

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 23 年 5 月 23 日現在

機関番号：24402

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22791393

研究課題名（和文）黄色靱帯肥厚の進行予防による新しい腰部脊柱狭窄症治療法の開発

研究課題名（英文）Development of new treatment for lumbar spinal canal stenosis by prevention for hypertrophic flavum

研究代表者

江口 佳孝 (EGUTI YOSHITAKA)

大阪市立大学・大学院医学研究科・客員研究医

研究者番号：60567824

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は腰部脊柱管狭窄症の原因である肥厚黄色靱帯の動物モデルでの再現、その肥厚機序の解明と予防法の開発である。日本白色家兎で椎間応力集中モデルを作製、経時的に黄色靱帯を採取し組織学的に評価した。術後 8 週以降で弾性線維の構造が破綻、同部位にトルイジンブルー染色における異染性とⅡ型コラーゲン陽性細胞を認めた。Ⅱ型コラーゲン発現の有意な増加も認めた。これらの変化は人体の肥厚黄色靱帯の変化と同様で、本モデルは黄色靱帯肥厚モデルとして妥当と考えられた。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to establish the animal model of ligamentum flavum hypertrophy which caused lumbar spinal canal stenosis (LSCS), to elucidate the mechanism of hypertrophic flavum, and to develop the prevention method for hypertrophic flavum. We made the rabbit model that mechanical stress was concentrated on L3/4 with plate fixation at L2/3 and L4/5, and harvested the flavum of L3/4 level at scheduled time point. Histological findings showed the rupture of elastic fiber after postoperative 8 weeks. Furthermore, metachromasia in toluidine blue staining and the immuno-positive cells for collagen type 2 were found at the site of rupture. The result of quantitative PCR showed that the expression of collagen type 2 was significantly increased in the flavum on which the mechanical stress was concentrated. These findings suggested that mechanical stress cause the degeneration and the chondrogenesis in flavum, and they were consistent with the histological changes found in the human hypertrophic flavum of lumbar spinal stenosis patients. Thus, we considered that his animal model is valid and useful for the study of the ligamentum flavum hypertrophy.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合 計
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総 計	2,600,000	780,000	3,380,000

研究分野：

科研費の分科・細目：

キーワード：

1. 研究開始当初の背景

平成 17 年度の厚生労働省の調査では 65 歳以上の高齢者比率が 20%を超え、今後も高齢社会が加速していくことが推測されている。また 65 歳以上の高齢者では腰痛・歩行障害を訴える頻度が高く、その原因疾患として腰部脊柱管狭窄症が 45%もの割合を占めている。今後は高齢社会の加速に伴い腰部脊柱管狭窄症が増加していくことが予想され、低侵襲かつ低費用な治療の開発は重要な課題である。

腰部脊柱管狭窄症とは黄色靱帯の肥厚と椎間板の変性による膨隆で馬尾神経あるいは神経根が圧迫を受けて腰痛や下肢痛などの症状を引き起こす疾患である。高頻度な疾患であるにも関わらず、腰部脊柱管狭窄症の原因である黄色靱帯肥厚に関する研究報告は極めて少なく、組織学的に肥厚黄色靱帯では弾性線維の減少と膠原線維の増加が生じているとの報告が散見されるものの、その分子メカニズムについては未だ解明されていない。また現段階では対症療法を除けば腰部脊柱管狭窄症の根本的な治療は黄色靱帯の外科的切除による除圧しかない。これらのことから黄色靱帯の肥厚のメカニズムの解明は新治療法の開発に重要な意味合いを持つ。我々はまず腰部脊柱管狭窄症罹患患者の手術時に採取された黄色靱帯を組織学的に検証した。肥厚した黄色靱帯では軟骨細胞の発現及びその増殖、それに伴う軟骨基質の増加が認められ、黄色靱帯肥厚の原因には軟骨細胞の増殖が関与していることが推測された。また画像的検討で腰椎不安定性を認めた症例では黄色靱帯における軟骨化生が著明で、BMP signaling に関与する分子の発現上昇も強く、メカニカルストレスが黄色靱帯肥厚に関与している可能性が示唆された。上記の我々の研究を含めこれまでの研究では患者の手術時に採取された黄色靱帯を用いたものであり、多数の不確定因子が関与しているため肥厚メカニズムの解明は困難であった。そこで上述の研究結果と臨床において固定隣接椎間などメカニカルストレスが集中する部位で黄色靱帯の肥厚が多いことに基づいて、我々は 1 椎間にメカニカルストレスを意図的に高めることにより黄色靱帯の肥厚モデルを作成出来るのではないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は黄色靱帯の肥厚モデルを作成し、その妥当性を検証することである。更に動物モデルを用いて肥厚機序を解明するとともに肥厚を予防する治療方法を開発することである。

