

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 25 年 5 月 30 日現在

機関番号：32643

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22591636

研究課題名（和文） 腰椎黄色靭帯肥厚メカニズムの解明

研究課題名（英文） Pathomechanism of lumbar ligamentum flavum hypertrophy

研究代表者

西良 浩一 (SAIRYO KOICHI)

帝京大学・医学部・准教授

研究者番号：10304528

研究成果の概要（和文）：靭帯肥厚と線維増殖性疾患(FPD)の類似性について検討した。黄色靭帯の特殊染色に加え、I型&III型コラーゲン、アルファ平滑筋アクチン(α SMA)の免疫染色を行った。結果、黄色靭帯の背側の弾性線維は肥厚靭帯ではまばらとなり癒痕組織に置換され、さらに癒痕に一致し Type I & III コラーゲンが見られた。 α SMA 陽性細胞も多くみられ靭帯肥厚は FPD であることを支持する所見であった。癒痕部に一致して、悪玉架橋のペントシジンの発現が観察された。

研究成果の概要（英文）：The pathomechanism of hypertrophy of ligamentum flavum (LF) is still unknown. We hypothesized that the mechanism would be similar to that in the hypertrophic scar formation during the wound repair of skin. The pathology is considered to be fibro-proliferative disorder (FPD). To confirm the hypothesis, we have investigated the similarity of the hypertrophy of LF and hypertrophic scar. Hypertrophied LF samples were taken during the lumbar decompression surgery. Masson Trichrome (MT) and Elastica van Gieson (EVG) stain were used to understand the scar and fibrosis. The similarity of FPD was investigated using the immunohistochemistry of type 1 and 3 collagen and alfa-smooth muscle antigen (α SMA). In the hypertrophied LF, elastic fiber was stained sparse, especially along the dorsal aspect in LF. Instead, scar and fibrotic tissue was confirmed in the LF. At the scarring site, type 1 and 3 collagen was stained. The α SMA was also confirmed to be stained. Thus, hypertrophy of LF would be a type of the fibro-proliferative disorder. The other major matrix of the normal LF is type 1 collagen. We evaluated the bad crosslink in collagen named Pentocidine, which reduces the ligament elasticity. We confirmed the existence of the pentocidine in LF, especially at the site where type 1 collagen showed abundant production.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
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・整形外科学

キーワード：黄色靭帯肥厚・腰部脊柱管狭窄症・線維増殖性疾患

1. 研究開始当初の背景

腰部脊柱管狭窄症状は高齢者に多発する脊椎疾患であり、先天的に脊柱管が小さい日本人では、欧米の白人に比較し、問題となることの多い疾患である。脊柱管を狭くさせる因子は多彩であり、椎間板因子、椎間関節因子、黄色靭帯因子、などがある。中でも**黄色靭帯の肥厚**は重要な因子であり、肥厚と同時に弾性低下を招き、脊柱管にたくれこみ、圧迫を助長する。これまで、この靭帯肥厚に関する研究は枚挙に暇が無いが、未だ、メカニズムは不明である。したがって、神経の除圧迫のためには、肥厚靭帯の手術的摘出に頼らざるを得ないのが現状である。

2. 研究の目的

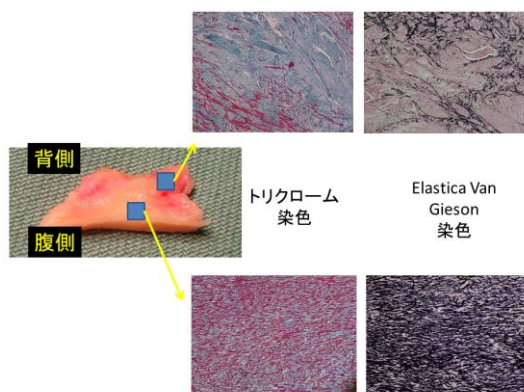
我々の**研究の目的**は、この靭帯肥厚の分子生物学的・生体力学的メカニズムを解明することである。

