳男児、頸椎棘突起の著明な肥厚

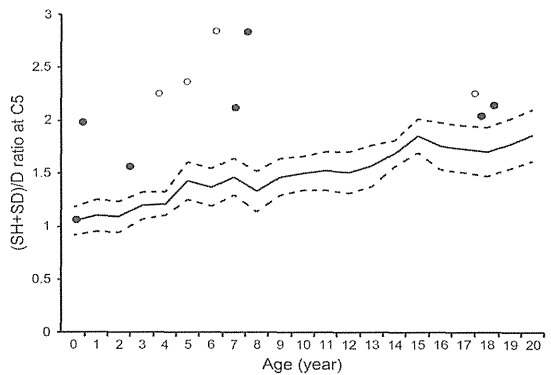
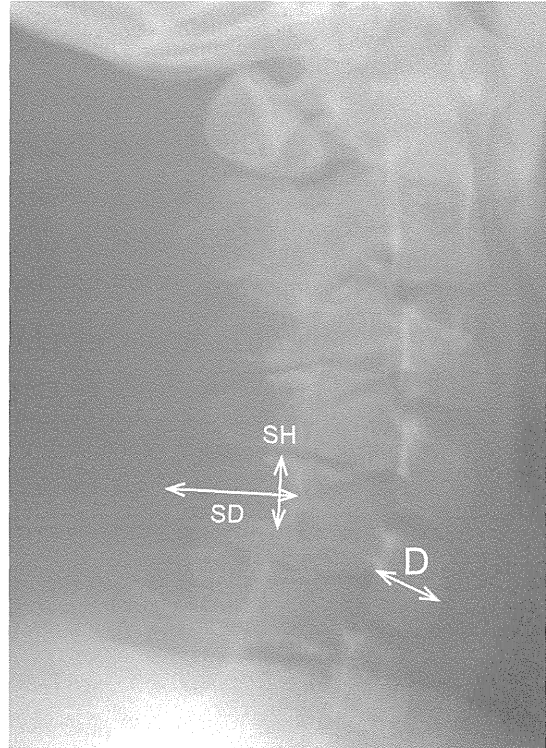


図4：SH+SD/D比。●：男性、○：女性

D. 考察

本研究で我々はFOPにおける母指の短縮、高い頸椎椎体および棘突起の過成長を定量的に明らかにした。

これまでの報告では、母指の短縮は50%程度に認められるとされていたが、もっと高頻度にこの変形が認められることがわかった。特に、乳幼児では第一中手骨の短縮が著明であり、この所見はFOPの早期診断に有用である。

頸椎では、成人例の90%以上に facet の

癒合を認めるという報告があるが、頸椎の異常所見やその頻度を縦断的に検討した報告はない。本研究では、64%でH/D比が+2SD以上、73%でSH+SD/D比が+2SD以上であることを明らかにした。これら頸椎の異常所見は乳幼児期でより著明であることから、幅がせまく高い頸椎椎体および棘突起の肥厚はFOPの早期診断に有用である。

R206Hの変異では表現型に大きな差がないといわれてきたが、1例はR206H変異を有するにも関わらず正常な母趾を呈していた。また、非典型的な変異であるR258Sの症例でも母趾の異常を欠いていた。しかし、これら母趾に明らかな異常がなかった2例においても、前述の頸椎の異常所見は明らかであったことから、本研究で示した母指や頸椎のX線学的特徴は、母趾変形を伴わないFOP症例に対する早期診断の一助なると思われる。

E. 結論

第一中手骨および母趾末節骨の短縮、幅が狭く高い頸椎椎体および棘突起の肥厚はFOPでしばしば認められる異常所見であり、それら所見の定量的なレントゲン計測はFOPの早期診断に有用である。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hoover-Fong J, Sobreira N, Jurgens J, Modaff P, Blout C, Moser A, Kim OH, Cho TJ, Cho SY, Kim SJ, Jin DK, Kitoh H, Park WY, Ling H, Hetrick KN, Doheny KF, Valle D, Pauli RM. Mutations in PCYT1A, encoding a key regulator of phosphatidylcholine

metabolism, cause spondylometaphyseal dysplasia with cone-rod dystrophy. *Am J Hum Genet* 94:105-112, 2014

