

令和 2 年 5 月 26 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2015～2019

課題番号：15K10387

研究課題名（和文）動的因子を再現したラット圧迫性脊髄症モデルの開発

研究課題名（英文）A rat model of cervical compressive myelopathy mimicking dynamic factors at the intervertebral segment.

研究代表者

古矢 丈雄（Furuya, Takeo）

千葉大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：00507337

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,500,000円

研究成果の概要（和文）：圧迫性脊髄症の発症には脊髄への静的圧迫に加え動的因子の関与が重要とされる。今回ラット頸椎椎弓下に2枚のシートを頭尾側に並べて挿入し圧迫部位に動きを持たせたモデルを作成し、神経症状への動きの影響を検討した。行動学的評価では、動きを模した2枚シート群は、1枚シート群よりも重度の脊髄症を呈した。組織学的評価では2枚シート群で1枚シート群よりも前角神経細胞数が有意に減少し、皮質脊髄路における髄鞘面積も低値となった。シートを2枚挿入し圧迫部位の動きを再現したラット圧迫性脊髄症モデルは、従来の静的圧迫モデルと比べより重度の脊髄症を認めた。動的因子の付加によって神経症状は重篤となることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

圧迫性脊髄症の発症には脊髄への静的圧迫に加え、圧迫部位での動的因子（動き）の関与が重要とされる。水膨張シートを脊髄の上に2枚並べて挿入し、2枚の切れ目での圧迫部位における動きを再現した今回のラット圧迫性脊髄症モデルは、従来の1枚シートによる圧迫モデルと比べ、より重度の脊髄症を呈することが明らかとなった。このことから、動的因子が加わることによって、圧迫性脊髄症の神経症状はより重篤化することが証明された。本研究から得られた知見は、臨床において、可動性の大きな症例に対し固定術を併用することの有効性を支持する重要な基礎的データであると考えられる。

研究成果の概要（英文）：A model of cervical compressive myelopathy (CCM) using a water-absorbable polymer sheet placed under the cervical laminae in rats, providing static spinal cord compression has been reported. The objectives of this study were to validate an ideal animal model of CCM that simulates not only static compression, but also dynamic factors. We developed a new model in rats using two polymer sheets. Two separate sheets were inserted under the C4–C5 laminae to provide a dynamic factor at the C4-5 intervertebral segment. The locomotor outcomes for the two-sheet model were worse than those for the one-sheet conventional model. Histology revealed anterior horn motor neuron loss and corticospinal demyelination were more severe in the two-sheet model than in the one-sheet model. The rat model with two sheets inserted showed more severe myelopathy than the model with one sheet and is useful as a model of severe CCM that simulates dynamic factors and slowly progressive compression.

研究分野：脊椎脊髄病学 整形外科学 脊髄症 脊髄損傷 脊髄再生

キーワード：脊髄症 ラット 頸髄 動的因子

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

圧迫性脊髄症とは、加齢に伴う変性や、椎間板ヘルニア、後縦靭帯骨化症等による脊髄の圧迫が原因となる脊髄圧迫性疾患の総称である。進行に伴い、四肢のしびれや疼痛、手先の器用さの喪失、歩行障害、下肢の痙縮や膀胱直腸障害をきたし、日常生活動作に影響を及ぼす。現在、手術療法がその治療法の中心となっているが、今後手術困難例に対する薬物療法や、手術との併用効果が期待されるような新規治療法の開発が期待される。新規治療法の開発では動物モデルを使用した基礎医学的研究は重要な位置を占める。

実臨床において圧迫性脊髄症の発症には、いわゆる物理的な圧迫による静的因子に加え、圧迫部位における動的要因(動き)の関与が重要ということが近年明らかになりつつある。疾患モデルとして、水吸収により経時的に膨張をきたすゴムシートを椎弓下に留置した圧迫性脊髄症動物モデルが先行研究としていくつか報告されている。これらは緩徐進行性の静的な圧迫を再現しているが、圧迫部位での動的因子(動き)を再現したモデルは今のところ確立されていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、実際の病態に近い圧迫部位における動的因子を再現した圧迫性脊髄症のラット動物モデルを確立することである。

3. 研究の方法

8週齢雌性SDラットを用いた。水分に触れることで膨張する水膨張性ポリウレタンエラストマーを $5 \times 3 \times 0.7$ mmのシート状に採型して脊髄を圧迫する物質として使用した。ラット第4-第5頸椎椎弓下に連続したシート1枚を挿入する1枚シート群6匹、第4頸椎および第5頸椎椎弓下にシートを1枚ずつ合計2枚挿入する2枚シート群6匹、シート2枚挿入後直ちに抜去するSham群6匹の合計18匹による3群比較を行った。2枚シート群は $2.5 \times 3 \times 0.7$ mmに半切し、2枚並べて挿入した。

全身麻酔の後、1枚シート群は、第6頸椎椎弓を切除し、第4頸椎椎弓および第5頸椎椎弓下に1枚の連続したシートを硬膜背側と椎弓の間の脊柱管内に留置した。2枚シート群は、第4/5頸椎椎弓間の軟部組織を切除し、さらに第4/5頸椎椎間関節包を切開することで、C4/5椎間の可動性を増した。開大した第4/5頸椎椎弓間より第4頸椎および第5頸椎椎弓下にそれぞれ頭側方向、尾側方向に半切シートを1枚ずつ椎弓と硬膜背側の間に留置した。

