

【要約】

Effects of decompression surgery and erythropoietin
combination on a rat model of compressive myelopathy
(ラット圧迫性脊髄症モデルに対する除圧術と
エリスロポエチン併用効果の検討)

千葉大学大学院医学薬学府

先端医学薬学専攻

(主任：大鳥精司教授)

白谷悠貴

【目的】

頸椎症性脊髄症（Cervical spondylotic myelopathy, CSM）は、脊髄症の主な原因の一つであり、頸椎の変性による脊髄機能の障害によって引き起こされる。その発症と進行には、脊髄の圧迫などの静的要因と、頸椎の不安定性といった動的要因が関与している。CSM の治療としては、脊髄の除圧を目的とした前方または後方の手術アプローチが確立されており、必要に応じて脊椎固定術も併用される。これらの外科的治療は、臨床的に一貫して良好な成績を示している。

手術治療が良好な成績である一方で、CSM に対する薬物療法は依然として確立されていない。動物モデルを用いた実験的研究では、さまざまな薬剤が有望な効果を示しているものの、現在の臨床においては手術が唯一の治療選択肢となっている。加えて、手術加療は良好な成績を示すものの、その効果には患者間に差があり、すべての患者において満足のいく結果が得られるわけではない。このような背景から、新たな治療戦略の開発が求められている。

エリスロポエチン（Erythropoietin, EPO）は、腎性貧血などの疾患に対して広く使用されている造血因子であり、その安全性は十分に確立されている。近年の研究では、EPO が神経保護作用を有し、血管新生を促進するとともに、脊髄および末梢神経の損傷において再髄鞘化を促進する可能性が示唆されている。さらに、ラット圧迫性脊髄症モデルを用いた動物研究では、EPO の投与が運動機能の回復を促進することが報告されている。

本研究では、CSM の標準治療である除圧手術に EPO 投与を併用することで、治療成績がさらに向上する可能性があるかと仮説を立てた。この仮説を検証するために、ラットの圧迫性脊髄症モデルを用いた動物実験を実施した。

【方法】

本研究では、生後 8 週間齢の雌性 Sprague-Dawley (SD) ラットを使用し、慢性圧迫性脊髄症モデルを作製した。C4/5 椎弓下に水膨張性ポリマーシート（3×5×0.7mm）を挿入する。このシートは体液を吸収することで 48～72 時間以内に約 200%膨張しする。圧迫が時間をかけて進行することで、ヒトの頸髄症に類似した、慢性的圧迫により緩徐に脊髄症が進行するモデルを作製した。手術はセボフルランによる吸入麻酔下で施行した。頸部後方を切開して C4-C7 の椎弓を露出し、C6 の椎弓切除をした後、C4-C5 の椎弓下スペースにシートを挿入した。

シート挿入後、毎週行動評価を行い、BBB スコア（Basso, Beattie, and Bresnahan score）および Grid runway test を用いて運動機能を評価した。BBB スコアは 0～21 点の範囲で評価され、値が低いほど運動機能の低下を示

す。Grid runway test では、ラットを格子状の床面上で歩行させ、後肢の落下回数を測定することで歩行機能を評価した。シート挿入後 4~8 週間の間に BBB スコアが 13 点以下に低下した個体を「脊髄症発症個体」と定義した。脊髄症を発症した個体は、まず micro-CT 撮影を行い、脊柱管占拠率を算出した。その後、個体を以下の 3 つの治療群にランダムに分け、各群ごとに異なる治療介入を行った。

1. コントロール群（擬似手術＋生理食塩水皮下投与）
2. 除圧群（椎弓切除およびシート除去による除圧＋生理食塩水皮下投与）
3. 除圧＋EPO 群（除圧手術＋EPO 皮下投与（5000 IU/kg/週））

介入後はさらに 8 週間にわたり行動評価を継続し、BBB スコアおよび Grid runway test を用いて運動機能の回復を評価した。また、2 週間ごとに尾静脈から採血を行い、ヘモグロビン（Hb）濃度を測定し、EPO の造血作用による影響を評価した。最終評価後、各ラットから脊髄を摘出し、LFB（Luxol Fast Blue）染色と免疫組織化学染色を施行した。MBP（Myelin Basic Protein）、GAP-43（Growth Associated Protein 43）の抗体を用いて、髄鞘や軸索の状態を評価した。

【結果】

脊髄症発症時点の脊柱管占拠率について 3 群間で比較したが、有意な差は認められなかった ($p>0.05$)。

除圧＋EPO 群では、EPO 投与後にヘモグロビン（Hb）値が有意に上昇した。治療開始 2 週間後には、除圧＋EPO 群の Hb 値は、生理食塩水を投与した両群と比較して有意に高かった。

介入後 8 週間時点での BBB スコアは、コントロール群 11.7(±0.8)、除圧群 13.4(±1.0)、除圧＋EPO 群 14.1(±1.4)であり、除圧＋EPO 群のスコアはコントロール群より有意に高かった ($p<0.05$)。Grid runway test においても、除圧＋EPO 群は他の群と比較して後肢の落下回数が有意に減少していた ($p<0.05$)。

組織学的解析では、LFB 染色、MBP、GAP-43 陽性面積率において、除圧＋EPO 併用群とコントロール群との間に有意差を認めた ($p<0.05$)。

【考察】

本研究では、ラットの圧迫性脊髄症モデルにおいて、除圧手術と EPO 投与の併用が有効であることを示した。除圧手術と EPO 投与を併用した群では、コントロール群と比較して、介入後 1~2 週間の時点で有意な運動機能の改善が認められた。さらに、組織学的解析においても、併用群では LFB 染色および

MBP 染色によって評価された髄鞘面積がより大きく、GAP-43 発現の増加により軸索伸長も促進されていることが確認された。

後方除圧手術は、長年にわたり CSM に対する有効な治療法として確立されており、臨床において良好な成績が報告されている。一方で、Tanaka らは本研究と類似したラットの圧迫性脊髄症モデルを用いた研究において、EPO 投与が運動機能の改善をもたらし、神経細胞のアポトーシスを抑制し、運動ニューロンを保護するだけでなく、軸索の保護や可塑性を促進することを示している。これらの知見と、臨床で確立された除圧手術の有用性、および EPO の基礎研究での有望な効果を踏まえ、本研究では除圧手術と EPO 投与の併用による相乗効果を検討した。その結果、除圧手術単独と比較して、EPO 併用により運動機能および組織学的な指標が改善することが確認され、本研究の仮説が支持された。

【結語】

本研究は、ラット圧迫性脊髄症モデルにおいて、除圧手術と EPO の併用が有意に治療成績を向上させることを示した。行動評価の改善および組織学的解析の結果から、EPO 投与が再髄鞘化を促進することで除圧手術の効果を高める可能性が示唆された。今後、CSM に対する補助療法としての EPO の有効性を検討するために、さらなる臨床研究が求められる。