

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月28日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21591876

研究課題名（和文）非骨傷性脊髄損傷の病態解明と至適治療の検討

研究課題名（英文）Pathogenesis and treatment in spinal cord injury without bony disruption

研究代表者

村田 英俊 (MURATA HIDETOSHI)

横浜市立大学・医学部・助教

研究者番号：40398524

研究成果の概要（和文）：骨傷を伴わない脊髄損傷（非骨傷性脊髄損傷）は頻りに遭遇する脊髄外傷でありながら、そのメカニズムは明瞭に解明されていない。私たちはラットの慢性脊髄圧迫モデルを用いて、非骨傷性脊髄損傷モデルを作成して検討した。その損傷は受傷インパクトだけではなく、潜在的な圧迫性脊髄変性も大きく関与することが判明した。同損傷の治療として圧迫性脊髄変性の病態を加味した治療が推察され、現在研究進行中である。

研究成果の概要（英文）：

Spinal cord injury without bony disruption is common. Elderly people get it easily because they sometimes have chronic spinal cord compression such as cervical spondylosis, cervical disc hernia and ossification of posterior longitudinal ligament. Dynamic neck movement including hyperextension induces this indirect spinal cord injury, which doesn't often cause bony fracture and dislocation. The mechanism and pathogenesis is not really clear yet.

We created the rat model with spinal cord injury with bony disruption, which was induced by cervical hyperextension under the chronic compression of spinal cord. We found that the spinal cord injury without bony disruption depends on potential compressive degeneration of spinal cord as well as actual impact to spinal cord.

This phenomenon can explain clinical heterogeneity of spinal cord injury without bony disruption.

We are analyzing optimal treatment for spinal cord injury without bony disruption.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：脊髄損傷 病態 治療 神経再生

1. 研究開始当初の背景

脊髄損傷は軽微なものを含めると発生頻度はかなり高いが、重篤な後遺症をきたすものとして、年間人口 100 万人あたり約 40 人が発生しているとされる。この中には生涯肢体不自由な状態で生活しなければならない例も多く含まれる。交通事故や労働災害、あるいは不慮の事故が主なものとされ、脊椎骨折や脱臼を引き起こす高度な鈍力外傷によるものと認識されてきた。しかし、最近では路上での転倒や家庭内での階段からの転落など比較的軽微な外傷でも脊髄損傷を引き起こす例が増加している。すなわち、骨折、脱臼などの骨傷を伴わない「非骨傷性脊髄損傷」とよばれるものである。本邦の約 6 割が非骨傷性脊髄損傷でありその頻度は非常に高い。高齢者などの加齢に伴う頸椎症性変化や靭帯骨化などが潜在し、慢性的脊髄圧迫がある状態で軽い外力による過進展などの脊椎の動的因子が加わることにより、脊髄損傷をきたしたものである。実は頻繁に遭遇する外傷形態でありながら、そのメカニズムは明確に証明されていない。多くは臨床経験に基づく類推である。非骨傷性損傷の半数以上は、上肢優位に筋力低下が出現する。このような損傷の病態として皮質脊髄路は内側に上肢、外側に下肢が並ぶことから、脊髄中心部の損傷が提唱された。Schneider らは、このような頸髄損傷パターンを「中心性損傷」と呼び(シュナイダー説) (Schneider, 1954)、現在もその用語は広く流布している。しかし、Quencer(1992)、Bunge(1993)らは MRI の検討からこのような損傷は中心部ではなく、側索や後索に損傷がみられるとした。さらに最近の高解像度 MRI では非骨傷性損傷は、白質を含めた様々な部位に損傷を起こすことが判明した(Collington, 2002)。したがって、「中心性損傷」という用語は必ず中心部の損傷というわけではなく多くの混乱を招くこととなった。また、治療についても、急性期に、潜在した慢性圧迫を解除すべきという意見(Anzai, 2003)と保存的治療の後悪化する場合のみ除圧すべきという意見(Hayashi, 1995)、保存的治療のみ(除圧の有効性は少ない)とする意見(Guest J, 2002)があり、臨床の場において一定の見解が得られていない。したがって治療方針はその施設の経験と方針に任されているのが現状である。このように、頻繁に遭遇する外傷でありながら病

