

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 6 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462310

研究課題名(和文)腰部脊柱管狭窄症における黄色靭帯肥厚メカニズムの解明

研究課題名(英文) Pathomechanism of ligament flavum hypertrophy in patients with the lumbar spinal canal stenosis

研究代表者

西良 浩一 (SAIRYO, Koichi)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部・教授

研究者番号：10304528

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：黄色靭帯が加齢とともに弾性を失い微小損傷を受けやすい環境となっていることを報告した。基盤となる病因として加齢に伴う小胞体ストレスの変化に着目した。若年者の正常靭帯と高齢者の肥厚靭帯から得られたRNAを使用して網羅的に遺伝子発現の差異を検討した。結果、高齢者の靭帯には、PERK、IRE1、ATF6、GRP78といった分子が強発現し、小胞体ストレスが生じていることが明らかとなった。また、肥厚靭帯の背側には強い線維化がみられ、その周囲には、alpha-SMA、I & III型コラーゲンが強く生成されていることが確認された。肥厚のメカニズムが線維増殖性疾患と同様である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We reported that elasticity of the ligamentum flavum (LF) decreases with aging, which may be the reason of LF to be likely to get injured during the motion. We focus on ER (endoplasmic reticulum) stress for the basic pathology of the LF in the aged. We used microarray for global assessment of gene expression in the LF between young and aged population. In results, we found that PERK, IRE1, ATF6, and GRP78 were over-expressed in the aged, indicating that ER stress would be existed in the aged LF. We also analyzed the fibrotic condition in hypertrophic LF. Along the dorsal aspect of LF, thick fibrotic tissue was revealed by Trichrome staining. Near the fibrotic site, Type I, III, XII and XIV were confirmed by immunohistological chemistry. Alpha-SMA was also confirmed. We concluded that hypertrophy of LF would be the fibro-proliferative disorders and ER stress would be the basic condition causing this pathology.

研究分野：整形外科学

キーワード：黄色靭帯 肥厚 腰椎 脊柱管狭窄症 線維化 マイクロアレイ

## 1. 研究開始当初の背景

腰部脊柱管狭窄症は、高齢者の腰痛・下肢痛の主因であり、脊椎変性性疾患の一種であり、加齢に伴い罹病率は増加する。脊柱管の背面を支持する黄色靭帯が加齢に伴い肥厚し、脊柱管が狭窄される。

肥厚靭帯が脊髄神経を圧迫し、腰痛・下肢痛・下肢麻痺・膀胱直腸障害を来す。現在、この肥厚靭帯のメカニズムは不明であり、肥厚を薬物でコントロールできない。外科的摘出治療による除圧手術が最善の対処法である。

これまで我々は組織学的解析から、背側での癒痕形成が強いことを明らかとしている (Sairyo et al. SPINE 2005)。その際、神経に近い部分の腹側はほぼ正常に保たれており、靭帯内力学環境の違いの影響が考えられた。力学環境は有限要素法で検討し、運動中特に屈曲運動で背側での高い応力集中を確認した。

若年者、高齢者の黄色靭帯におけるエラスチンと Type I コラーゲンの mRNA 発現量を検討し、靭帯肥厚が進むとともに、さらに加齢とともに、Type I コラーゲンの発現量が増加することも明らかとした (Kosaka et al. SPINE 2007)。ここで、靭帯肥厚は線維増殖性疾患の可能性があると仮説に至った。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、黄色靭帯の肥厚メカニズムを解明することであり、最終的には、メカニズム解明により、手術によらない新しい薬物療法開発を行うことである。

## 3. 研究の方法

若年の正常黄色靭帯と高齢者の肥厚靭帯をそれぞれ 5 検体採取する。各サンプルから全細胞 RNA を抽出し、マイクロアレイにより発現遺伝子の差異について網羅的に解析する。

注目される遺伝子に関しては、RT-PCR にてさらに遺伝子発現を、また、western blotting にてタンパクを、そして、組織上での分子生成部位に関しては免疫染色にて評価する。今回、加齢に伴う小胞体ストレスと黄色靭帯肥厚との関与を考えており、関連する分子について詳細に検討した。

また、肥厚靭帯の背側では腹側に比べ著明な癒痕形成が生じていることより、高齢者の肥厚靭帯 5 検体を背側と腹側にわけ、各々マイクロアレイにより癒痕形成に関わる因子について網羅的に解析した。

## 4. 研究成果

若年者と高齢者の解析では、タンパク質の品質管理を行っている小胞体に着目し解析した。加齢とともに小胞体にストレスがかかり、正常とは異なるタンパクが蓄積するとの仮説である。若年者と比較して、高齢者の靭帯から、PERK、IRE1、ATF6、GRP78 といった分子が強発現しており、加齢とともに小胞体ストレスが生じることが明らかとなった。また、

また、肥厚の原因とされる癒痕形成の強い背側では、Type I、Type III という癒痕形成に関わるコラーゲンに加え、Type XII や Type XIV も多く発現していたことが分かった。特に、Type XII コラーゲンは靭帯の線維化と関連性が高いことを確認した。

さらに癒痕形成の主因とされる筋線維芽細胞の存在を黄色靭帯内で確認するために alpha-SMA については免疫染色にて確認した。結果、癒痕部に発現がみられ、黄色靭帯内での筋線維芽細胞が確認された。

