

学 位 論 文 題 名

先天性脊椎異常に合併する脊髄異常の実験的研究

学位論文内容の要旨

I 緒 言

先天性脊椎奇形の手術では神経合併症の頻度が高い。その原因は脊椎奇形に神経組織異常が合併するからである。これまでの臨床研究からこの神経組織異常は、時には術前検査で検索できない程度のものであることがわかった。従来より、先天性脊椎奇形や脊髄膜瘤の実験的研究は数多くされてきたが、脊椎奇形例の神経組織がどのような状態にあり得るかを検索した報告はほとんどない。

この実験の目的は、先天性脊椎異常に伴う脊髄及びその他の神経組織異常を検索することであり、人間の脊椎・脊髄奇形の一端を解明する足がかりにすることである。そこで、以下の二つの実験を行った。

実験1：胸・腰椎部脊椎異常を作成しその臨界期を定める。

実験2：実験1から催奇形剤投与時期を一定化し、脊椎異常にはどのような精髄神経系異常が合併しているかを検索する。

II 実験材料および実験方法

動物はゴールデンハムスターを使用した。性周期は毎朝陰分泌液を観察して確認し、排卵予定日の夕刻、雄と同居させ翌朝分離した。雄と分離した日の午前8時を妊娠第1日目0時間と設定した。

催奇形剤として6-aminonicotinamide (6-AN) を使用し、単回(15mg/kgを腹腔内注射で投与した。実験1では妊娠5日目12時間から妊娠6日目12時間まで6時間毎の5群に分けて腹腔内注射を行い、実験2は妊娠6日目0時間に行った。対照群は、妊娠6日目0時間に蒸留水(10ml/kg)を腹腔内注射した。胎仔の摘出は分娩予定前日(妊娠15日目)に母獣を屠殺開腹して行い、一部は妊娠12日目で摘出した。

実験1では、胎仔摘出後直ちに胎仔の皮膚および内臓器を切除し、骨軟骨透明標本をアルシャ

ンブルーおよびアリザリンレッドS染色後、グリセリンと1% KOH 溶液中で作成した。透明標本は実体顕微鏡で観察した。

実験2では、摘出胎仔は直ちにブアン液に固定し、パラフィン包埋後横断面または矢状断面連続切片を作成しヘマトキシリン-エオジン染色およびトルイジンブルー染色として光顕下に観察した。

Ⅲ 結 果

1. 実験1：使用した母獣は90匹で、対照群は10匹であった。

1) 胎仔生存率と脊椎奇形発生率：胎仔生存率は53.9%であった。脊椎奇形発生率は31.9%であった。対照群で脊椎奇形は観察されなかった。

2) 脊椎奇形の種類と頻度：観察された奇形は、肋骨癒合、半椎、楔状椎、蝶形椎、椎体癒合、椎弓癒合、椎体骨核異常、脊髄髄膜瘤と多岐にわたっていた。体軸骨格の奇形は複雑に重複していた。

3) 脊椎奇形の発生高位別頻度：頸椎の調査は正確にできなかったので除外した。妊娠第5日目12時間処理群では、上位胸椎奇形が多く全脊柱におよぶ広範囲で重篤な奇形をみた。妊娠第5日目18時間処理群でも、上位胸椎異常は多かったが、重篤な異常は減少していた。妊娠第6日0時間処理群では下位胸椎・腰椎奇形が多く、ヒトの先天性側彎症患者と類似した奇形が多かった。妊娠第6日6時間処理群では仙椎部の異常が出現した。妊娠第6日12時間処理群では、腰仙椎部奇形の頻度は上昇し、上・中位胸椎奇形は出現しなかった。奇形の発生は、6-AN投与時間が遅れるに従い頭側より尾側へ移行する傾向がみられた。

