

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

脊柱靱帯骨化症の骨化様式に関する組織学的検討

研究分担者 高畑 雅彦 北海道大学 准教授

研究要旨 脊柱靱帯骨化症の発症メカニズムには未だ不明な点が多いが、組織学的に靱帯内部に異所性に軟骨と骨組織の形成が見られることから内軟骨性骨化様式をとると考えられている。今回行ったヒト頸椎後縦靱帯骨化巣組織及び胸椎黄色靱帯骨化巣組織標本の組織学的検討では、靱帯組織内にみられる軟骨様細胞は集簇せず線維芽細胞と同様に散在して分布すること、小型で軟骨基質を分泌するが X 型コラーゲンも陽性であること、骨組織は軟骨組織近傍に豊富に誘導された血管周囲に形成されることから、成長板における内軟骨性骨化とは異なる機序で軟骨様細胞が血管新生を介して異所性骨形成を誘導すると考えられた。

A. 研究目的

脊柱靱帯骨化症の発症原因は未だ明らかになっていないが、組織学的に靱帯内部に異所性に軟骨と骨組織の形成が見られることから内軟骨性骨化様式をとると考えられている。今回、我々は靱帯に生じる異所性骨化のメカニズムの詳細を調査するために、ヒト脊柱靱帯骨化病変の組織学的検討を行った。

B. 研究方法

脊髄障害に対して外科的治療を行なった頸椎後縦靱帯骨化症 10 名、胸椎黄色靱帯骨化症 11 名から術中に摘出した骨化巣組織サンプルを組織学的検討に用いた。

摘出した検体は組織標本作成前にマイクロコンピュータ断層撮影(micro-CT)撮像を行い骨化病変の形態的特徴を観察した。

検体は 4%パラホルムアルデヒドで固定後、モールス液を用いて脱灰し、パラフィン包埋薄切切片を作成した。ヘマトキシリン・エオジン染色、サフラニン O 染色、エラスチカワンギーソン(EVG)染色、II 型、X

型コラーゲン染色を行い、光学顕微鏡で観察した。さらに 2 標本については非脱灰樹脂包埋切片を作成し、Villanueva 染色薄切標本を観察した。

本研究は、北海道大学病院倫理委員会承認のもとに行われた前向き研究(検体による探索研究)である。収集した患者個人情報に関しては、漏洩のないよう厳密に管理して研究に用いた。

C. 研究結果

臨床 CT では靱帯骨化巣は皮質骨様に見えるが、micro-CT で観察すると緻密骨ではなく密な海綿骨構造をとり、表面には無数の孔があるのが観察された。

組織学的には、靱帯組織内部に石灰化前線で囲まれた島状の異所性骨化組織を認められた。石灰化前線の内部には多数の血管が見られ、骨組織は血管周囲に層板骨として形成されていた。石灰化前線で囲まれた骨化巣の周囲には酸性ムコ多糖(サフラニン O 染色)や II 型コラーゲンなどの軟骨基質を含む組織が見られた。この軟骨基質や軟骨

様細胞が見られる領域は靭帯線維組織と重複して存在しており，軟骨組織だけが靭帯組織内に孤立して存在するという事はなかった．靭帯線維の間隙には紡錘状の線維芽細胞とは明らかに異なる小型円形の軟骨様細胞が散在性に見られ，その細胞周囲に

型コラーゲンや酸性ムコ多糖などの軟骨基質が見られた．成長板軟骨のようにコラム状配列を取る軟骨様細胞は，見られなかった．軟骨様細胞は小型で小さな胞体しかもたなかったが，X型コラーゲン陽性であった．

次に弾性線維に注目して EVG 染色標本を観察した．黄色靭帯標本では，靭帯及び軟骨様組織領域に EVG 染色で黒色に染まる弾性線維を豊富に認めたが，後縦靭帯標本では弾性線維はほとんど観察されなかった．

D．考察．

靭帯組織は一定方向を向いたコラーゲン線維や弾性線維が密に配列する細胞外基質に富んだ強靱な組織で，本来血管に乏しい．しかし，靭帯内部に形成される骨化巣には周辺から豊富な血管が侵入し，その血管を取り巻く様に形成された骨組織（オステオン）が融合して大きな骨化巣が形成されていた．すなわち，血管侵入が骨化のキーとなる機序であることは間違いない．

この血管侵入プロセスを仲介すると考えられるのが軟骨様細胞であり，いわゆる内軟骨性骨化が靭帯骨化の機序と考えられている．しかし，骨化巣周囲の靭帯組織内部に観察される軟骨様細胞は，線維間隙に散在するが，集簇してみられる部分はなかった．すなわち，成長帯の様に静止，増殖，肥大細胞層がコラム状に配列しているよう

な像は観察されなかった．また，軟骨基質染色像も軟骨様細胞周囲にのみ見られ，靭帯線維に絡みつ়様に存在するのみであった．すなわち成長帯軟骨や長管骨の骨折治癒過程において見られる内軟骨性骨化とは異なる様式で骨化を誘導すると考えられた．

しかし，血管新生を誘導するのはやはり軟骨様細胞である可能性が高いと考えられる．軟骨様細胞は形態的には小型で小さな胞体しか持たないが，X型コラーゲン陽性であり肥大化軟骨細胞が分泌する様な血管新生因子を分泌することで血管侵入を誘導していると考えられた．

靭帯内に異所性に形成される軟骨様細胞の起源は明らかでないが，成長帯の様な増殖分化機構が組織学的にみられないこと，さらに軟骨様細胞の分布は本来あるべき線維芽細胞のそれに類似することから，靭帯線維芽細胞が分化転換することにより形成されるのかもしれない．

本研究では異所性骨化に靭帯弾性線維の断裂が関係しているか否かについても検討した．これは動脈硬化における血管の異所性石灰化や骨化に弾性線維の断裂や分解産物が関与しているという報告があるためである．しかし，黄色靭帯には豊富な弾性線維を認めたが，後縦靭帯には弾性線維はほとんど見られないことがわかった．これは部位や靭帯の種類によって役割が異なるためと推測される．すなわち，黄色靭帯は大きく伸縮するのに対し後縦靭帯はあまり伸縮しないため弾性線維が少ないと考えられた．そのため，少なくとも後縦靭帯骨化症においては弾性線維の断裂が異所性骨化に関係している可能性は低いと考えられた．

E．結論

脊柱靱帯骨化巣は本来血管に乏しいはずの靱帯組織内に血管侵入が生じることにより形成される．血管侵入には靱帯線維内に形成される軟骨様細胞が関与すると考えられるが，成長帯とは異なり軟骨様細胞は集簇して存在するわけではなく，靱帯線維芽細胞と同様に靱帯線維間隙に散在して存在した．異所性に形成される軟骨様細胞はその分布様式から靱帯線維芽細胞が分化転換したものである可能性が示唆された．

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

なし

2.学会発表

第 134 回北海道整形災害外科学会．2018 年
2月3日．札幌市．

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