態、治療ともに混沌とし、学会の論議でも堂々巡りを繰り返している。我々は非骨傷性脊髄損傷の真の病態と適切な治療を明らかにしたいと考えている。

ところで、この病態がなぜ正確に解明されていないのか、すなわち経験則に基づかざるを得ないいくつかの理由がある。1) 剖検にいたる機会がまずないこと。2) 脊髄は MRI など画像上明瞭にとらえるには小器官であること。そしてなにより、3) 適切な動物モデルがないことである。非骨傷性脊髄損傷のモデルがあれば、病態解明や治療が的確な根拠をもって進むはずである。ところが、ラットやマウスといった多くの脊椎動物はヒトと違って極めて可動範囲が大きい。例えばラット頸部を 180° 後屈したところで生理的可動範囲内であり、何ら症状を引き起こさない。そもそもその程度で脊損になっているようでは動物は生きていけない。ヒトでは頻繁に生じて、動物ではこの損傷生じがたいのである。

一方で、私たちは、頸椎症などによって生じる頸椎症性脊髄症のラットモデルの作成法を確立していた。このモデルは、臨床上日常的に遭遇する頸部脊柱管狭窄症、頸椎椎間板ヘルニア、後縦靭帯骨化症などといった頸椎変性疾患としての脊髄症の病態を良く反映している。

これは連携研究者：金ら(獨協医科大学脳神経外科) (Kim, Ann Neurol, 2004) が開発した手法で、吸水性ウレタンによる慢性脊髄圧迫により脊髄症を誘導したものである。遅発性脊髄症のモデルとして初めて確立された技術である。研究代表者の村田英俊はこの作成に携わってきた。この研究の過程で、直接脊髄を露出せずに脊髄損傷を誘発することを思案していた。そこで、慢性脊髄圧迫モデルに脱臼や骨傷を起こさないよう瞬間的頸部後屈負荷を試みたのである。すると上肢優位に運動障害を示すラットが出現した。これは私たちが臨床で経験する「中心性脊髄損傷」とよばれるものとよく似た症状であった。そのため、この損傷モデルの作成について至適検討を行うと、実際の臨床とほぼ同様の非骨傷性脊髄損傷を誘発できることが判明した。その損傷の病理像をみると脊髄灰白質に挫傷や出血、浮腫をきたしていた。脊髄圧迫後初期(慢性圧迫にともなう脊髄変性を生じない時期)で、このラットに後屈負荷を加え

ると、多くは脊髄中心灰白質に挫傷・出血を起し、白質のみに挫傷を生ずることはほとんどなかった。これは、Schneider 型(皮質脊髄路内側障害)よりもより灰白質に限局したパターンであった(村田英俊、脊髄障害医学会雑誌, 2008)。一方、慢性圧迫に伴う脊髄変性が生じ始める時期(圧迫後 8 週-10 週目)で、この後屈負荷を行うと、灰白質だけでなく、外側の白質にも多く損傷がみられるようになった。すなわち、元々ある脊髄圧迫の時間と脊髄変性変化によって損傷パターンが異なりうることが判明した(村田英俊、脊椎脊髄 2008)。これは、Schneider の示す中心部の損傷や、Quencer、Bunge らのいう外側白質損傷、Collington のいう多様な損傷パターンを説明できうるものであった。すなわち、非骨傷性脊髄損傷の混沌としている病態に一筋の光を投ずることとなったのである。この結果に対する反響は脳神経脊髄関連学会でも大きく取り上げられ、真の病態が明らかにされることを期待された。私たちは臨床に極めて近い形で、動物モデルでこの非骨傷性脊髄損傷を再現できることを可能にした。これまで多くの仮説に依存した病態が明らかにされようとしている。

2. 研究の目的

私たちは、この非骨傷性頸髄損傷モデルを詳細に検討し、これまで临床上疑問であった現象、すなわち 1) 出現する損傷部位とそのメカニズム、2) 上肢優位損傷のメカニズム、3) 可逆性のある回復傾向、といった現象の解明、そして非骨傷性損傷の至適治療(外科的治療、薬物治療)を検討、開発することを発案した。

3. 研究の方法

非骨傷性脊髄損傷ラットモデルを作成し、その病理学的検討、運動機能評価、電気生理機能評価を行ない、正確な病態を明らかにする(H21 年度)。さらに後屈負荷後の自然経過、薬物保存療法、外科的除圧群に分け、至適治療を検討し、回復過程を病理学的評価、運動機能評価、電気機能生理評価にて検討する(H22-H23 年度)。

