

Laminectomy membrane の経時的変化と高分子ヒアルロン酸製剤によるその抑制効果に関する実験的研究

横山 勝道

脊椎手術後に諸症状を引き起こす原因の一つといわれる椎弓切除後瘢痕 (Laminectomy Membrane, 以下 LM) を抑制する理想的な人工材料は未だ開発されていない。そのため、その諸症状を改善、また予防する新しい人工材料、方法が望まれている。本研究では、日本白色家兎を用いて椎弓切除を行い、椎弓切除部に何も充填しないコントロール群、high-molecular-weight hyaluronan (スベニール®) を充填した HMW HA 群について、椎弓切除部に形成される LM を経時的に、形態・組織学的に比較検討をした。その結果、コントロール群の線維芽細胞密度は、術後 2 週以降徐々に減少し、特に 8 週以降では統計学的に有意に低値を示し、それ以降には有意な増減がなかったことから、LM は 8 週までに組織学的に成熟することが示唆された。また脊柱管内の LM による占拠率 (LMCR) は術後 48 時間から 5 週までほぼ一定であるが、8 週以降に有意に低値を示したことから、LM は 5 週以降、8 週までに組織学的に収縮することが示唆された。そのため脊柱管内における LM の形成抑制には、術後早期に脊柱管内を占拠する LM を抑制することが重要であると考えられた。HMW HA 群では、椎弓切除術後 5 週までの間において、線維芽細胞密度、LMCR ともコントロール群より統計学的に有意に低値で、さらに術後 4 週までは LM と硬膜の癒着も抑制され、LM の形成抑制に有効なことが示された。本研究で用いたスベニール® は、今後、神経組織への影響等を明らかにすることで、脊椎手術後の LM を抑制する人工材料としての使用が期待される。

(平成 17 年 10 月 4 日受理)

Laminectomy Membrane Formation was Suppressed by High-molecular-weight hyaluronan

Masamichi YOKOYAMA

Introduction :

An ideal artificial material for inhibiting peridural fibrosis (Laminectomy membrane) has now been developed. A novel material that can prevent peridural fibrosis (LM), which causes residual symptoms after laminectomy, is now expected.

Purpose :

To evaluate the effect of high-molecular-weight hyaluronan (HMW-HA, Suvanyl®) on the formation of LM.

Materials and Methods :

An L6 laminectomy was performed on 111 rabbits. The treated group (41 rabbits) received HMW-HA in the defect left by the laminectomy and the 70 other rabbits which did not receive HMW-HA constituted the control group. The animals were sacrificed 48 hours, 1, 2, 4, 5, 8 and 12 weeks postoperatively in the control group, and 48 hours, 1, 2, 4 and 5 weeks in the treated group, and specimens were evaluated histologically.

Results :

In the control group, the fibroblast density had gradually decreased at the two weeks postoperatively, and it had decreased significantly at eight weeks postoperatively ($P < 0.01$). The ratio of LM in a spinal canal was low in the control group at eight weeks postoperatively ($P < 0.01$). The adhesion of LM to the dura was extensive from one week postoperatively, and continued thereafter. In the treated group, the fibroblast density, the ratio of LM in a spinal canal, and adhesion to the dura were significantly smaller than they were in the control group.

Conclusion :

LM forms immediately after operation, and it should decrease within five weeks. It is important to control LM within five weeks after surgery. LM was suppressed by the use of Suvenyl® within this period. (Accepted on October 4, 2005) *Kawasaki Igakkaishi 31(3) : 137-149, 2005*

Key Words ① Laminectomy ② Epidural fibrosis
③ High-molecular-weight hyaluronan ④ Suvenyl®

はじめに

高齢者に多く見られる脊椎変性疾患では、脊柱管内に存在する脊髄、馬尾神経組織が、変性した椎体、椎間板、石灰化した靭帯組織等により物理的な圧迫を受ける、それが脊椎変性疾患の種々の症状を引き起こす原因の一つである。この病態に対して、一般的には除圧術により脊柱管を拡大することで、脊髄、馬尾神経への圧迫が取り除かれ症状は軽減する。しかし、除圧術直後には軽減していた症状が再燃する症例が時に見られ、その原因の一つとして椎弓切除後に椎弓切除部に形成される組織があげられている。1974年にLaRoccaら¹⁾はこれを Laminectomy membrane (以下 LM) として報告した。以降、この LM について、術後症状との関連、また、その抑制方法が種々研究、報告されてきた。

生体に侵襲が加わると、自然な反応として創傷治癒が生じる。LM はその自然な生体反応であり、それを完全に抑制することは困難である。

また、この自然な生体反応が脊椎除圧術後の諸症状の原因となる機序は未だ不明である。しかし、LM と脊椎手術後の諸症状との関連については種々報告されている。Jeffrey ら²⁾は、腰椎椎間板ヘルニア手術後の造影 MRI で増強効果のみられた硬膜管を取り囲む均一な成分を LM と定義し、それが大きいほど神経根痛の再発率が高いと報告した。Kayaoglu ら³⁾は、腰椎椎間板ヘルニア術後、痛みが持続もしくは再発した85例の再手術所見で、36.4%に硬膜外腔の線維化がみられ、硬膜外腔の線維化を有する症例では再手術後の成績が不良な傾向があることを報告している。また BenDebba ら⁴⁾は腰椎椎間板ヘルニア術後の患者の activity related pain と MRI での硬膜外癒痕との関連を調べ、activity related pain score は過剰な硬膜外癒痕と関連があることを報告した。これらの報告からも、椎弓切除後の癒痕 (LM) が脊椎除圧術後の成績になんらかの影響を及ぼしている可能性が推測される。

一方、山田ら⁵⁾はイヌ椎弓切除モデルを用い

て硬膜外腔の炎症性反応を免疫組織学的に検討し、硬膜外腔に見られたマクロファージ、iNOS 陽性細胞が神経根内には認められないことから、硬膜外腔の癒痕形成にともなう炎症性変化は神経根内には及ばないことを報告し、LM の炎症性変化が術後の諸症状に關与する可能性は低いことを言及している。しかし、正常な状態では神経根、後根神経節は脊椎の運動や四肢の動きに伴って移動するといわれており、Charnley⁶⁾の報告では、体幹の前後屈によって第5腰椎でおよそ12mmの移動が認められる。そのため椎弓切除後の硬膜周囲の癒痕、線維化は、神経根、後根神経節の正常な移動を妨げることが予想され、LMが術後の諸症状に關わる根拠の1つになる。この病態を生じるLMの脊柱管内への侵入の防止、硬膜と癒痕の癒着防止、拡大した脊柱管の維持を目的として種々の手術方法、また人工材料の椎弓切除部への留置が試みられてきた。