2. Matsushita M, Kitoh H, Kaneko H, Mishima K, Itoh Y, Tokita Y, Ishiguro N. A novel in-frame deletion of the *RUNX2* gene causes a classic form of cleidocranial dysplasia. *J Bone Miner Metab* 32:96-99, 2014
3. Matsushita M, Kitoh H, Michigami T, Tachikawa K, Kaneko H, Mishima K, Ishiguro N. Benign prenatal hypophosphatasia: a treatable disease not to be missed. *Ped Radiol* 44:340-343, 2014
4. Okabe YT, Kondo T, Mishima K, Hayase Y, Kato K, Mizuno M, Ishiguro N, Kitoh H. Biodistribution of locally or systemically transplanted osteoblast-like cells. *Bone Joint Res* 3:76-81, 2014
5. Mishima K, Kitoh H, Haga N, Nakashima Y, Kamizono J, Katagiri T, Susami T, Matsushita M, Ishiguro N. Radiographic characteristics of the hand and cervical spine in fibrodysplasia ossificans progressiva. *Intractable Rare Dis Res* 3:46-51, 2014
6. Kitoh H, Kaneko H, Mishima K, Matsushita M, Kadono I, Nishida Y, Ishiguro N. Early and late fracture following extensive limb lengthening in achondroplasia and hypochondroplasia. *Bone Joint J* 96-B:1269-1273, 2014

7. Kaneko H, Kitoh H, Mishima K, Matsushita M, Izumi K, Naoki Ishiguro, Hattori T. Factors associated with an unfavourable outcome after Salter innominate osteotomy in patients with unilateral developmental dysplasia of the hip: Does occult dysplasia of the contralateral hip affect the outcome? *Bone Joint J* 96-B:1419-1423, 2014
 8. Matsushita M, Kitoh H, Mishima K, Nishida Y, Ishiguro N. A case of severe proximal focal femoral deficiency with overlapping phenotypes of Al-Awadi-Raas-Rothschild syndrome and Fuhrmann syndrome. *Ped Radiol* (in press)
 9. Matsushita M, Kitoh H, Subasioglu A, Colak FK, Dundar M, Mishima K, Nishida Y, Ishiguro N. A glutamine repeat variant of the RUNX2 gene causes cleidocranial dysplasia. *Mol Syndromol* (in press)
 10. Olney RC, Prickett TCR, Espiner EA, Mackenzie WG, Duker A, Ditro C, Zabel B, Hasegawa T, Kitoh H, Aylsworth AS, Bober MB. Tissue resistance to C-type natriuretic peptide (CNP) increases CNP concentrations in plasma: evidence from subjects with specific skeletal dysplasias. *J Clin Endocrinol Metab* (in press)
2. 学会発表
1. 杉浦洋、鬼頭浩史、三島健一、松下雅樹、長谷川幸、石黒直樹、服部義、金子浩史、岩田浩志、北村暁子. Focal fibrocartiliginous dysplasia (FFCD) の3例. 第29回東海小児整形外科懇話会 2014.2.8 (名古屋)
 2. 松下雅樹、鬼頭浩史、三島健一、門野泉、杉浦洋、長谷川幸、石黒直樹. Metaphyseal anadysplasia の自然経過. 第29回東海小児整形外科懇話会 2014.2.8 (名古屋)
 3. 鬼頭浩史、三島健一、松下雅樹、杉浦洋、石黒直樹. 軟骨無(低)形成症に対する培養骨髄細胞移植を併用した骨延長術. 第27回日本創外固定骨延長学会 2014.3.7-8 (大阪)
 4. Hiroshi Kitoh, Hiroshi Kaneko, Kenichi Mishima, Masaki Matsushita, Naoki Ishiguro. Early and late fracture following lower limb lengthening. Annual meeting of Pediatric Orthopedic Society of North America 2014.4.30-5.3 (Los Angeles)
 5. Masaki Matsushita, Hiroshi Kitoh, Hiroshi Kaneko, Kenichi Mishima, Naoki Ishiguro. Meclozine facilitates proliferation and differentiation of chondrocytes by attenuating abnormally activated FGFR3 signaling in achondroplasia. Annual meeting of Pediatric Orthopedic Society of North America 2014.4.30-5.3 (Los Angeles)
 6. 鬼頭浩史、三島健一、松下雅樹、杉浦洋、石黒直樹. 骨髄幹細胞を用いた骨延長術. 第87回日本整形外科学会 2014.5.22-25 (神戸)
 7. 鬼頭浩史、三島健一、松下雅樹、杉浦洋、石黒直樹. 培養骨髄細胞と PRP の移植を併用した骨延長術. 第87