4) 脊椎奇形の形態：重度奇形は肋骨癒合、椎体癒合、半椎、楔状椎、蝶形椎を多椎間にわたり合併したもので、軽度の骨格異常は半椎などを孤立性に持つ限局的障害であった。椎体骨格の骨化遅延や分節異常は全奇形仔に奇形の重症度とは関係なくみられた。骨軟骨透明標本でみた脊髄髄膜瘤は椎弓根間距離の著しい拡大があり、その形態はヒトの脊髄髄膜瘤と同一視できるものであった。

2. 実験2：使用した母獣は52匹であった。

1) 胎仔生存率：胎仔生存率は56.1%であった。

2) 脊髄・神経組織異常の種類と頻度：脊髄および神経組織の異常発生率は26.6%であった。脊髄髄膜瘤(20.0%)、重複脊髄(3.3%)、脊髄空洞症(8.9%)、脊髄中心水腫(51.1%)、潜在性二分脊椎や神経根異常(12.2%)、髄膜腔の拡大(5.6%)がみられた。対照群には異常を認め

なかった。

3) 脊椎異常と脊髄異常合併例の形態：横断面切片で潜在性二分脊椎と脊髄異常の合併例がみられた。二分脊椎と脊髄の癒着をもつものとそうでないものがあり、表層外胚葉（皮膚）の一部は欠損していた。脊髄神経節の形成異常は軽度のものから重度までみられた。

IV 考 察

1. 実験に使用した6-ANについて：6-ANが神経管の形成に障害を及ぼすことはChamberlainら、McCanlessらの報告から明らかである。Johnsonらは6-ANが酵素系を阻害してnicotinic acidやtryptophanの欠乏をきたし、胎仔の器官形成に影響を与え奇形を発生せしめているとした。

2. ゴールデンハムスターについて：この動物は、妊娠の確定が容易で確実であること、妊娠期間が短いので短期間大量の催奇形実験が可能であることが利点である。本実験の妊娠判定は100%の精度であった。

3. 脊椎奇形の臨界期：本実験では、6-AN投与が遅くなるにつれて、奇形出現部位が尾側へ移行する傾向があった。妊娠5日目には全脊椎におよぶ奇形が多くみられ、妊娠6日目は胸・腰椎部に奇形が多発した。

4. 脊椎異常と脊髄異常の合併：脊椎奇形と脊髄奇形を同時に観察することは極めて困難で、これが今まで両者を同時に調査した報告が少ない原因と思われた。本実験で得られた異常は、脊索や出現したばかりの中胚葉が障害を受け脊椎奇形が生じ、陥入直前にある神経が障害を受けていろいろな神経組織奇形を生じたと考えられる。神経堤（neural crest）と椎板（sclerotome）が同時に障害されたとき、潜在性二分脊椎の椎弓と髄膜の癒合が形成されると考えられた。

5. 先天性脊椎奇形治療との関連：本実験でみた小さな脊髄の空洞や変形、脊髄と髄膜の癒着、神経節異常は脊髄造影やコンピューター断層撮影、核磁気共鳴画像でも発見されにくいと思われる。術者は神経組織異常の合併を念頭にいれ、手術には術中脊髄モニタリングなど細心の注意が払われるべきである。

V 結 論

1. 胸・腰部脊椎奇形の臨界期は妊娠6日目であった。
2. 脊椎奇形に様々な神経組織異常が合併することを示した。
3. 重度異常は陥入直前の神経板と中胚葉や脊索の障害が同時に起こるためと考えられた。

4. 軽度の脊椎後方要素異常に随伴する神経組織の異常は、神経堤と椎板の障害が同時に起こることが条件であると考えられた。

5. 臨床診断では検索困難と思われた神経組織異常があるので脊柱変形治療にあたって細心の注意を払う必要がある。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 金 田 清 志