傍脊柱筋の損傷を最小限にする等の手術侵襲を抑える方法⁷⁾、異物、toxinを十分な洗浄で除去する方法⁸⁾、遊離脂肪移植法⁹⁾、また、種々の人工材料が癒痕抑制に用いられてきた。人工材料としては Polyactic acid membrane¹⁰⁾、Vicryl mesh¹¹⁾、Polyethylene oxide/polybutylene terephthalate¹²⁾、Silastic^{®13)}、Sodium Hyaluronate¹⁴⁾、¹⁵⁾、¹⁶⁾、ADCON-L^{®17)}、¹⁸⁾等である。実験的にはそれぞれ良好な結果が得られているが、いまだ確立されたものはない。なかでもADCON-L[®]は欧米において唯一臨床的に広く用いられ好成績をあげていた。しかし2001年にLeら¹⁹⁾が、ADCON-L[®]により硬膜に穿孔が生じた症例を報告し、それ以降ADCON-L[®]は臨床での使用が中止になっている。そのため、生体に安全な素材の早期開発が望まれている。

本研究では、現在、臨床で変形性関節症、リュウマチ性膝関節炎に適応となっている高分子ヒアルロン酸 (High Molecular Weight Hyaluronan, 以下HMW HA) である Suvenyl[®] (平均分子量約190万) を用いてそのLMの形成抑制効果について検討した。

実験方法

日本白色家兔 (オス, 体重約3.5 kg) 111羽を使用した。ペントバルビタールナトリウム25mg/kgを静脈注射して麻酔導入し、ハロセンと笑気ガスで麻酔を維持した。第6腰椎を中心に約5cmの背側正中切開を加え、背部筋の筋膜を皮切に沿って正中切開した。次に第6腰椎棘突起を中心に、神経剥離子を用いて、傍脊柱筋を第5腰椎棘突起下縁から、第7腰椎棘突起上縁まで剥離した。第6腰椎棘突起を切除後、エアードリルを用いて椎弓を菲薄化し、リウエル骨鉗子で第6腰椎椎弓を完全切除した。硬膜外脂肪織は吸引除去し、術野を十分に洗浄後、止血を確認し、出血があればそこを圧迫止血した。双極性止血鑷子、電気メスは使用しなかった。その後椎弓切除部にSuvenyl[®]、2.5 mlを死腔が無くなるように充填した(HMW HA群)。なにも充填しなかったものをコントロール群とした。背部筋の筋膜をモノフィラメントナイロン糸で縫合し、皮膚も同様に縫合し手術を終了した。術中に明らかに脊髄を損傷したものを、麻酔覚醒後に下肢を動かさないものは対象より除外した。抗生剤の投与は一切行わなかった。

コントロール群は術後48時間、1、2、4、5、8、12週で、またHMW HA群は術後48時間、1、2、4、5週でペントバルビタールナトリウムを大量投与して屠殺し、第5から第7腰椎を傍脊柱筋とともに一塊として摘出した。摘出時、術創部に少しでも感染徴候が認められたものは対象より除外した。摘出標本は10%ホルマリン溶液で固定後、パラフィン包埋した。その組織を完全椎弓切除した頭尾側間を脊椎の長軸と垂直方向に4等分し、椎弓切除部の中央、またその中枢1/4部分、末梢1/4部分の計3カ所 (Fig. 1) をそれぞれ、強拡大観察用の厚さ5 μ mの組織切片と、切片作製時に形態を保ち弱拡大で面積を測定するための厚さ10 μ mの組織切片を作成した。各切片をHematoxylin-Eosin染色し、光学顕微鏡下に観察した。

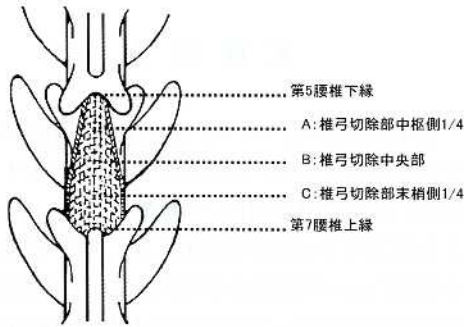


Fig. 1. 椎弓切除部と切片採取部位

(He Y. et al.: Spine 20: 557-563, 1995より改変・引用)
完全椎弓切除した頭尾側間を4等分, A, B, Cの部から切片を作製した。

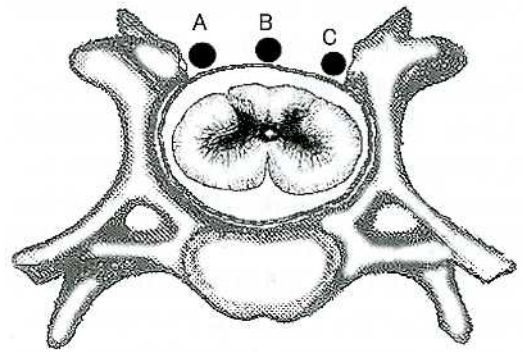


Fig. 2. 線維芽細胞数計測部位

椎弓切除部の中央で硬膜直上の部 (B), 椎弓切除部の左右両端で硬膜直上の部 (A, C) の3ヵ所で光学顕微鏡400倍1視野 (HPF) 毎に観察される線維芽細胞数を計測した。

