

## 【背景】

頌椎症性脊髄症は加齡や変性よって生じる頌髄慢性圧迫障害により進行性の四肢筋力低下、感覚障害、膀胱直腸障害などを起こす病態で、高齡化社会における機能障害の原因の一つである。症状改善や進行予防において唯一有効性が証明されている治療は外科的に圧迫要素の除去や脊髄管拡大を図ることであるが、本疾患が高齡者に多いために全身合併症などで手術困難な症例も多く、有効な代替治療の研究・開発も急務である。

## 【目的】

頌椎症性脊髄症の病態として、繰り返される機械的脊髄微細損傷と長期圧迫によって生じる脊髄慢性微小循環障害が挙げられる。我々は後者に注目し、各種脳循環不全モデルにおいて脳保護効果が示され、臨床応用されている選択的 type III phosphodiesterase 阻害剤 cilostazol のラット頌椎症性脊髄症モデルにおける病態進行予防効果を検討し、頌椎症性脊髄症に対する治療薬としての可能性を検討した。

## 【対象と方法】

本研究は本学実験動物委員会の承認を得て本学動物実験倫理規定を遵守して行った。12-14 週齡 male Wistar rat を購入後、自発運動量測定のために回転式運動量測定器で飼育し、運動機能測定のために週 2 回 Meyer 法でのデジタルフォースゲージを用いた両前脚握力測定とローターロッドを用いた強制歩行能力測定を行った。3 週間飼育環境への適応と運動機能測定訓練を行ったのち、頌椎症性脊髄症モデル作成手術を実施した。全身麻酔下に手術用顕微鏡を用いて C5-6 椎弓下の硬膜外腔に 3×5×0.7mm の吸水性膨張性ポリマー (Aquaprene C) を慎重に留置し、頌椎症性脊髄症モデル群はポリマーを留置したまま創部を閉鎖し、対照群はポリマーを除去し創部を閉鎖した (sham operation)。本モデルは急性脊髄障害をきたすことなく、ヒトの頌椎症性脊髄症と同じ慢性進行性の病態経過をたどることを特徴とする。

計 40 匹のラットを A 群 (sham operation + control vehicle : 7 匹)、B 群 (sham operation + cilostazol : 7 匹)、C 群 (慢性圧迫 + control vehicle : 13 匹)、D 群 (慢性圧迫 + cilostazol : 13 匹) の 4 群に振り分け、手術翌日より 25 週後まで経口ゾンデを用いて cilostazol 30mg/kg/日または control vehicle の 1 日 1 回投与を連日継続した。25 週後に摘出頌髄をパラフィン包埋し、C5-6 レベルの 3mm 長にわたり、5  $\mu$ m 厚標本を作製し、5  $\mu$ m 間隔の合計 300 枚の標本を HE 染色後に脊髄横断面での扁平率と残存前角運動ニューロン数を計測し、また脱髄変化の評価目的に Luxol fast blue 染色を行い、アポトーシス検出目的に 60  $\mu$ m 厚にわたり TUNEL 染色を行った。

体重変化、自発運動量変化、各前脚握力変化、強制運動能力変化は repeated ANOVA で検定し、post hoc test には Tukey-Kramer 法を用いた多重検定を行った。脊髄扁平率と残存前角運動ニューロン数、TUNEL 陽性細胞数に関しては one-way ANOVA を用い、 $p < 0.05$  にて統計学的有意とした。

## 【結果】

- 1) 観察期間中の体重変化、自発運動量変化は、各群間に有意差を認めなかった。
- 2) 前脚握力測定値は術前と比較し、C群で術後7~8週以降進行性に低下したが、D群は25週後まで低下を認めなかった。
- 3) ローターロッドを用いた強制歩行能力はC群が19週以降進行性に低下したが、D群は25週後まで低下することなく経過した。
- 4) 脊髄垂直断面扁平率はAB群間、CD群間に有意差を認めなかった。
- 5) C5-6レベル脊髄の前角運動ニューロンの総計はAB群間には有意差を認めず、C群はA群と比較し34.4%の有意な低下を認めたが、D群では7.1%の低下を認めるのみで、AD群間には有意差を認めなかった。
- 6) CD群間の白質脱髄性変化に有意差はなく、全群で炎症性変化は全く認めなかった。
- 7) TUNEL染色陽性細胞はAB両群では検出されず、C群およびD群において検出されたが、D群の陽性細胞数は有意に低下していた。

### 【考察】

頸椎症性脊髄症は機械的微小損傷の蓄積と慢性的微小循環障害の結果、前角運動ニューロン脱落、灰白質空胞形成、脱髄、軸索腫脹が生じ、一定の無症候期間を経たのちに進行性四肢筋力低下、感覚障害、膀胱直腸障害などが生じる。本研究でも頸椎症性脊髄症モデル群では運動機能測定結果および組織学的変化とも実際の頸椎症性脊髄症の経過を再現できた。

Cilostazolは細胞内cyclic AMP濃度上昇により血小板凝集抑制、血管拡張をもたらし、循環改善作用を発揮する。加えて抗酸化作用、Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)をはじめとした各種神経栄養因子の誘導、抗アポトーシス作用も持ち、急性脳循環障害モデルにおける脳梗塞巣の縮小化や慢性脳循環障害モデルにおける脳白質障害の軽減が報告されている。本研究では臨床使用量と同等の30mg/kg/日投与を頸椎症性脊髄症モデル作成直後より継続投与することで、著明な脊髄圧迫にも関わらず前角運動ニューロン脱落を軽減し、各種運動機能の低下を予防し、頸椎症性脊髄症の病態進行を予防した。組織学的には非投薬群同様、灰白質の空胞形成を認めるため、前角運動ニューロン脱落防止には血流改善効果以外の機序の関与の可能性が示唆され、本研究では抗アポトーシス効果による関与が示された。

### 【結論】

Cilostazolはラット頸椎症性脊髄症モデルにおいて圧迫早期より投与を継続することで前角運動ニューロンの脱落を予防し、遅発性運動障害の発症予防効果を発揮することを明らかにした。