モデル作成

前程として通常のラットにそのまま後屈負荷を加えても、何も症状を呈さないことは予

備実験で確認されている。まず、慢性脊髄圧迫モデルを作成する。ここで最も重要なことはこの時点で脊髄損傷を引き起こさないことが条件である。Wistar rat (体重 250-300g)を用い、全身麻酔の下、第 5, 6 頸椎椎弓下に 0.7mm 厚の吸水膨張性ポリマー(アクアプレ)を挿入して局所脊髄圧迫を作成する。このポリマーは徐々に体内の水分を吸収し約 96 時間で最大膨張率 2.5 倍の体積に増加する。挿入操作による急性脊髄損傷がないのを確認後、脊髄圧迫状態にあってはじめての数週は運動機能は全く正常である。8-10 週以降で運動機能が低下してくるものが生じる。約 25 週で下肢痙性が生じ、いわゆる慢性脊髄症モデルが完成する。時間経過とともに脊髄の慢性圧迫により、脊髄灰白質と白質の空胞変性、運動細胞(前角細胞)の脱落を生じてくることがわかっている。今回は脊髄損傷の病態解明が主眼のため、アクアプレ挿入後 2 週のもの(脊髄の形態のみの変化で内部の脊髄変性が生じていないもの)と 10 週のもの(運動機能は保たれているが、脊髄変性が起こり始めているもの)を用いる。

次に後屈負荷を加える。これまでの予備実験の結果から脱臼など骨傷をおこさず、かつ効果的に同損傷を引き起こす方法・負荷が決定されている。すなわち、ラットをネンブタール全身麻酔後、下顎歯に 2 号絹糸を締結し、その先に体重の 1/2 の錘をつなげる。

それを 30cm 落下させることで、全く骨傷を与えず、モデルを作成できることがわかっている。40%で非骨傷性脊髄損傷モデルが誘発できる。脊髄圧迫の時間に応じて様々な部位に損傷を起こしうる。その負荷では正常ラットでは脊髄損傷を生じないことも確認されている(村田英俊、脊髄障害医学会雑誌, 2008)(村田英俊、脊椎脊髄 2008)(村田英俊、脊髄外科, 2008)。

ラットを以下のとおり各群に分ける。

未処置群(全く何の処置を加えていない群)、コントロール群(アクアプレを挿入する操作を行い、そのまま抜去した群、アクアプレ非挿入)、初期圧迫群(アクアプレ挿入後 2 週)、中期圧迫群(アクアプレ挿入後 8-10 週)の 4 群で以下の実験を行う。

運動機能評価

各群に対し、アクアプレ挿入後から 1 週間毎に行う。すなわち前・後脚脚力、回転式運動量測定ケージ、ローターロッド、行動追跡モ

ニターを用いる。前・後脚筋力は尾部に下垂式重量測定器を取り付け、ラットの習性である、「ものを掴み、前方へと進む」特性を利用し、前脚（通常 300-400gw）と前後脚全体の筋力（1000-1200gw）を測定する。後屈負荷後も 3 日後、1 週後、以後 1 週毎に運動評価を繰り返す。

病理学的評価

後屈負荷前、負荷後 3 日、1 週、2 週、4 週、8 週でラットを 4%パラホルムアルデヒドで灌流固定を行い、C5-6(アクアプレン挿入部)と Th3-4(正常部)の脊髄を切り出す。約 5 μ m の切片を作成し、まず HE と KB 染色で細胞および髄鞘の状態を観察する。脊髄損傷後早期のものでは、挫傷部分の領域、位置を正確にマッピングする。また、挫傷領域に対し、IMAGE J により脊髄全体に占める挫傷部分の面積、灰白質と白質における挫傷部分の面積を算出し、分布を定量化する。脊髄損傷後後期のものでは、回復過程、すなわち前角細胞の個数変化、軸索の伸長の変化を評価する。

電気生理学的評価

負荷後 3 日、1 週、2 週、4 週、8 週の各時点で脊髄を全身麻酔下（ネブタール）で露出し、圧迫部位を境にして、神経伝導速度と後脚大腿における運動誘発電位を記録する。