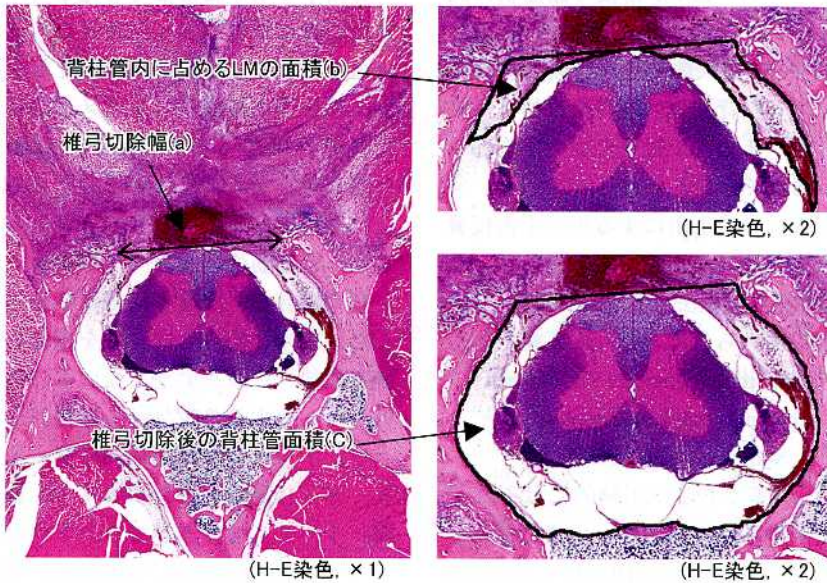


Fig. 3. 椎弓切除幅およびLMCR

左右の椎弓切除部内側下端を結んだ直線の長さを椎弓切除幅 (a) とした。その直線 (a) と椎弓根・椎体で囲まれる部分の面積を椎弓切除後の脊柱管面積 (c) とした。その範囲における椎弓切除部から連続するLMの面積を脊柱管内LM面積 (b) とした。LMCR (%) = $b/c \times 100$

評価方法

椎弓切除後の標本について1) LMの構成要素である線維芽細胞の密度, 2) 脊柱管面積に占めるLMの面積比, 3) LMと硬膜の癒着状態, 4) 椎弓切除の幅について評価した。

1) 線維芽細胞密度

5 μ m厚の切片を用いて, 椎弓切除部左右両端および椎弓切除部中央の硬膜の背側の部位で, 光学顕微鏡400倍1視野毎に観察される線維芽細胞数を計測した。これを椎弓切除部の中枢側, 中央, 末梢側について行い, 1個体あたり計9視野の線維芽細胞数を計測し, 平均線維芽細胞密度を算出した (Fig. 2)。

2) 椎管内 LM 占拠率 (LM/canal ratio, 以下 LMCR)

10 μm 厚の切片を用いた。左右の椎弓切除部内側下端を結ぶ直線と椎管に囲まれる範囲を椎管面積とし、その内部に存在する LM の面積をコンピュータソフト (NIH image[®]) を用いて解析し、椎管面積における LM 面積の比率を計測した (Fig. 3)。これを線維芽細胞密度と同様に椎弓切除部の中樞側, 中央, 末梢側について行いその平均値を算出した。

3) LM と硬膜の癒着程度

10 μm 厚の切片を用いた。椎弓切除部における硬膜と LM の癒着程度を、椎弓切除部中央の組織切片について評価した。癒着程度は He ら²⁰⁾の方法に従って 4 段階に分類した。すなわち LM と硬膜の間に、全く癒着がないものを grade 0, 薄い線維性組織の介在するものを grade 1, 癒着が椎弓切除範囲の 2/3 以下のものを grade 2, 癒着が 2/3 以上, もしくは神経根部まで LM が入り込んできている状態のものを grade 3 とした (Table 1)。

4) 椎弓切除幅

10 μm 厚の切片を用いた。椎弓切除の幅が大きいほど LM は椎管内に入り込みやすい。その結果、椎管内に入り込んだ LM の体積、また椎管内に入り込んだ LM の硬膜との癒着程度は椎弓切除幅の影響を受けることが予測される。そのため椎弓切除幅を計測して各週間で比較した (Fig. 3)。

Table 1. 硬膜と laminectomy membrane の癒着

Grade	
0	When the dura mater was free of the scar tissue.
1	When only thin fibrous band between the scar tissue and dura mater were observed.
2	When continuous adherence was observed but was less than two thirds of the laminectomy defect.
3	When scar tissue adherence was large, more than two thirds of the laminectomy defect, and/or extended to the nerve roots.

(He Y. et al. : Spine 20 : 577-563, 1995)

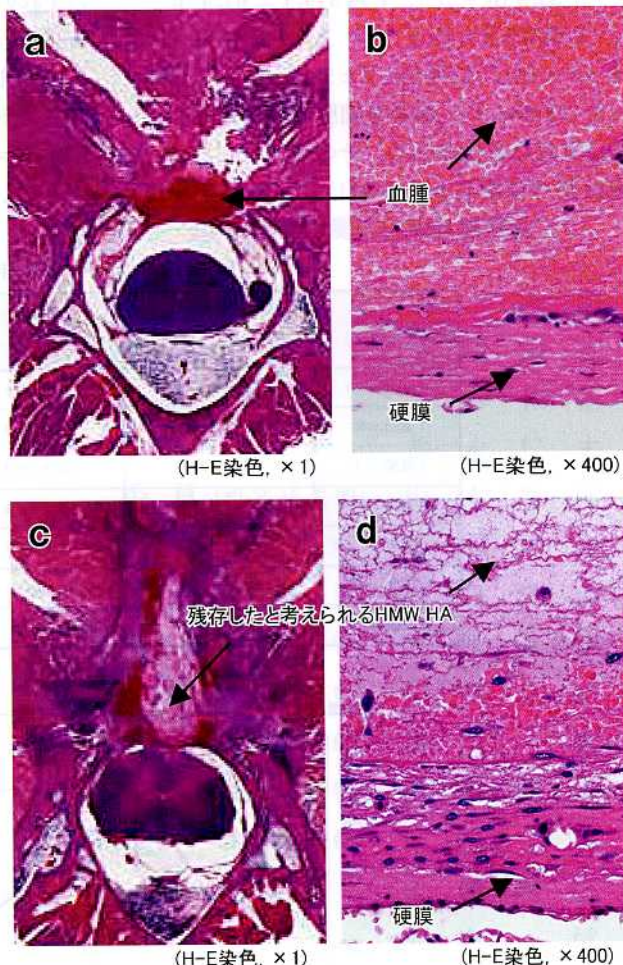


Fig. 4. 術後48時間 : a, b ; コントロール群, c, d ; HMW HA 群
コントロール群では椎弓切除部は血腫で満たされ (a), 硬膜と血腫は接している (b), 一方, HMW HA 群では椎弓切除部には HMW HA が残存したと考えられる構造がみられ (c), それ硬膜と接している (d)。