副 査 教 授 阿 部 弘

副 査 教 授 藤 本 征 一 郎

先天性脊椎奇形は神経組織異常を合併することが多く、手術合併症防止の見地から無視できない問題である。臨床研究から、術前検査で発見されない神経系異常の存在がわかってきた。これまで先天性脊椎奇形や脊髄髄膜瘤の実験的研究は数多くされてきたが、脊椎奇形の立場から神経組織がどのような状態にあるかを検索した報告はない。本研究の目的は、日常臨床で遭遇する先天性脊椎異常と類似した奇形を作成し、その脊椎異常に伴う脊髄およびその他の神経組織異常の形態を調査することである。以下の二つの実験を行った。実験1：胸腰椎部脊椎異常を作成する。実験2：実験1から催奇形剤の投与時期を一定化し、脊椎異常に合併する脊髄・神経系異常を検索する。

実験方法：動物はゴールデンハムスターを使用し、催奇形剤は6-aminonicotinamide (6-AN) を単回 (15mg/kg) 腹腔内注射で投与した。実験1 (母獣90匹) 妊娠5日目12時間から妊娠6日目12時間まで6時間毎の5群に分けて腹腔内注射を行い、実験2 (52匹) は妊娠6日目0時間に行った。対照群 (10匹) は、妊娠6日目0時間に蒸留水 (10ml/kg) を腹腔内注射した。胎子は分娩予定前日 (妊娠15日目) に母獣を屠殺開腹して摘出し、一部は妊娠12日目で摘出した。実験1では、直ちに胎子の皮膚および内臓器を切除し、骨軟骨透明標本をアルシャンブルーおよびアリザリンレッドS染色後、グリセリンと1% KOH 溶液中で作成した。透明標本は実体顕微鏡で観察した。実験2では、摘出胎子は直ちにブアン液に固定し、パラフィン包埋後横断面または矢状断面連続切片を作成しヘマトキシリン-エオジン染色およびトルイジンブルー染色として光顕下に観察した。

結果および考察：実験1では、胎仔生存率は53.9%であり、脊椎奇形発生率は31.9%であった。対照群に脊椎奇形は観察されなかった。観察された奇形は肋骨癒合、半椎、楔状椎、蝶形椎、椎体癒合、椎弓癒合、椎体骨核異常、脊髄髄膜瘤と多岐にわたっていた。体軸骨格の奇形は複雑に重複していた。妊娠第5日目12時間処理群では、上位胸椎奇形が多く全脊柱におよぶ広範囲で重篤な奇形をみた。妊娠第5日18時間処理群でも、上位胸椎異常は多かったが、重篤な異常は減少していた。妊娠第6日0時間処理群では下位胸椎・腰椎奇形が多く、ヒトの先天性側彎症患者と類似した奇形が多かった。妊娠第6日6時間処理群では仙椎部の異常が出現した。妊娠第6日12時間処理群では、腰仙椎部奇形の頻度は上昇し、上・中位胸椎奇形は出現しなかった。奇形の発生は、6-AN投与時期が遅れるに従い頭側より尾側へ移行する傾向がみられた。実験2では、胎仔生存率は56.1%であり、脊髄および神経組織の異常発生率は26.6%であった。脊髄髄膜瘤(20.0%)、重複脊髄(3.3%)、脊髄空洞症(8.9%)脊髄中心水腫(51.1%)、潜在性二分脊椎や神経根異常(12.2%)、髄膜の拡大(5.6%)がみられた。対照群には異常を認めなかった。横断面切片で潜在性二分脊椎と脊髄異常の合併例がみられた。本実験では、脊椎奇形は6-AN投与が遅くなるにつれて奇形出現部位が尾側へ移行する傾向があり、胸・腰椎部脊椎奇形の臨界期は妊娠6日目であった。本実験で得られた異常は脊索や出現したばかりの中胚葉が障害を受け脊椎奇形が生じ、陥入直前にある神経板が障害を受け神経組織奇形を生じたと考えられた。神経堤と椎板が同時に障害されたとき、潜在性二分脊椎の椎弓と髄膜の癒合が形成されと考えられた。本実験でみた小さな脊髄の空洞や変形、脊髄と髄膜の癒着、神経節異常は脊髄造影やコンピューター断層撮影、磁気共鳴画像でも発見されにくいと思われるので、手術では神経組織異常の合併を念頭にいれ、術中脊髄モニタリングなど細心の注意が払われるべきである。