

脊椎先天異常に伴う脊髄障害に関する研究

大阪医科大学整形外科教室

小野村 敏 信
山 本 定
大 島 正 義

実験的に脊椎、脊髄奇形を有する動物を作製し、その病理形態、生後発育について検討した。

〔研究 I〕

はじめに

先天性脊椎奇形の中でも、二分脊椎は神経管閉鎖障害に起因するとされており、発生学的に脊髄の形成異常と特に密接な関係にあると考えられる。実験奇形学の分野でも古くから二分脊椎に関する研究があるが、従来の研究は主として脊髄の奇形発生機序に関する研究が多く、その病理形態や生後発育に関する研究は少ない。そこで実験的に二分脊椎動物を作成し、その脊髄形成異常と脊椎形成異常とを病理形態学的に検討した。

実験方法

Wistar 系フット（雌は生後 10 週令以上、未経産で体重 250g 前後のもの、雄は体重 300g 以上のもの）を用い、雌と雄とを 1 夜同居させ、翌朝陰栓の存在を確認したものを妊娠 0 日とした。その妊娠 6 日目から 10 日目までの間に、催奇形薬物として生体染色色素 Trypan blue 40mg/Kg~120mg/Kg を 1 回ないし 3 回腹腔内、又は皮下に投与した。

処置を行った母獣 130 匹中、末期まで妊娠の持続したもの 100 匹についてその胎仔並びに仔獣について観察を行った。100 匹のうち 80 匹の母獣は妊娠 20 日目に屠殺開腹し、得られた胎仔について外形観察と軟 X 線撮影および alizarin red S 染色骨格標本としての骨格異常の観察を行った。さらに脊椎に異常が認め

られたものに関しては Bouin 氏液で固定、パラフィン包埋し、体軸に垂直な面での連続切片として組織学的に観察した。

残りの 20 匹の母獣は自然分娩させ、飼育して生後観察を行った。脊椎奇形獣に関しては軟 X 線撮影を行い、さらに屠殺して組織学的にも観察した。

結果

I 妊娠末期胎仔の観察

妊娠末期に屠殺開腹した 80 匹の母獣より計 580 匹の胎仔を得たが、このうち外形奇形の認められたものは 57 匹（約 10%）であった。

外形奇形のうち最も多いものは頭蓋破裂、外脳症等の前部神経孔の閉鎖不全によると考えられる奇形であった。次に多いものは尾の奇形で、位置異常、短尾、無尾などであったが、これら尾の奇形が認められたものの中には腰仙椎の奇形のあるものが多かった。背部あるいは腰部の開放性二分脊椎や囊腫変化を認めるものもわずかであるが得られた（図 1）。

脊椎に異常が認められたものは 21 匹（3.6%）であった。奇形椎の高位は下位胸椎、腰椎、仙椎で、腰椎仙椎全体の高度は dysplasia の例から、仙椎に限局した椎弓骨化核欠損と椎体骨化核癒合を示す例や sacral agenesis（図 2）などで、腰部の開放性二分脊椎の例では腰仙椎の椎弓骨化核欠損と椎体骨化核の癒合等の所見が認められた。

脊椎奇形の認められたものは組織学的にも観察したが、奇形椎の高位やその頭側の脊髄に低

形成を認めるものが多かった。

図1. 開放性二分脊椎例 研究1

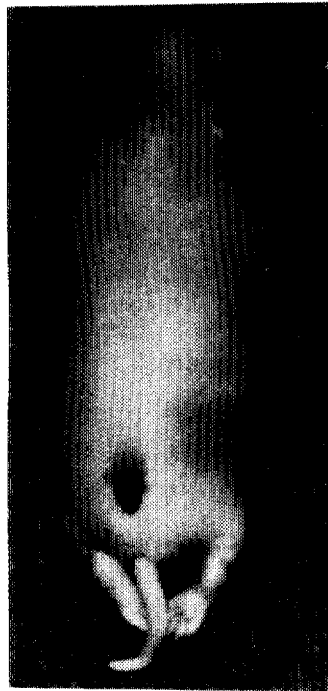
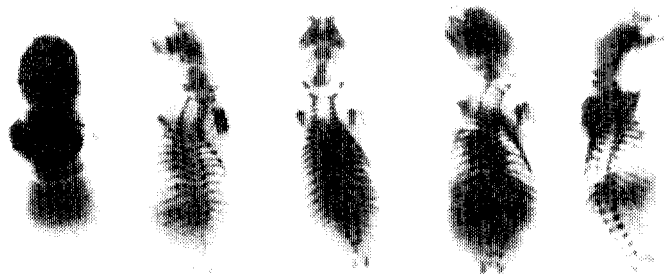