結 果

1) 維芽細胞密度

コントロール群の48時間では、椎弓切除部は血腫に占拠され線維芽細胞の出現は見られなかった (Fig. 4)。しかし、1週以降に線維芽細胞が観察され、1週から12週までの平均線維芽細胞密度は、1週 346.0 ± 25.8 ($n = 6$)、2週 363.9 ± 35.9 ($n = 7$)、4週 319.1 ± 61.4 ($n = 7$)、5週 275.9 ± 28.3 ($n = 7$)、8週 189.5 ± 48.6 ($n = 11$)、12週 191.2 ± 58.7 ($n = 7$)であった (Table 2)。線維芽細胞密度は術後2週までは有意な変化はなく、その後減少したが、8週以降では明らかな増減は見られなかった

(Fig. 5)。多群間解析では各週の間で統計学的に有意差があり、多重解析では、1, 2週は5, 8, 12週と、4, 5週は8, 12週と統計学的に有意差を認めた (Fig. 5)。

HMW HA 群の線維芽細胞密度は、1週 268.7 ± 50.0 ($n = 9$)、2週 181.2 ± 71.2 ($n = 13$)、4週 253.5 ± 32.2 ($n = 6$)、5週 195.8 ± 37.5 ($n = 6$)であった (Table 3)。HMW HA 群の線維芽細胞密度はコントロール群と比較していずれの週においても統計学的に有意に低値であった (Fig. 6)。

2) 脊柱管内 LM 占拠率 (LMCR)

コントロール群のLMCRは、48時間 12.9 ± 1.8 ($n = 7$)、1週 14.6 ± 1.0 ($n = 6$)、2週 12.9 ± 0.9 ($n = 7$)、4週 13.3 ± 0.6 ($n = 7$)、

Table 2. コントロール群

	線維芽細胞密度 (/HPF)	LMCR (%)	椎弓切除幅 (mm)
48時間(n=7)		12.9 ± 1.8	5.0 ± 1.8
1週間(n=6)	346.0 ± 25.8	14.6 ± 1.0	4.3 ± 0.5
2週間(n=7)	363.9 ± 35.9	12.9 ± 0.9	4.9 ± 1.7
4週間(n=7)	319.1 ± 61.4	13.3 ± 0.6	5.1 ± 0.5
5週間(n=7)	275.9 ± 28.3	14.6 ± 0.7	5.6 ± 0.3
8週間(n=11)	189.5 ± 48.6	7.5 ± 1.4	4.5 ± 1.5
12週間(n=7)	191.2 ± 58.7	8.0 ± 1.4	6.1 ± 1.0

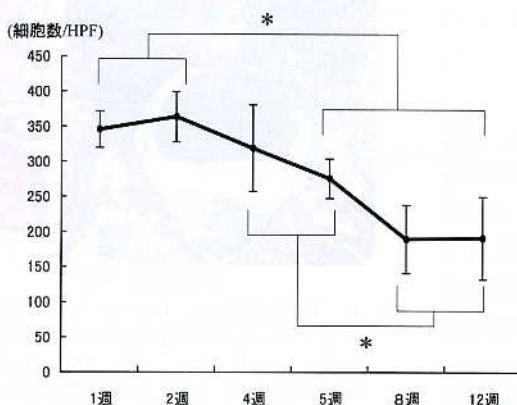


Fig. 5. 線維芽細胞密度・コントロール群

多群間解析では、1から12週の線維芽細胞密度に統計学的有意差を認めた (Kruskal-Wallis 法, $P < 0.01$)。多重解析では、1, 2週は5, 8, 12週と4, 5週は8, 12週と、それぞれ統計学的に有意差を認めた (* Tukey 法, $P < 0.01$)

Table 3. HMW HA 群

	線維芽細胞密度 (/HPF)	LMCR (%)	椎弓切除幅 (mm)
48時間(n=7)		5.7±1.6	4.2±0.6
1週間(n=9)	268.7±50.0	2.3±1.3	4.5±0.6
2週間(n=13)	181.2±71.2	4.0±1.5	4.7±0.9
4週間(n=6)	253.5±32.2	5.6±1.2	5.5±0.5
5週間(n=6)	195.8±37.5	6.5±1.8	4.9±1.4

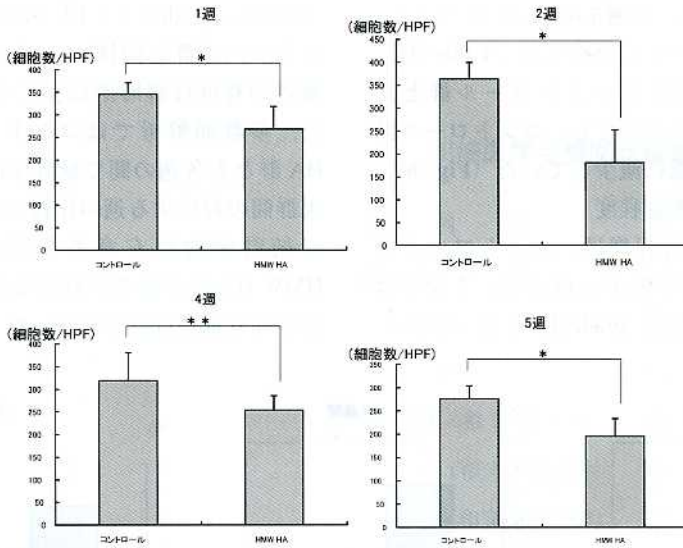


Fig. 6. 線維芽細胞密度

線維芽細胞密度は、1, 2, 4, 5週において、HMW HA 群はコントロール群と比較していずれも統計学的に有意に低値であった (* Student's t-test, $P < 0.01$, ** Student's t-test, $P < 0.05$).

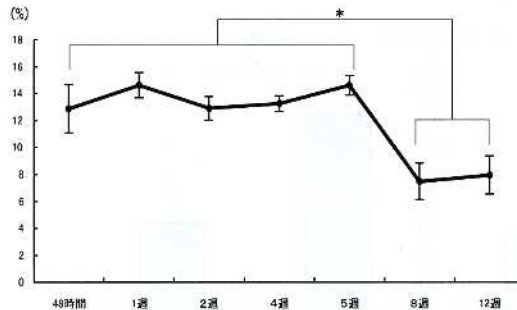


Fig. 7. LMCR・コントロール群

多群間解析で、各週の間で統計学的に有意差を認めた (Kruskal-Wallis 法, $P < 0.01$).