3. 研究の方法

術中より得られた肥厚黄色靭帯を使用することである。特殊染色あるいは免疫染色を使用し、メカニズムを解明すること。さらに、凍結処理をし、mRNA を採取しマイクロアレイにより靭帯内の肥厚部位の特別な発現を呈する遺伝子の同定を行う。

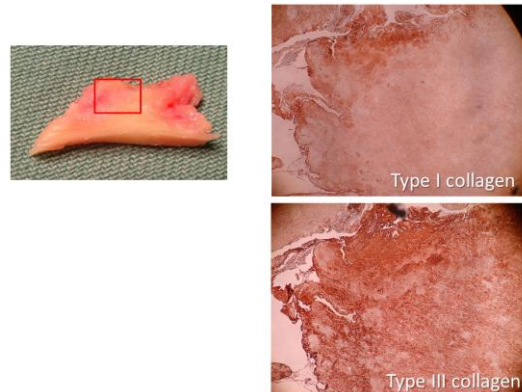
4. 研究成果

(1) 特殊染色での靭帯内癒痕観察



黄色靭帯肥厚では、組織上の変化は背側に著しい。腹側では、ほぼ正常の弾性線維で覆われているが、背側では、弾性線維の染色性が低下する。変わって、癒痕・線維化で置き換わっていることがトリクローム染色で確認できる。

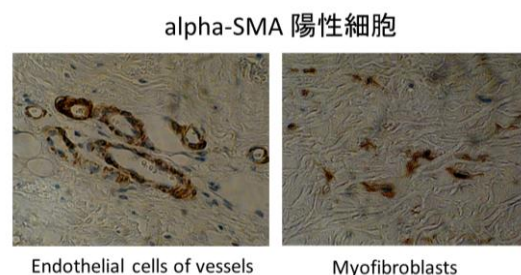
(2) Type 1 and 2 collagen の免疫染色



背側の肥厚癒痕部分に一致して、type 1 および type 3 コラーゲンの産生が確認される。特に、癒痕部分に産生される type 3 コラーゲンの染色性は高い。

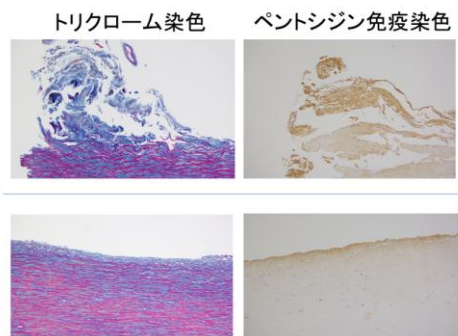
(3) alpha-SMA の確認

黄色靭帯内において、癒痕形成時に生じると言われている Myofibroblast に関する報告はこれまで見られない。今回、Myofibroblast の指標となる、alpha-SMA を免疫染色で確認した。



肥厚靭帯内に alpha-SMA 陽性細胞が多数観察された。これにより、靭帯肥厚のメカニズムとして皮膚損傷回復過程の肥厚性癒痕と類似の病態である可能性が示唆された。

(4) type 1 コラーゲンの加齢性架橋の観察



靭帯のもう一つのマトリクスはコラーゲンである。加齢とともに、悪玉架橋と言われるペントシジンが増え、組織の弾性は低下すると言われているが、黄色靭帯での報告は無い。今回、肥厚靭帯内の線維化が顕著な部位に染色性が確認されたことより、肥厚の原因である癒痕形成をもたらす靭帯内微小損傷の根本原因として、靭帯弾性の低下が考えられた。

(5) マイクロアレイでの観察

靭帯の肥厚部分と非肥厚部分が摘出された。これより total cellular RNA および mRNA の抽出を行い、さらにマイクロアレイで肥厚部位に特殊発現している遺伝子の解析を行う。

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 6 件)