3. 研究の方法

我々は日本白色家兎に対して腰椎側方固定術(L2/3・4/5を固定プレートで固定)によるL3/4椎間応力集中モデルを作成した。また同部分の展開のみを行ったものをSham群として対照群とした。

両群ともに経時的に犠牲死させ、L3-4椎間の黄色靱帯を採取し、組織学的な変化をHE染色、トリジンブルー染色、免疫組織化学染色にて評価した。

次に上記の動物モデルよりL3/4椎間の黄色靱帯を採取してRNAを抽出し、real-time RT PCRにて2型コラーゲンの発現量を評価した。

4. 研究成果

術後8週以降で黄色靱帯の線維構造に破綻を来し、その破綻した視劇にトリジンブルー染色による異染性と2型コラーゲン陽性細胞を認め、軟骨化生が示唆された(図1)。

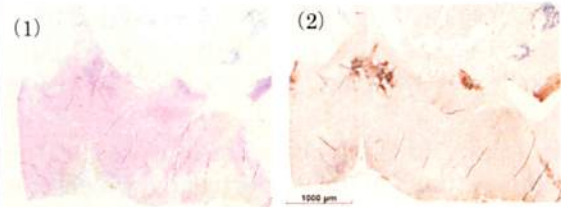


図1 術後8週時点における黄色靱帯の組織像(横断面)(1)トリジンブルー染色、(2)II型コラーゲンに対する免疫染色

更に応力集中モデル(犠牲死:16週)の黄色靱帯における2型コラーゲンのRNA発現量はsham群と比較して30倍以上と著明に増大しており、組織学的評価と同様に軟骨化性が示唆された(図2)。

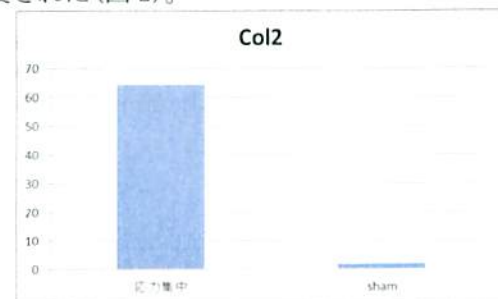


図2 real time PCR による応力集中群および sham 群の黄色靱帯における II 型コラーゲン発現量の比較

てきた腰部脊柱管狭窄症患者から採取した肥厚黄色靱帯と同様の変化であり、本モデルは黄色靱帯肥厚動物モデルとして妥当であり、黄色靱帯の肥厚に関する研究に有用であると考えられた。

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5件)

①江口佳孝・佐々木康介・中川敬介・北野利夫 大腿骨頭すべり症に角の測定精度比較 日本小児整形外科学会雑誌 2011;20:362-365

②Eguchi Y, Wakitani S, Naka Y, Nakamura H, Takaoka K An injectable composite material containing bone morphogenetic protein-2 shortens the period of distraction osteogenesis in vivo Journal of Orthopaedic Research 2011;29:452-456

③江口佳孝 高山真一郎 小児上腕骨顆上骨折垂直牽引法の治療成績 日本小児整形外科学会雑誌 2010;19:317-320

④江口佳孝・橋本祐介・中村博亮 北野利夫 急性リンパ性白血病治療中にステロイド性大腿骨頭壊死を生じた1例 近畿小児整形外科 2010;23:7-10

⑤Eguchi Y, Wakitani S, Naka Y, Nakamura H, Takaoka K Anti tumor necrotic factor agent promotes BMP-2-induced ectopic bone formation Journal of Bone and Mineral Metabolism 2010;28:157-164