多重解析では、48時間、1, 2, 4, 5週と8週、12週との間にそれぞれ統計学的有意差を認めた (* Tukey 法, $P < 0.01$).

5週 14.6 ± 0.7 ($n = 7$), 8週 7.5 ± 1.4 ($n = 11$), 12週 8.0 ± 1.4 ($n = 7$)であった (Table 2). 1週では、椎弓を切除した部分には線維性組織からなるLMが形成され、LMCRは、5週までは有意な増減はないが、8週以降では減少していた。多群間解析では各週の間で統計学的に有意差があり、また多重解析では、48時間、1、2、4、5週と8、12週の間でそれぞれ統計学的に有意差を認めた (Fig. 7).

HMW HA 群のLMCRはそれぞれ48時間 5.7 ± 1.6 ($n = 7$), 1週 2.3 ± 1.3 ($n = 9$), 2週 4.0 ± 1.5 ($n = 13$), 4週 5.6 ± 1.2 ($n = 6$), 5週 6.5 ± 1.8 ($n = 6$)であった (Table 3). HMW HA 群のLMCRはコントロール群と比較していずれの週においても、コントロール群より統計学的に有意に減少していた (Fig. 8).

3) 硬膜とLMの癒着程度

硬膜とLMの癒着程度は、コントロール群では、48時間では全例がgrade 1で、1週ではgrade 2; 1例 (14%), grade 3; 6例 (86%)

であった。2週ではgrade 2; 1例 (17%), grade 3; 5例 (83%)であった。4週, 5週, 8週では全例ともgrade 3 (100%)であった。12週ではgrade 2; 1例 (14%), grade 3; 6例 (86%)であった (Fig. 9).

HMW HA 群では48時間ではgrade 1; 7例 (100%), 1週ではgrade 1; 7例 (78%), grade 2; 2例 (22%), 2週ではgrade 1; 7例 (69%), grade 2; 3例 (23%), grade 3; 1例 (8%), 4週ではgrade 1; 3例 (50%), grade 2; 3例 (50%), 5週ではgrade 2; 2例 (33%), grade 3; 4例 (67%)であった。コントロール群と同様にgrade 0のものはなく、癒着の程度は経時的に強くなる傾向が見られた。多群間解析ではコントロール群, HMW HA 群とも各週の間で統計学的有意差を認め、両群間の対応する週の比較では、1、2、4週で統計学的に有意差を認めた。5週ではHMW HA 群が癒着が軽度な傾向があるが、統計学的有意差は認めなかった (Fig. 9).

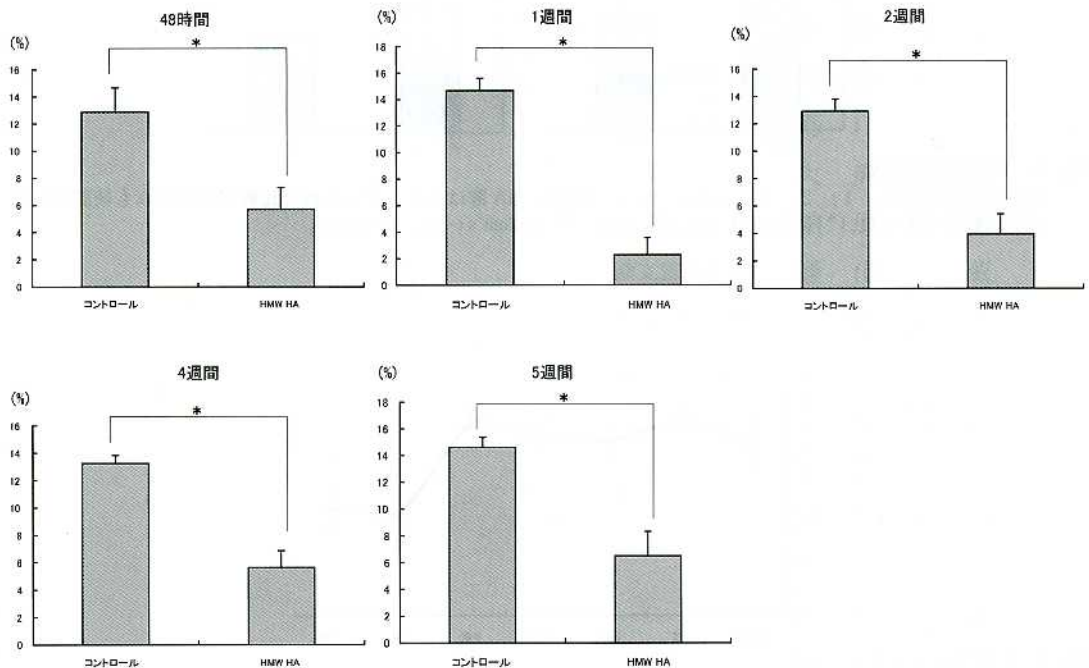


Fig. 8. LMCR

LMCRは、1、2、4、5週において、HMW HA 群はコントロール群と比較していずれも統計学的に有意に低値であった (* Student's t-test, $P < 0.01$).

4) 椎弓切除幅

コントロール群の椎弓切除幅は、48時間 5.0 ± 1.8 (n = 7), 1週 4.3 ± 0.5 (n = 6), 2週 4.9 ± 1.7 (n = 7), 4週 5.1 ± 0.5 (n = 7), 5週 5.6 ± 0.3 (n = 7), 8週 4.5 ± 1.5 (n = 11), 12週 6.1 ± 1.0 (n = 7)であり (Table 2), 各週間

で統計学的に有意差は認めなかった (Fig. 10). HMW HA 群は48時間 4.2 ± 0.6 (n = 7), 1週 4.5 ± 0.6 (n = 9), 2週 4.7 ± 0.9 (n = 13), 4週 5.5 ± 0.5 (n = 6), 5週 4.9 ± 1.4 (n = 6)であり (Table 3), 各週間で統計学的に有意差は認めなかった (Fig. 10). 両群間を比較して