- ① K, Sairyo K, Katoh S, Takao S, Kosaka H, Yasui N. Long-term outcomes of lumbar posterior apophyseal end-plate lesions in children and adolescents. *J Bone Joint Surg-A*. 2012; 94: e74. e-pub ahead (査読あり)
- ② Sairyo K, Kawamura T, Mase Y, Hada Y, Sakai T, Hasebe K, Dezawa A. Jack-knife stretching promotes flexibility of tight hamstrings after 4 weeks: a pilot study. *European J Orthop Surg Traumatol*. 2012; e-pub ahead(査読あり)

- ③ Sairyo K, Sakai T, Yasui N, Dezawa A. Conservative treatment for pediatric lumbar spondylolysis to achieve bone healing using a hard brace: what type and how long? *J Neurosurg Spine*. 2012; 16: 610-4. (査読あり)
 - ④ Sairyo K, Sakai T, Mase Y, Kon T, Shibuya I, Kanamori Y, Kosugi T, Dezawa A. Painful lumbar spondylolysis among pediatric sports players: a pilot MRI study. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2011; 131: 1485-9. (査読あり)
 - ⑤ Terai T, Sairyo K, Goel VK, Ebraheim N, Biyani A, Ahmad F, Kiapour A, Higashino K, Sakai T, Yasui N. Biomechanical rationale of sacral rounding deformity in pediatric spondylolisthesis: A clinical and biomechanical study. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2011; 131: 1187-94. (査読あり)
 - ⑥ Terai T, Faizan A, Sairyo K, Goel VK. Operated and adjacent segment motions for fusion versus cervical arthroplasty: a pilot study. *Clin Orthop Relat Res*. 2011; 469: 682-7. (査読あり)
- [学会発表] (計 5 件)
- ① Goda Y, Sato N, Taniguchi T, Takata Y, Kosaka H, Sakai T, Higashino K, Sairyo K, Katoh S, Taniguchi H, Yasui N. Proteomic Analysis of Ligamentum Flavum from Lumbar Spinal Canal Stenosis. Annual Meeting of Orthopedic Research Society, San

Antonio, TX, USA, Jan 26 to Jan 29, 2013

- ② Sato, N, Taniguchi T, Goda Y, Kosaka H, Higashino K, Sakai T, Sairyo K, Katoh S, Taniguchi H, Yasui N. Quantitative Proteomic Analysis of Human Tendon and Ligament. Annual Meeting of Orthopedic Research Society, San Francisco, CA, USA, Feb 4 to Feb 7, 2012

- ③ Sato, N, Taniguchi T, Goda Y, Kosaka H, Higashino K, Sakai T, Sairyo K, Katoh S, Taniguchi H, Yasui N. Establishment of a Method for Proteomic Analysis of Human Achilles Tendon. Annual Meeting of Orthopedic Research Society, Long Beach, CA, USA, Jan 13 to Jan 16, 2011

- ④ Sairyo K, Kanamori Y, Ogawa R, Goel V, Biyani A, Ebraheim N, Dezawa A. The pathomechanism of the ligamentum flavum hypertrophy is similar to that of the hypertrophic scar formation during wound healing. Annual Meeting of Orthopedic Research Society, Long Beach, CA, USA, Jan 13 to Jan 16, 2011

- ⑤ Sato, N, Taniguchi T, Goda Y, Kosaka H, Higashino K, Sakai T, Sairyo K, Katoh S, Taniguchi H, Yasui N. Development of a Method for Proteomic Analysis of Human Yellow Ligament. Annual Meeting of Orthopedic Research Society, Long Beach, CA, USA, Jan 13 to Jan 16, 2011

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西良 浩一 (SAIRYO KOICHI)
帝京大学・医学部・准教授
研究者番号：10304528

(2) 研究分担者

出沢 明 (DEZAWA AKIRA)
帝京大学・医学部・教授
研究者番号：90237024