〔学会発表〕(計16件)

①江口佳孝、高松聖仁、中村博亮 小児大腿骨骨幹部骨折術前に上腸間膜動脈症候群が疑われた一例 第47回近畿小児整形外科懇話会 2011年1月29日 大阪府 大阪市

②江口佳孝、北野利夫、中村博亮 注射で骨新生は促進するか？-BMP-2担体複合体の開発と実験的検討 第24回日本創外固定学会 2011年2月11日 北海道 札幌市

③江口佳孝、高岡邦夫、中村博亮 骨新生を大幅に促進するための検討-注入可能な BMP-2ペーストは骨新生を更に促進するか- 第116回中部整形外科災害外科学会 2011年4月7日 高知県 高知市

④江口佳孝、北野利夫、中川敬介、森田光明、和田麻由子、中村博亮 小児大腿骨頭すべり症の重傷度を正確に評価するための検討 第84回日本整形外科学会学術集会 2011年5月12日 神奈川県 横浜市

⑤江口佳孝、北野利夫、中川敬介、天羽清子、中村嘉子 運動部所属学生に発症したA群溶連菌感染性恥骨骨髄炎の一例 第48回近畿小児整形外科懇話会 2011年8月6日 大阪

府 大阪市

⑥江口佳孝、高岡邦夫、中村博亮 BMP-2と骨再生促進 第26回日本整形外科学会基礎学術集会 2011年10月20日 群馬県 前橋市

⑦江口佳孝、北野利夫、青野勝成 診断に難渋した下腿筋肉内血管腫の検討 第117回中部日本整形外科災害外科学会 2011年10月29日 山口県 宇部市

⑧江口佳孝、北野利夫、中川敬介、森田光明、和田麻由子、中村博亮 小児骨髄炎と診断に至らなかった症例の検討 第22回日本小児整形外科学会 2011年12月8日 京都府 京都市

⑩Y. Eguchi, S. Wakitani, Y. Imai, Y. Naka, Y. Hashimoto, K. Takaoka Anti Tumor-Necrotic Factor Agent Promotes BMP-2 Induced Ectopic Bone Formation 56th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society 2010年5月 アメリカ ニューオリンズ

⑪江口佳孝、高岡邦夫、中村博亮 BMP2/ β TCP/PEG 局所注入ペーストによる実験的骨新生加速の検討 第23回日本創外固定学会 2010年1月14日 東京都 千代田区

⑫江口佳孝、北野利夫、中村博亮 急性リンパ性白血病治療中にステロイド性大腿骨頭部壊死を生じた一例 第45回近畿小児整形外科懇話会 2010年2月13日 大阪府 大阪市

⑬江口佳孝、橋本祐介、北野利夫、中川敬介、森田光明、和田麻由子、中村博亮 歩容異常を主訴とする患児における円板状半月の頻度 第83回日本整形外科学会学術集会 2010年5月30日 東京都 千代田区

⑭江口佳孝、北野利夫、中村博亮 点状軟骨異形成症に合併した足部変形 第46回近畿小児整形外科懇話会 2010年8月7日 京都府 京都市

⑮江口佳孝、脇谷滋之、仲哲史、中村博亮、高岡邦夫 注入可能な BMP-2担体複合体を併用した骨移動術における骨新生加速は、骨幹部骨欠損修復を促進する 第45回日本整形外科学会基礎学術集会 2010年10月15日 京都府 京都市

⑯江口佳孝、北野利夫、中川敬介、森田光明、和田麻由子、中村博亮 大腿骨頭すべり症に

り角を正確に評価するための検討 第 21 回
日本小児整形外科学会 2010 年 11 月 27 日
徳島県 徳島市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

江口 佳孝 (Eguti Yoshitaka)
大阪市立大学・大学院医学研究科・客員研
究医
研究者番号：60567824

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし