

新たな慢性脊髄圧迫マウスモデル

研究分担者 渡辺雅彦 東海大学外科学系整形外科学 教授

研究要旨：東海大学の基礎医学系分子生命科学の研究室で、内臓脂肪型肥満と慢性炎症が関連した表現型を呈する T121 マウスが得られた。そのホモ個体は生後 1 年程度で脊椎の弯曲が増大して両後肢の麻痺が出現するが、CT や組織学的検査を通じて主に腰椎部における骨棘が脊髄を圧迫していることが確認された。早期加齢マウスモデルで緩徐に椎体間骨棘が増大して脊髄を圧迫するこのマウスは、慢性脊髄圧迫モデル動物となり得ると考えるが、原因遺伝子の特定などの課題が残る。

A. 研究目的

頸椎症性脊髄症や後縦靭帯骨化症(OPLL)などの慢性脊髄圧迫疾患のモデル動物として、Tiptoe walking Yoshimura (Twy) マウスや、椎弓下に保水性圧迫シートや螺子を挿入する手法などが用いられているが、高齢者で緩徐に進行する病態を十分に再現しているとは言いがたい。

本学の基礎医学系分子生命科学の研究室で内臓脂肪型肥満と慢性炎症のモデルマウスとして作成された遺伝子改変マウス T121 が、早期加齢とともに両後肢の麻痺症状を呈することが示された。本研究の目的は、T121 マウスの歩行障害の原因を検索して、慢性脊髄圧迫モデルとしての適正を確認することである。

B. 研究方法

可変誘導型ジーントラップ法によって得られた、内臓脂肪型肥満と慢性炎症が関連した表現型を呈する C57BL/6j 系統の T121 マウスが対象である。T121 マウスのホモ個体、ヘテロ個体の観察を行い、後肢の麻痺が出現する時期や歩容を観察する。両下肢の麻痺が出現し始めた T121 マウスのホモ個体を麻痺出現段階から晩期まで、同一個体で、実験動物用 X 線 CT 装置(HITACHI ALOKA 社製 LCT-200)を用いて全身を定期的に撮影する。また、一連の撮影を施行後、灌流固定を行って脊椎を摘出し、脊髄圧迫の組織学的検討を行う。

C. 研究報告

T121 マウスはヘテロ個体とホモ個体で表現型が明確に異なっていた。ホモ個体は、胎生あるいは新生仔致死率が高く、出生した個体は小さく虚弱で、生後 1 年程度で両下肢の麻痺が出現して死に至る。一方、ヘテロ個体は、出生から正常に個体成熟し、個体重量での成長期を終えた 10 ヶ月齢以降に内臓脂肪組織を増大させ肥満を呈するが、死亡時期が近くなるとホモ個体同様に脂肪組織が消失し、マウスの老化指標である脊柱後弯が進行し、下肢に力が入らなくなる虚弱な個体萎縮を呈し、生後 2 年程度で死に至る。

ホモ個体で歩行障害の観察を行ったが、歩行障害の出現時期に個体差があった。初期では、正常個体に比べて後肢を広げて歩行している状態であるが、次第に後肢の膝屈曲・足関節背屈能が低下して、最終的には後肢が伸展した肢位で荷重が不可能になる。

歩行障害がある程度進行したホモ個体で CT 撮影を行ったところ、腰椎部の多椎間で大きな骨棘を認め、脊柱管をほぼ占拠する高位も認めた。マウスにおいては脊髄から馬尾への移行は仙椎で起こるため、骨棘による慢性脊髄圧迫の状態であった。脊椎を摘出して組織標本を作成したところ、椎体間で骨軟骨成分を含む骨棘が脊髄を高度に圧迫している状態を確認し、頸椎症性・胸椎症性脊髄症や、OPLL のモデルマウスとなり得ることが判明した。

そこで同一個体で麻痺出現段階から晩期まで定期的に CT を撮影して、骨棘が形成されて増大する過程を追っていく実験を試みたが、T121 マウスが虚弱で、連続撮影は不可能であった。麻酔をかけるだけで心肺停止になる個体や、一度の撮影は可能でもその後明らかに衰弱し、数日後から脊椎の彎曲が増大して運動能が低下して死亡する個体などを経験した。

D. 考察

まだ preliminary な段階であるが、T121 マウスが慢性脊髄圧迫モデルとして、今後有用な研究対象となり得ることを確認した。早期加齢マウスモデルで緩徐に椎体間骨棘が増大して脊髄が圧迫されることによって後肢機能の低下が起こる経過は、高齢者に多い頸椎・胸椎症性脊髄症の臨床経過と似ている。緩徐に圧迫されて障害される脊髄の病態解析において、また将来的には薬物療法の効果判定において有益な情報が得られる可能性がある。

また歴史的に OPLL は骨棘増生による脊髄圧迫と認識されていた経緯があり、OPLL の進行に関する情報をもたらす可能性も考えられる。

しかし T121 マウスで研究を進めるに当たり、この表現型の原因遺伝子が特定されていないことが問題である。本マウスを作成した研究室で現在特定作業を進めており、その結果を得てから今後の研究体制を検討する。

E. 結論

T121 マウスは慢性脊髄圧迫モデルとなり得るが、原因遺伝子が未だ特定されていない。また個体の脆弱性が今後の研究における障害になる可能性がある。

F. 研究発表

平成 27 年度第 2 回班会議で報告