- 回日本整形外科学会 2014. 5. 22-25
(神戸)
8. 鬼頭浩史、金子浩史、三島健一、松下雅樹、西田佳弘、石黒直樹. 下肢骨延長後の骨折に関連する因子. 第 87 回日本整形外科学会 2014. 5. 22-25 (神戸)
 9. 松下雅樹、鬼頭浩史、三島健一、門野泉、杉浦洋、長谷川幸、北村暁子、石黒直樹. 当科における不安定型大顎骨頭すべり症の治療成績 第 53 回小児股関節研究会. 2014. 6. 20-21 (滋賀)
 10. 松下雅樹、鬼頭浩史、三島健一、西田佳弘、石黒直樹、大野欽司. Meclozine による FGFR3 シグナル抑制効果の in vivo における検討. 第 32 回日本骨代謝学会 2014. 7. 24-26 (大阪)
 11. 杉浦洋、鬼頭浩史、三島健一、松下雅樹、長谷川幸、北村暁子、西田佳弘、石黒直樹. 複数回の補正手術を要し治療に難渋した外傷性脚長不等の成人例. 第 237 回東海整形外科集談会 2014. 9. 20 (名古屋)
 12. 松下雅樹、鬼頭浩史、三島健一、西田佳弘、石黒直樹、大野欽司. Meclozine はオフラベル効能により FGFR3 シグナルを抑制し骨伸長を促進する. 第 29 回日本整形外科学会基礎学術集会 2014. 10. 9-10 (鹿児島)
 13. 北村暁子、鬼頭浩史、三島健一、松下雅樹、杉浦洋、長谷川幸、石黒直樹. 手術加療を要した oblique talus の 1 例. 第 18 回東海足と靴の研究会 2014. 10. 25 (名古屋)
 14. 鬼頭浩史、三島健一、松下雅樹、杉浦洋、長谷川幸、北村暁子、石黒直樹. 先天性股関節脱臼に対する選択的リ
 - ーメンビューゲル法による短期治療成績 第 25 回日本小児整形外科学会 2014. 11. 27-28 (千葉)
 15. 三島健一、鬼頭浩史、門野泉、松下雅樹、杉浦洋、長谷川幸、北村暁子、西田佳弘、石黒直樹. Ponseti 法における初期治療の重要性 第 25 回日本小児整形外科学会 2014. 11. 27-28 (千葉)
 16. 三島健一、鬼頭浩史、金子浩史、松下雅樹、杉浦洋、長谷川幸、北村暁子、石黒直樹. 下肢長不等例における脚長差の経時的変化. 第 24 回日本小児整形外科学会 2013. 11. 8-9 (横浜)
 17. Masaki Matsushita, Hiroshi Kitoh, Systemic administration of meclozine is a potential therapeutic strategy for FGFR3 related skeletal dysplasias. 第 25 回日本小児整形外科学会 2014. 11. 27-28 (千葉)
 18. 長谷川幸、鬼頭浩史、三島健一、松下雅樹、杉浦洋、長谷川幸、北村暁子. 骨系統疾患による下肢変形に対する 8 plate の使用経験 第 25 回日本小児整形外科学会 2014. 11. 27-28 (千葉)
 19. 門野泉、鬼頭浩史、三島健一、松下雅樹、長谷川幸、杉浦洋、北村暁子、石黒直樹. 軟骨無形成症に対する下肢骨延長術に伴う下肢関節可動域制限 第 25 回日本小児整形外科学会 2014. 11. 27-28 (千葉)
 20. 北村暁子、鬼頭浩史、三島健一、松下雅樹、門野泉、杉浦洋、長谷川幸、石黒直樹. 發育性股関節形成不全症における臼蓋形成の自然経過 第 25 回日本小児整形外科学会 2014. 11. 27-28 (千葉)
 21. 松下雅樹、鬼頭浩史、三島健一、門野

泉、杉浦洋、長谷川幸、北村暁子、西田佳弘、石黒直樹、頭蓋鎖骨異形成症における新規遺伝子変異と機能解析. 第26回日本整形外科学会骨系統疾患研究会 2014. 11. 28 (千葉)

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)
なし