以上 3 つの評価から、症状出現の程度と、病理学的損傷範囲、程度、電気生理学的損傷程度を相関させ、より客観的な確証を得る。とくに圧迫初期群（EC 群）、圧迫後期群（MC 群）でいかなる相違がでるのか、すなわちもともと潜在する圧迫性脊髄病変がこの脊髄損傷にどのような影響を与えるかは、実際の臨床の病態に極めて近く、大変興味深い。また、損傷後の回復期においても同様の評価を行い、いかなる回復過程をとりうるのか検討する。まずは、非骨傷性脊髄損傷の真の病態を解明することを主眼とする。

治療実験：至適治療の検討

これまでの結果を受け、ある程度、病態が判明したところで、治療実験に進む。すなわち、自然経過群、薬物治療群（ステロイド投与群）、除圧群 0 日（後屈負荷後すぐに椎弓切除し、アクアプレンを取り除き、脊髄を除圧）、除圧群 3 日（後屈負荷後 3 日目で除圧）、除圧群 2 週間（後屈負荷後 2 週で除圧）、除圧群 4 週（後屈負荷後 4 週で除圧）にわけ、その

後の経過で前述の運動機能（4 種）に各群で差違が生じるかどうか、検討する。変化のある時点で病理切片を作成し、回復過程の変化を検討する。これにより、外科的治療の是非、最善の治療法を見いだす。

予後因子の決定

上記の結果が出た場合、まず、神経伝導速度と後脚大腿における運動誘発電位の記録を主に行う。運動機能所見、病理所見とあわせ、損傷後の予後因子を同定する。非骨傷性脊髄損傷モデルと実際の非骨傷性臨床例との相関を検討する。

4. 研究成果

【非骨傷性頸髄損傷の病態】

同モデルの脊髄損傷出現頻度は初期圧迫群（EC 群）38%、中期圧迫群（MC 群）40%となり両者の頻度に差はなかった。

損傷の病理像

脊髄内での挫傷と出血と浮腫（血管拡張）をみとめ、一部にはリンパ球浸潤を認めた。灰白質に挫傷を伴うものが多いが、後索に損傷をみとめるもの、側索に損傷を認めるもの、そのいずれかが組み合わさった広範なかたちで損傷をうけるものがみられた。

損傷面積率（脊髄全体に占める損傷の面積率）損傷を受けた群で見ると、EC 群平均 7.6%、MC 群平均 11.38%と MC 群で大きかった。分布をみてみると灰白質損傷は両者とも大きな差はないが、MC では、白質、後索の損傷が大きくなっている。

ローターロッド回転時間

ローターロッド回転時間の過伸展負荷前後の比で表した。損傷のあるものでは EC で 20.2%、MC で 32.7%となり、非損傷のものに対して有意に運動機能は低下した。損傷のないものでは EC 74.6%、MC 67.4%と圧迫群で若干低下する傾向にあったが、大きく運動機能は低下しなかった。

前・後脚の筋力

過伸展負荷前後での筋力を測定し、前脚筋力比(%FL)、後脚筋力比(%HL)を算出した。損傷のあるものでは EC: %FL 28.3%、%HL 57.5%、MC: %FL 40.1%、%HL 58.7%であった。前脚筋力が後脚筋力に比べ低下する傾向にあり、EC でその傾向が顕著であった。

前脚優位障害における損傷分布

前脚筋力比が後脚筋力比の 1/2 以下になると

きを前脚優位障害として、その分布を検討した。その際、ECでは84%を灰白質損傷が占めた。MCでは損傷分布が灰白質57%、白質21%、後索22%と灰白質に多いものの、その分布は多様であった。

【治療実験】

EC群において外科的治療群、非外科的治療群（ステロイド投与群、非投与群）にわけ、損傷後の運動機能回復を検討した。各群15例、10例、10例で振り分けた。現時点で、各群でローターロッドの回転時間、前・後脚筋力に有意な差は得られていない。しかし、モデルそのもののばらつきが大きかったため、さらに例数を増やし実験継続中である。