行動評価として、前肢機能をForelimb locomotor scale (FLS) scoreで、後肢機能をBasso, Beattie, Bresnahan locomotor rating scale (BBB) scoreで術前から術後20週まで評価した。感覚評価として術後18週にvon-Frey testを行った。術後20週で組織評価を行った。Cresyl Violet染色で脊髄前角神経細胞数を、Luxol Fast Blue染色で皮質脊髄路の残存髄鞘面積を評価した。

4. 研究成果

FLSスコア、BBBスコアとも、術後は手術侵襲に伴い一旦低下する(神経症状は一旦悪化する)が、その後両群とも自然回復した。おおよそ術後5週をピークに両群とも徐々に神経症状は再度悪化を来す。この5週目からの悪化が脊髄症の発症と考えられる。3週以降、FLS score、BBB scoreの各群の各タイムポイントにおける値は、術後2枚シート群は1枚シート群より有意に低値であった。つまり、3週以降の各タイムポイントにおいて、2枚シート群のほうが1枚シート群よりも神経学的に重症であることが明らかとなった。von-Frey testでは、2枚シート群はSham群に対して著明な痛覚閾値の上昇を認めた。これは、2枚シート群はSham群に比し、感覚鈍麻が進行したことを示す研究結果である。2枚シート群のみの集計では、FLS scoreと疼痛閾値の負の相関が見られ、前肢機能が重症な個体ほど痛覚鈍麻が高度であった。組織学的評価では2枚シート群で1枚シート群よりも前角神経細胞数が有意に減少し、皮質脊髄路における髄鞘面積も低値となった。

シートを2枚挿入し圧迫高位での動的因子(動き)を再現した本モデルは、従来のシートを1枚挿入した単純な圧迫モデルよりも行動学的および組織学的に重度脊髄症を示した。Sham群の行動スコアの低下はなく、新たなシート2枚挿入モデル作成の手術手技は、医原性脊髄損傷を引き起こすことなく確立された。また、Sham群が症状を引き起こさないことから、椎間不安定性があっても脊髄圧迫を伴わない場合は、有意な脊髄障害を生じないということも明らかとなった。

組織学的評価では、運動ニューロンの数は2枚シート群で有意に減少した。また、脱髄も2枚シート群において顕著であった。この組織学的所見は、行動学的所見を裏付けており、動的因

子を追加したシート2枚挿入モデルは、より重症の脊髄障害をもたらすことを示唆している。本研究では、2枚シート群において顕著な痛覚閾値の上昇、すなわち痛覚鈍麻が観察された。実際の臨床においては、脊髄症が進行するにつれて、四肢の痛覚鈍麻が観察されることはよく知られている。疼痛閾値の上昇は、求心性神経線維の減少によって引き起こされると考えられ、シート2枚挿入モデルでは脊髄障害がより重症であることを示唆する所見である。臨床診療においては、静的圧迫に加えて、動的因子が圧迫性脊髄症の進行に関与していることが知られている。特に、頸椎後縦靭帯骨化症の手術成績を検討した臨床研究では、多くの報告で圧迫高位や症状の責任高位での動的因子（動き）はリスクファクターとされ、固定術の有用性が報告されている。これまで、動的因子が脊髄障害に及ぼす影響を検証できる動物モデルは報告されていない。今回新たに作成したシートを2枚挿入し動的因子を模倣したラットモデルは、動的因子が脊髄症を悪化させることを証明した重要な研究であり、本モデルを用いた脊髄症のさらなる病態解明や、新規治療法の開発が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ijima Y, Furuya T, Koda M, Matsuura Y, Saito J, Kitamura M, Miyamoto T, Orita S, Inage K, Suzuki T, Yamazaki M, Ohtori S.	4. 巻 28
2. 論文標題 Experimental rat model for cervical compressive myelopathy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Neuroreport	6. 最初と最後の頁 1239-1245
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/WNR.0000000000000907	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 宮本卓弥
2. 発表標題 動的因子を再現したラット圧迫性脊髄症モデルの開発
3. 学会等名 第1394回千葉医学会整形外科例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮本卓弥
2. 発表標題 動的因子を再現したラット圧迫性脊髄症モデルの開発
3. 学会等名 第14回Chiba neuroresearch meeting
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 飯島靖、古矢丈雄、國府田正雄 ほか
2. 発表標題 ラット圧迫性脊髄症モデルの作成
3. 学会等名 第52回日本脊髄障害医学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 飯島靖、古矢丈雄、國府田正雄 ほか
2. 発表標題 ラット圧迫性脊髄症モデルの作成
3. 学会等名 第32回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 飯島靖、古矢丈雄、國府田正雄 ほか
2. 発表標題 ラット圧迫性脊髄症モデルの作成
3. 学会等名 第51回日本脊髄障害医学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 飯島靖、古矢丈雄、國府田正雄 ほか
2. 発表標題 Experimental Rat Model for Cervical Compressive Myelopathy
3. 学会等名 8th Annual Meeting of Cervical Spine Research Society-Asia Pacific Section
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	山崎 正志 (Yamazaki Masashi) (50281712)	筑波大学・医学医療系・教授 (12102)	