この結果より、黄色靭帯は加齢とともに小胞体ストレスが生じ変性の土壌となる。微少な損傷により各種コラーゲンや筋線維芽細胞が出現し、元来、弾性線維優位であった黄色靭帯にコラーゲンを中心とした線維化・癒痕化が蓄積され肥厚に至る。つまり、皮膚損傷治癒過程に生じる肥厚性癒痕と類似の疾患である線維増殖性疾患の可能性が確認された。

## 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 8 件)

- (1) Tezuka F, Sakai T, Nishisho T, Takata Y, Higashino K, Takao S, Harada M, Sairyo K. Variations in arterial supply to the lower lumbar spine. Eur Spine J.2016 Feb 9. [Epub ahead of print] 査読有
- (2) Sakai T, Tezuka F, Wada K, Abe M, Yamashita K, Takata Y, Higashino K, Sairyo K. Risk Management for Avoidance of Major Vascular Injury due to Lateral Transpsoas Approach. Spine (Phila Pa 1976). 2016; 41(5):450-453. 査読有
- (3) Sairyo K, Nagamachi A, Matsuura T, Higashino K, Sakai T, Suzue N, Hamada D, Takata Y, Goto T, Nishisho T, Goda Y, Tsutsui T, Tonogai I, Miyagi R, Abe M, Morimoto M, Mineta K, Kimura T, Nitta A, Higuchi T, Hama S., Jha SC, Takahashi R, Fukuta S. A review of

the pathomechanism of forward slippage in pediatric spondylolysis : The Tokushima theory of growth plate slippage. J Med Invest. 2015 Jan 23; 62(1, 2):11-18.査読有

- (4) Sairyo K, Egawa H, Matsuura T, Takahashi M, Higashino K, Sakai T, Suzue N, Hamada D, Goto T, Takata Y, Nishisho T, Goda Y, Sato R, Tsutsui T, Tonogai I, Kondo K, Tezuka F, Mineta K, Sugiura K, Takeuchi M, Dezawa A. State of the Art: Transforaminal Approach for Percutaneous Endoscopic Lumbar Discectomy under Local Anesthesia. J Med Invest. 2014; 61(3-4):217-225. 査読有
- (5) Sairyo K, Matsuura T, Higashino K, Sakai T, Takata Y, Goda Y, Suzue N, Hamada D, Goto T, Nishisho T, Sato R, Tsutsui T, Tonogai I, Mineta K. Surgery Related Complications in Percutaneous Endoscopic Lumbar Discectomy under Local Anesthesia. J Med Invest. 2014; 61(3-4):264-269. 査読有
- (6) Goda Y, Sakai T, Sakamaki T, Takata Y, Higashino K, Sairyo K. Analysis of MRI signal changes in the adjacent pedicle of adolescent patients with fresh lumbar spondylolysis. Eur Spine J. 2014 Sep; 23(9):1892-1895. 査読有
- (7) Hasebe K, Sairyo K, Hada Y, Dezawa A, Okubo Y, Kaneoka K, Nakamura Y. Spino-pelvic-rhythm with forward trunk bending in normal subjects without low back pain. Eur J Orthop Surg Traumatol. 2014; 24 (suppl1):s193-199. 査読有
- (8) Sairyo K, Kawamura T, Mase Y, Hada Y, Sakai T, Hasebe K, and Dezawa A. Jack-knife Stretching Promotes Flexibility of Tight Hamstrings after 4 Weeks: A Pilot Study. European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology, 2013 Aug;

23(6):657-663. 査読有

〔学会発表〕(計4件)

- 1) 合田有一郎、佐藤紀、谷口貴子、高田洋一郎、小坂浩史、酒井紀典、東野恒作、谷口寿章、西良浩一：腰部脊柱管狭窄症における黄色靭帯のタンパク解析，第29回日本整形外科学会基礎学術集会，城山観光ホテル（鹿児島県・鹿児島市）2014年10月9日 10日。
- 2) 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. 52nd Annual Scientific Meeting (The international spinal cord society: ISCoS) 27 - 30 October 2013, Istanbul, Turkey.
- 3) 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. The 40th Annual Meeting of the International Society for the Study of Lumbar Spine (ISSLS 2013), Scottsdale, AZ, USA.13-17 May. 2013.
- 4) 合田有一郎、佐藤紀、酒井紀典、東野恒作、加藤真介、西良浩一：腰部脊柱管狭窄症における肥厚黄色靭帯のプロテオーム解析，第120回中部日本整形外科学災害外科学会学術集会，和歌山県民文化会館・ホテルアバローム紀の国（和歌山県・和歌山市）2013年4月5日 6日。

〔図書〕(計1件)

- 1) 北浜義博, 西良浩一：低侵襲腰椎分離部修復術-フックロッド法とスマイリーフェイスロッド法，脊椎脊髓の手術 第巻. 2015；626（375-380）。

6. 研究組織

(1)研究代表者

西良 浩一 (SAIRYO, Koichi)  
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・教授  
研究者番号：10304528

(2)研究分担者

小川 令 (OGAWA, Rei)

日本医科大学・医学(系)研究科(研究院)・  
教授

研究者番号：70398866

酒井 紀典 (SAKAI, Toshinori)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部・特任准教授

研究者番号：80403731