【考察】

この非骨傷性脊髄損傷モデルは、実際の臨床に近似したモデルである。本研究では至適治療の解明にはまだ研究を要するが、病態についてはある程度解明できた。このモデルでは約40%に脊髄損傷が誘発されたが、約半数は、臨床と同じく、上肢（前脚）優位の不全損傷を呈した。短期圧迫群で約80%に灰白質損傷がみられ、中期圧迫群では60%以上の灰白質損傷を示した。興味深いことは圧迫により慢性虚血晒された灰白質は、損傷をうけてさらに広がるのではなく、むしろ外側白質や後索に損傷が新たに付加されている点である。前後脚筋力比をみると、短期圧迫群では灰白質損傷が主体であるためか、前脚がとくに障害され、いわゆる中心性損傷型となる。中期圧迫群では、外側白質、後索などの索路に損傷が及ぶためか両者の筋力が短期圧迫群ほどの前後脚筋力の差異がないこともわかった。さらに前肢優位障害型を検討してみると、多くは灰白質障害（髄節障害）に起因するところが大きいと考えられるが、中期圧迫群でもわかるとおり、白質、後索損傷の割合が増加しても、前肢優位障害型をとりうる。これは下肢への下行線維を回避した皮質脊髄路障害と考えてよいものとおもわれる。非骨傷性頸髄損傷の病態について報告は様々である。Schneiderらは後索、後側索、灰白質腹側の中心性損傷とする一方、Quencerらは3例の剖検例から灰白質損傷はなく、外側白質部の損傷であるとした。Collingnonらは中心性脊髄損傷において、画

像上、髄内高信号変化と運動障害の分布が必ずしも一致しない、手指運動を担う領域の灰白質損傷のみでは、全てが説明できない、などから、皮質脊髄路も広範に損傷していることを示唆した。本モデルにおいては、少なくとも灰白質損傷が特徴となるが、中期圧迫群では外側白質、後索の損傷も多く伴っており、その損傷程度に応じて、下肢（後脚）の障害を生じる。

いずれにしても、損傷の発生は、単に物理的な狭窄や損傷形態に依存するだけではないことが判明した。潜在する脊髄圧迫の時間、変性状態により大きく左右される。とりわけ潜在的に脊髄変性が進むと白質の損傷が大きくなる。上肢優位症状（中心損傷型）は、灰白質損傷が成因となる一方で、下肢下行線維を回避した索路損傷によっても生じうる。これらの知見は実際の臨床において非骨傷性脊髄損傷において様々な形態をとりうることを理解できる。

本研究期間内では、至適治療の解明までには至らなかったが、この損傷自体が潜在的に有する圧迫性脊髄症が大きく関与することから、圧迫性脊髄症の治療と関連して指摘治療を検討すべきと考えられた。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計3件）

①Kurokawa R, Nagayama E, Murata H, Kim P. Limaprost alfadex, a prostaglandin e1 derivative, prevents deterioration of forced exercise capability in rats with chronic compression of the spinal cord. *Spine* 36, 865-869, 2011

②Kurokawa R, Murata H, Ogino M, Ueki K, Kim P. Altered Blood Flow Distribution in the Rat Spinal Cord under Chronic Compression. *Spine* 36, 1006-1009, 2011

③村田英俊、黒川 龍、川原信隆 金 彪 非骨傷性脊髄損傷の病態解明 日本脊髄障害医学会雑誌 22(1) 30-31, 2009

[学会発表] (計3件)

① Pathogenesis of spinal central cord injury-latest experimental knowledge
Hidetoshi Murata

2011 International Conference of Nanjing University of Technology and Science, invited lecture, Nanjing, China
2011/10/24

② 「脳神経外科医にとっての脊椎脊髄外科：脳神経外科を最大限に活かす」

Spinal Surgery for Neurosurgeons

村田英俊 高瀬 創 佐藤 充 安久正哲
吉川信一郎 立石健祐 日暮雅一 横山高玲
菅野 洋 川原信隆

第25回日本脊髄外科学会

2010/6/10 名古屋国際会議場 (名古屋)

③ 脊椎脊髄由来の痛みとそのマネージメント

村田英俊 高瀬 創 佐藤 充 安久正哲
吉川信一郎 立石健祐 横山高玲 菅野 洋
川原信隆

Authentic Spinal Surgeon Summit 2010

2010/3/20 東京

[図書] (計1件)

① 村田英俊

頸椎の変性疾患

脳神経外科医のための

脊椎脊髄疾患 診断と治療ガイド

P2-34

2010/1/10 第1版第1刷 発行 メジカルビュー社、東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

村田 英俊 (MURATA HIDETOSHI)

横浜市立大学・医学部・助教

研究者番号：40398524

(2) 研究分担者

菅野 洋 (KANNO HIROSHI)

横浜市立大学・医学研究科・客員准教授

研究者番号：40244496

(3) 連携研究者

金 彪 (KIM PHYO)

獨協医科大学・医学研究科・教授

研究者番号：90231290