

## 論 文 内 容 要 旨

題目 Myofibroblasts are increased in the dorsal layer of the hypertrophic ligamentum flavum in lumbar spinal canal stenosis

(腰部脊柱管狭窄症の肥厚した黄色靭帯の背側で筋線維芽細胞は増加している)

著者 Fumio Hayashi, Masatoshi Morimoto, Kosaku Higashino, Yuichiro Goda, Nori Sato, Fumitake Tezuka, Kazuta Yamashita, Koichi Sairyo

2021年11月11日発行

The Spine Journal 第22巻第4号697ページから704ページに発表済

DOI: 10.1016/j.spinee.2021.11.003

### 内容要旨

腰部脊柱管狭窄症は、中高年に生じる脊椎変性疾患の一つで、下肢痛・筋力低下・膀胱直腸障害などを生じる。その原因の一つに、脊柱管を構成する後方成分の一つである黄色靭帯の肥厚があげられる。この肥厚した靭帯が神経を圧迫し症状を引き起こす。我々はこれまで、高齢者の肥厚した黄色靭帯の組織学的検討で、靭帯の硬膜側と比べ、靭帯の背側でコラーゲン線維が増加していること(線維化)を見出し、靭帯肥厚の原因が背側の線維化の蓄積にあることを提唱した。これは腰椎運動時に、より背側に応力が集中することが原因であることを、生体力学的検討で実証している。しかし、靭帯肥厚の分子メカニズムはほとんどわかっていない。今回われわれは、その分子メカニズムを明らかにすることを目的として、手術中に得られた高齢者の肥厚した黄色靭帯に対し、組織学的・分子生物学的に、以下の4項目の検討を行なった。

#### 1. 線維化は靭帯のどこで生じているのか：

線維化の評価のため、Masson-Trichrome 染色を行ったところ、靭帯の背側でコラーゲン線維が増加していた。さらに靭帯を背側と硬膜側の2層に分割し、mRNAを精製し、遺伝子発現をqPCRで評価した。線維化に関わる各種コラーゲン(*COL1A1*, *COL1A2*, *COL3A1*, *COL5A1*, *COL6A1*, *COL11A1*)及び *HSP47*(コラーゲン特異的シャペロン)は背側で遺伝子発現が優位に増加していた。組織学的にも分子生物学的にも、靭帯の背側で線維化が進行し

ていることが分かった。

2. 筋線維芽細胞の黄色靭帯肥厚への関与：

肺線維症や肝硬変といった線維化を生じている組織で、筋線維芽細胞の増加していることが知られている。そこで、黄色靭帯肥厚との関わりを調べるために、筋線維芽細胞のマーカー遺伝子である $\alpha$ SMAの免疫染色を行い、局在を調べた。 $\alpha$ SMA陽性細胞率は、靭帯背側で16.7%、靭帯硬膜側で7.4%であり、靭帯背側で筋線維芽細胞が増加しており、黄色靭帯肥厚との関連性が示された。

3. 肥厚靭帯背側でのシグナルの活性化について：

肥厚した黄色靭帯を背側と硬膜側に分割し、マイクロアレイを用い遺伝子発現を網羅的に解析したところ、靭帯の背側では線維化に関わる低酸素のシグナルが優位に増加していることが明らかとなった。

4. 低酸素刺激における黄色靭帯由来細胞の反応：

肥厚黄色靭帯より線維芽細胞を抽出し、低酸素状態下(O<sub>2</sub>, 4%)で培養し、各種遺伝子発現をqPCRで評価した。線維化に関わる各種コラーゲン(COL1A1, COL1A2, COL3A1, COL5A1, COL6A1, COL11A1), HSP47, FNおよび $\alpha$ SMAが、通常環境下よりも増加しており、低酸素刺激は黄色靭帯由来細胞のコラーゲン産生を促すことが明らかとなった。さらにmedium中のI型コラーゲンをELISAでタンパクレベルの解析を行った所、低酸素状態下で増加していた。

以上より、これまでの我々の報告とも鑑み、黄色靭帯肥厚メカニズムが次の如くに示された。腰椎運動中、黄色靭帯背側に高いメカニカルストレスが集中し、筋線維芽細胞や線維化に関わる各種コラーゲンが発現し、背側での線維化が蓄積され肥厚に到る。その過程において靭帯内低酸素状態が線維化を促進し靭帯肥厚も進行する。現在、手術により肥厚靭帯摘出を余儀なくされている高齢者の腰部脊柱管狭窄症に対し、今回の結果より、手術によらない薬物療法など新たな治療戦略の可能性が示された。