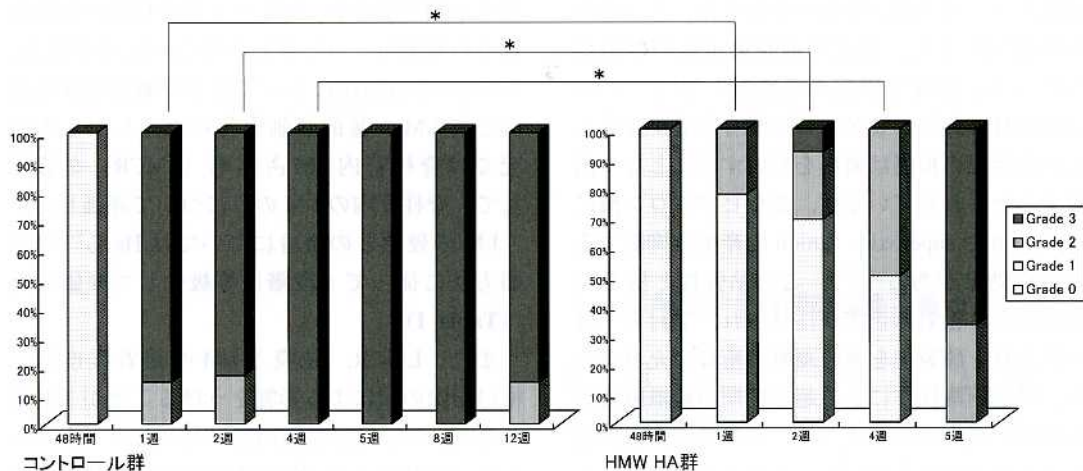


Fig. 9. LM と硬膜の癒着

コントロール群では、48時間から12週までの各週の間で統計学的に有意差を認めた (スピアマン順位相関係数検定, $P < 0.01$). HMW-HA 群では、術後48時間から5週までの各週の間で統計的に有意差を認めた (スピアマン順位相関係数検定, $P < 0.01$). 対応する週の両群間を比較すると、1週、2週、4週で統計学的に有意差を認めた (* Mann-Whitney's U test, $P < 0.01$).

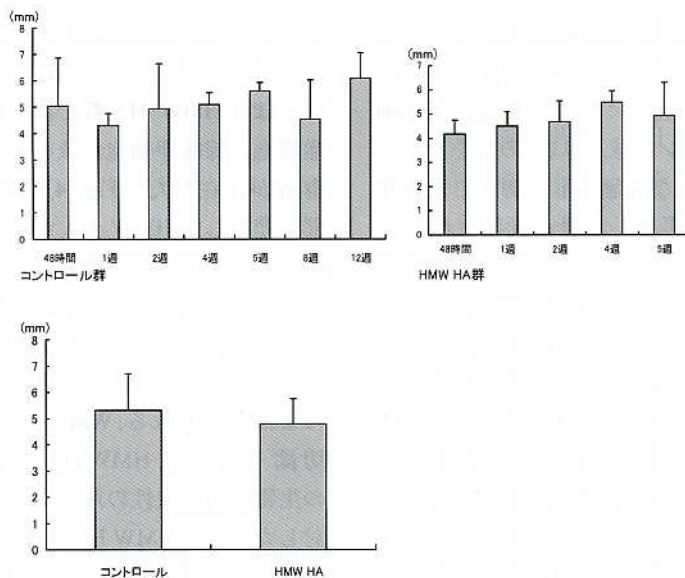


Fig. 10. 椎弓切除幅

椎弓切除幅は、コントロール群、HMW-HA 群とも、各週間において、統計学的に有意差を認めなかった。また、コントロール群と HMW-HA 群間においても統計学的に有意差を認めなかった。

も椎弓切除幅はコントロール群で大きい傾向にあったが、統計学的に有意差を認めなかった (Fig. 10).

考 察

ヒアルロン酸は生体内にひろく分布するムコ多糖体の一種で高い粘弾性を有する。またその薬理作用として、線維芽細胞遊走能の増強作用^{21), 22)}や、線維芽細胞の増殖阻止作用^{23), 24)}が認められており、ヒアルロン酸合成能が亢進している胎児の損傷は癒痕を形成することなく治癒するといわれている²⁵⁾。またヒアルロン酸にはIL-1 β や superoxide anion の産生を抑制する抗炎症効果がある^{26), 27)}。この粘弾性と抗炎症作用による癒着防止能が注目され、能村ら²⁸⁾はヒアルロン酸製剤を神経剥離の術野に充填すると、神経剥離操作による超急性期の組織障害から神経周囲組織は保護され、癒着形成が阻止されることを報告している。このような効果からヒアルロン酸にはLMの形成抑制効果、また硬膜との癒着防止効果が期待される。

1995年、Heら²⁰⁾はLMの抑制を目的として、rabbitの椎弓切除モデルに非ステロイド性消炎鎮痛剤のketoprofenを全身投与し、そのLM抑制効果を以下の3項目について評価した。1) LMにおける細胞の密度：線維芽細胞、炎症細胞(多核白血球、リンパ球、単球)の数を計測した。2) LMの量的な評価：椎弓切除した椎体断面の薄切片で再生した骨の面積と生じたLMの面積を測定した。3) LMの広がり：LMと硬膜との癒着をその程度によって4段階に等級化した (Table 1)。その結果、ketoprofenの投与を受けた群は、それを投与されていないコントロール群と比較して、LMの面積は抑制されたが線維芽細胞数、硬膜とLMの癒着は抑制されなかったことを報告した。それ以降、この種の実験ではこの評価方法が最も汎用されており、本研究に於いてもこの評価法を一部改変し採用した。

一般的な創傷治癒過程では、侵襲が加わった

部分では、血腫が肉芽組織、癒痕に推移していくが、その肉芽組織の主な構成要素は線維芽細胞、新生血管である。そのため線維芽細胞の量がLMの大きさを規定する因子となる。そのため本研究ではLMにおけるその線維芽細胞密度を測定した。

LMが術後の諸症状に影響を及ぼす機序の詳細は不明であるが、LMによる脊柱管の再狭窄はその原因の一つと考えられている。そのため、Heらは椎弓切除によって生じた癒痕全体を計測してLMの量的評価を行った。しかし本研究では脊柱管内LM占拠率 (LMCR) を算出して、脊柱管内のLMのみについて評価した。