図2 研究1

Vertebral Malformations



Spinal agenesis	Malformation of thoraco-lumbar Vertebrae and Sacrum	Malformation of Lumbar Vertebrae and Sacrum	Sacral agenesis	Malformation of Sacrum
-----------------	---	---	-----------------	------------------------

II 自然分娩仔獣の生後観察

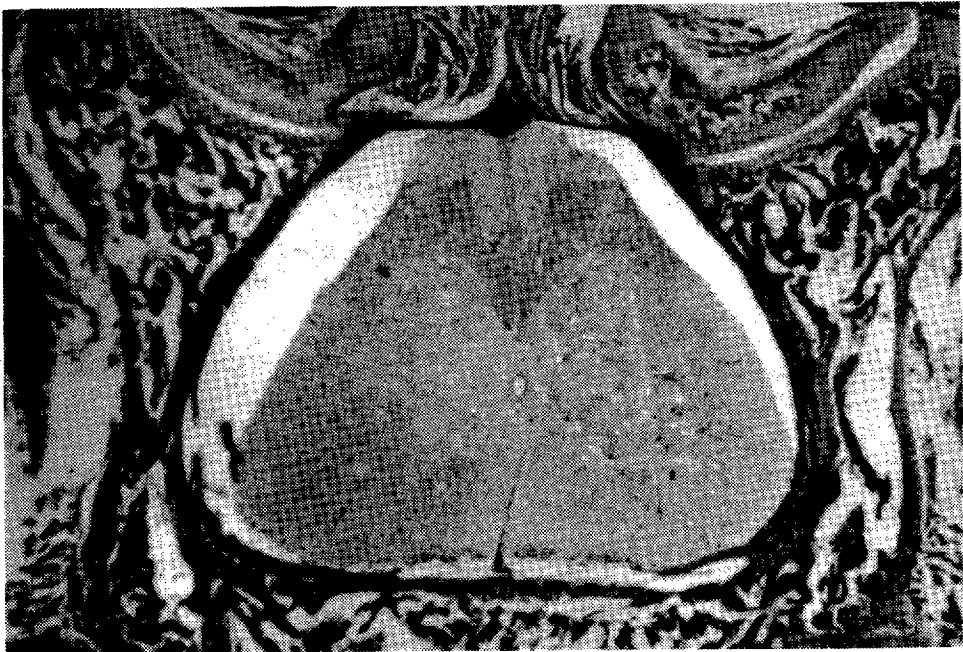
外脳症や高度な頭蓋破裂の仔獣は周産期に死亡した。軽微な頭蓋破裂のものは短期間飼育しえたが、成長とともに水頭症を合併し、成獣となるまでに死亡するものが多かった。腰仙椎奇形が認められた例では、生下時より両下肢麻痺があり、生長にともない腰仙部の後彎と下肢変形が著明となったが、成獣となるまで飼育しえた。autopsyでは脊椎管は第3腰椎の高位で盲端に終っており、脊髓は腰部膨大部なく、第2腰椎の高さで終わっていた。

第10, 11, 12胸椎の椎体癒合の症例で、脊柱を cross section として組織学的に観察すると、脊髓は奇形椎の高位で台形状を呈し、脊髓の背側で、脊髓と椎弓とが強く癒着している所見が認められた(図3)。このような椎体の癒合は臨床的にもしばしば認められるものであるが、この場合に合併しうる脊髓異常を示唆するものとして興味深い所見と考えられる。