LMの硬膜との癒着についてはHeら²⁰⁾の分類方法に従って4段階に等級化して評価した (Table 1)。

また、LMCR、硬膜とLMの癒着程度は、椎弓切除の幅による影響をうけることが予測される。そのため椎弓切除幅について、コントロール群、HMW HA群、各週間において多群間解析を行ったが統計学的に有意差はなく、各週間、両群間のLMCR、硬膜とLMの癒着程度に対する椎弓切除幅の影響はないと考えられた (Fig. 10)。

コントロール群の術後48時間では、術中の十分な止血、閉創前の止血の確認にもかかわらず椎弓切除部に血腫が形成されていた (Fig. 4)。いっぽうHMW HA群では、椎弓切除部に、炎症細胞、線維芽細胞が散在する透明で無機質な構造が存在した (Fig. 4)。これは、椎弓切除部に充填したHMW HAが椎弓切除後の死腔を満たし、48時間でもなお残存していたものと考えられる。また、血腫がコントロール群に比較して抑制されているのはSuvnyl®の高い極限粘度(24.5~31.5 dl/g)による機械的な止血作用によると思われる。Wayneら²⁹⁾はラットの椎弓切除モデルにHMW HAと0.2 mm, 0.02 mmの生物学的吸収性の薄いシートを使用し比較検討した結果、HMW HAとシートでは硬膜周囲の線維化に差はなかったと報告した。しかしRonら³⁰⁾はニュージーランドホワイトラビットを用いて、椎弓切除部に膜状、ゲル状の2種類

のポリマーを留置して比較した結果、膜状よりもゲル状のポリマーのほうが神経周囲の瘢痕をより強く抑制できたことを報告した。その理由としてゲル状の素材のほうが椎弓切除後の神経周囲をより完全に被覆できることを挙げている。本研究でもゲル状の Suvenyl® が椎弓切除後の脊柱管内に満たされ LM の形成が抑制される結果が観察された。

コントロール群の線維芽細胞は、術後48時間、すなわち、創傷治癒における炎症期では線維芽細胞の出現がほとんど観察されなかったが、1週では観察され、2週で最多となった。そしてそれ以降徐々に減少し、特に1、2、4、5週と8、12週間ではいずれも統計学的に有意差があり、8週と12週では統計学的な有意差がないことから (Fig. 5)、LM は8週までに組織学的に成熟することが推察された。またコントロール群の LMCR は、5週までは有意な増減なく経過し、8週以降では低値を示した (Fig. 7)。この経時的変化は、創傷治癒過程の再構成期における創収縮反応と瘢痕の成熟に一致する。すなわち、椎弓切除後に脊柱管内に生じた LM は、術後48時間では脊柱管内を占拠し、その後5週以降に縮小し、8週までに組織学的に成熟する。そのため、8週以降の LM の増殖・拡大の可能性は低いことが考えられる。そして、この期間における線維芽細胞密度、LMCR は48時間、1、2、4、5週のいずれもコントロール群に比較して HMW HA 群が統計学的に有意に低値であり (Fig. 9)、HMW HA は術後5週までにおける脊柱管内の LM の形成抑制に効果があると考えられた。Ruijin ら¹⁰⁾ は、ウサギの椎弓切除後、2% Sodium hyaluronan を留置し、硬膜との癒着は抑制されなかったが、術後2週までは瘢痕形成を抑制できたことを報告し、瘢痕形成はその後も続くために2% Sodium hyaluronan をさらに長期間椎弓切除部に留まらせる方法の必要性について言及している。しかし本研究では、LM は術後48時間ですでに脊柱管内を占拠し、5週間後には収縮することが観察された。つまり LM の形成は徐々に拡大・進行するも

のではない。そのため LM の形成抑制を期待する人工材料は、術直後に脊柱管内を占拠することが必要であり、椎弓切除部へ長期間残留する必要はないと考えられた。

硬膜と LM の癒着に関して、コントロール群では、48時間で硬膜周囲は血腫で満たされており、1週以降ではほぼ全例に grade 3 の癒着が生じていた。それに対して HMW HA 群では、48時間では前述の HMW HA の残存と考えられる透明無機質な構造が硬膜外の死腔を満たしているのが観察され、4週までは grade 2 が大半を占め癒着程度は軽度であった。また1、2、4週では両群間に統計学的に有意差を認め、硬膜と LM の癒着は術後4週までは防止することが可能であった。しかし、癒着は経時的に徐々に強くなる傾向にあり、5週では多くが grade 3 であり両群間に統計学的有意差を認めなかった (Fig. 10)。そのため5週以降から硬膜と LM の癒着は強くなることも予想される。今後、さらに長期に及ぶ LM と硬膜の癒着状態の推移を明らかにすることが課題である。

本研究から LM は椎弓切除後およそ5週までに形成され、それ以降に収縮し、8週までに組織学的に成熟することが考えられた。その LM を抑制するために HMW HA を椎弓切除部に充填することで、LM の脊柱管内における占拠率が抑制され、術後4週までの期間は LM と硬膜の癒着も抑制されることが示唆された。

今後の課題

1. LM がどのような機序にて椎弓切除後の手術成績に影響を及ぼしているのかを明らかにすることは、LM を抑制する理想的な素材の開発につながる。そのため、その機序を明らかにすることが必要である。
2. 本研究で用いたスペニール® は既に臨床で用いられ、生体への安全性は確立されているが、神経組織への影響を明らかにすることが必要である。
3. 硬膜と LM の癒着について、その癒着程

度の推移をさらに長期間の観察で明らかにする必要がある。

ま と め

本研究では、日本白色家兎を用いて椎弓切除を行い、椎弓切除部に何も充填しないコントロール群、HMW HA (スベニール®) を充填したHMW HA 群について、椎弓切除部に形成されるLMを経時的に、形態・組織学的に比較検討をした。

その結果、コントロール群の線維芽細胞密度は、術後2週以降徐々に減少し、特に8週以降では統計学的に有意に低値を示し、それ以降には有意な増減がなかったことから、LMは8週までに組織学的に成熟することが示唆され、LMCRは術後48時間から5週までほぼ一定であるが、8週以降に有意に低値を示したことから、LMは5週以降、8週までに組織学的に収

縮することが示唆された。そのため脊柱管内におけるLMの形成抑制には、術後早期に脊柱管内を占拠するLMを抑制することが重要であると考えられた。HMW HA 群では、椎弓切除術後5週までの期間において、線維芽細胞密度、LMCRともコントロール群より統計学的に有意に低値で、さらに術後4週まではLMと硬膜の癒着も抑制され、LMの形成抑制に有効であった。本研究で用いたスベニール®は、今後、神経組織への影響等を明らかにすることで、脊椎手術後のLMを抑制する人工材料としての使用が期待される。

謝 辞

本論文の執筆にあたり、御指導、御校閲を頂きました川崎医科大学整形外科学教室、三河義弘教授に深甚なる謝意を表します。

参 考 文 献

- 1) LaRocca H, Macnab I : The laminectomy membrane. Studies in its evolution, characteristics, effects and prophylaxis in dogs. *J Bone Joint Surg (Br)* 56 : 545 - 550, 1974
- 2) Jeffrey SR, James TR : Association between peridural scar and Recurrent radicular pain after lumbar Discectomy : MR evaluation. *Neurosurgery* 38 : 855 - 863, 1996
- 3) Kayaoglu CR, Calikoglu C, Binler S. : Re-Operation after lumbar disc surgery : result in 85 cases. *J Int Med Res* 31 : 318 - 323, 2003
- 4) BenDebba M, Augustus VA : Association between peridural scar and activity-related pain after lumbar discectomy. *Neurosurgical research* 21 (suppl 1) : S37 - S42, 1999
- 5) 山田秀一, 小林 茂, 吉沢英造, 中井定明, 前原秀紀 : 腰椎椎弓切除後に生ずる硬膜外腔の炎症性変化が神経根に及ぼす影響. *中部整災誌* 41 : 957 - 958, 1998
- 6) 荻島秀夫, 監訳/嶋田智明 : Capandy 関節の生理学Ⅲ. 医歯薬出版社. 1988, pp 120 - 121
- 7) Touliatos AS, Soucacos PN : Post-discectomy perineural fibrosis Comparison of conventional versus microsurgical techniques. *Microsurgery* 13 : 192 - 194, 1992
- 8) Hoyland JA, Freemont AJ : Retained surgical swab debris in post-laminectomy arachnoiditis and peridural fibrosis. *J Bone Joint Surg (Br)* 70 : 659 - 662, 1988
- 9) Askin G, Osman S, Sabahattin C : The effect of epidural free fat graft on the outcome of lumbar disc surgery. *Neurosurg Rev* 27 : 181 - 184, 2004
- 10) Mikawa Y, Hamagami H, Shikata J, Yamamuro T : An Experimental Study on Prevention of Postlaminectomy Scar Formation by the Use of New Materials. *Spine* 11 : 844 - 846, 1986
- 11) Nussbaum CE, McDonald JV : Use of Vicryl (Polyglactin 910) mesh to limit epidural scar formation after laminectomy. *Neurosurgery* 28 : 692 - 699, 1990

- 12) Quist JJ, Dhert WJ : The prevention of peridural adhesions. A Comparative long-term histomorphometric study using a biodegradable barrier and a fat graft. *J Bone Joint Surg (Br)* 80 Br : 520–526, 1998
- 13) Ng TH, Chan KH : An usual complication of silastic dural substitute:Case report. *Neurosurgery* 27 : 491–493, 1990
- 14) Songer MN, Rausching W : Analysis of peridural scar formation and its prevention after lumbar laminotomy and discectomy in dogs. *Spine* 20 : 571–580, 1995
- 15) Songer MN, Ghosh L : Effects of sodium hyaluronate on peridural fibrosis after lumbar laminotomy and discectomy. *Spine* 15 : 550–554, 1990
- 16) Ruijun L, Yue Z : Options for preventing postlaminectomy adhesion : a comparative study in rabbit model. *Chin J Traumatol* 5 : 288–293, 2002
- 17) Einhaus SL, Robertson JT : Reduction of peridural fibrosis after lumbar laminectomy and discectomy in dogs by a resorbable gel (ADCON-L) . *Spine* 22 : 1440–1446, 1997
- 18) Ross JS, Robertson JT : Association between peridural scar and recurrent radicular pain after lumbar discectomy : Magnetic resonance evaluation. ADCON-L European study groupe. *Neurosurgery* 38 : 855–861, 1996
- 19) Le AX, Rogers DE, Dawson EG, Kropf MA, De Grange DA, Delamarter RB : Unrecognized durotomy after lumbar discectomy : a report of four cases associated with the use of ADCON-L. *Spine* 26 : 115–117, 2001
- 20) He Y, Revel M. A quantitative model of post-laminectomy scar formation. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drug. *Spine* 20 : 557–563, 1995
- 21) Yasui T, Adatsuka M : The effect of hyaluronan on interleukin1- α -induced PG-E2 production in human osteoarthritis synovial cells. *Agents Actions* 37 : 155–156, 1992
- 22) Tobetto K, Uasui T : Inhibitory effect of hyaluronate on arachidonic acid release from labeled human synovial fibroblasts : *Jpn J Pharmacol* 60 : 79–84, 1992
- 23) Goldberg R, Tolle B : Hyaluronate inhibition of cell proliferation. *Arth Rheum* 30 : 769–768, 1987
- 24) Green S, Tarone G : Aggregation of macrophage and fibroblasts is inhibited by a monoclonal antibody to hyaluronate receptor. *Exp Cell Res* 178 : 224–232, 1988
- 25) Chen WY, Grant ME : Differences between adult and fetal fibroblasts in the regulation of hyaluronate synthesis : correlation with migratory activity. *J Cell Science* 94 : 577–584, 1989
- 26) Fukuda K, Takeyama M : Hyaluronic acid inhibits interleukin-1-induced superoxide anion in bovine chondrocytes. *Inflamm Res* 46 : 577–584, 1997
- 27) Takeshita S, Mizuno S : The in vitro effect of hyaluronic acid on IL-1 β production in cultured rheumatoid synovial cells. *Biomedical Res* 18 : 187–194, 1997
- 28) 能村直希, 池田和夫 : ヒアルロン酸を用いた神経癒着に関する研究. *日手会誌* 19 : 181–184, 2002
- 29) Wayne H, Akeson M, Jennifer B, Massie MS, Bill H : Topical high-molecular-weight hyaluronan and a roofing barrier sheet equally inhibit postlaminectomy fibrosis. *The Spine Journal* 5 : 180–190, 2005
- 30) Ron N : Prevention of postlaminectomy Epidural fibrosis using Bioelastic Materials *Spine* 28 : 1659–1665, 2003