まとめ

先天性脊椎奇形に合併する異常、特に脊髓の異常は临床上重要な問題であるが、種々の脊椎

図3. 奇形椎高位における横断面
脊髓の背側で脊髓と椎弓が癒着している。



奇形の中でも二分脊椎は発生学的に神経管閉鎖障害に起因するとされており、特に脊髓の形成異常と密接な関係にあると考えられる。

実験奇形学分野でも古くから二分脊椎に関する研究があるが、生体染色々素 T_r ypan blue による催奇形実験は、レントゲン照射法 Vitamin A 過剰投与方法と並んで数多く行なわれている方法である。1948年、Gillmanらが最初に報告して以来Humburgh(1954)、Gunberg

(1956)、Warkany(1958)等多くの報告があるが、それぞれ実験動物、薬物の投与時期、投与方法、投与量、観察の時期が異なり、発生率の比較は困難である。

今回行った実験方法は、主として妊娠8日目の単回腹腔内投与、7日目と9日目の2回腹腔内投与(Lendon 1968の方法に準ずる)、妊娠7, 8, 9日目の3回腹腔内投与等の方法を用い全体として約10%の外形奇形を得た。こ

のうち多くは頭蓋破裂や外脳症等の前部神経孔閉鎖不全で、後部神経孔閉鎖不全と考えられる二分脊椎は少なかった。椎骨の異常は全胎仔の3.6%に認められた。奇形椎の高位は下位胸椎腰椎、仙椎で腰仙椎の奇形例に尾の異常を合併するものが多く認められた。奇形の種類は臨床的には見られない高度な腰仙椎の dysplasia や腰椎、あるいは仙椎の椎弓骨化核欠損、椎体骨化核癒合、sacral agenesis 等種々雑多で画一的な傾向は認められなかった。組織学的には奇形椎とその頭側での脊髄の低形成が認められた。

奇形獣の生後観察も重要な課題であるが、合併しやすい頭部の異常によりその飼育は困難である。成獣となるまで飼育しえた奇形獣は少ないが、Hoshino (1972) らの報告にみられる様な Myelodysplasia の例があった。又臨床的にもしばしばみられるような椎体癒合の例に脊髄と椎弓との癒着などの所見が認められ、脊椎奇形の治療上考慮しなければならぬ事を示唆するものであった。

研究2.

前記の研究1では、実験的に脊椎、脊髄奇形を有する動物を作製し、その病理形態及び生後発育について検討し報告した。Wistar-rat に Trypanblue を投与し、その胎仔並びに仔獣にみられた脊椎奇形の出現率は3.6%であった。

今回、実験動物を Wistar-rat から Donryu-rat に品種を変更する事により脊椎、脊髄奇形を有する胎仔の発生率が2.9%と著明に向上し、さらに開放性二分脊椎を有する胎仔も1.3%に得られた。又これら脊椎、脊髄奇形に伴う後肢変形も数多く認められた。脊椎、脊髄奇形胎仔の病理学的観察や、麻痺性後肢変形の種類と脊椎、脊髄奇形高位との関係について更に検討を加える目的で実験を行った。

実験方法

実験動物は Donryu-rat を使用し、雌と雄を一夜同居させ、産栓を確認した日を妊娠第0日目とした。催奇形剤は Trypan blue で、妊娠7日目、8日目、9日目のいずれかに4.0mg/Kgr を単回腹腔内に投与した。Trypan blue 投与後死亡例を除き、妊娠後期まで妊娠継続可能であった母獣を妊娠18~21日目に開腹し胎仔を取り出し外表奇形を観察した。その後軟X線撮

影を行い脊椎の骨化核異常を検討し一部に alizarin red S alcian blue 骨軟骨2重染色を行い、その骨格奇形を観察した。又催奇形剤投与時期と軟X線撮影での脊椎奇形高位との関係や、合併する後肢変形と脊椎奇形高位との関係等について検討した。従来の方法では余り得られなかった開放性二分脊椎胎仔についても病理形態学的に観察した。

結果

妊娠7日目、8日目、9日目に Trypan blue を投与した各々10匹、計30匹の母獣より合計378匹の胎仔を得た。何らかの外表面奇形が観察されたものは全体の28%にあった。その種類と発生頻度は腰仙部の皮膚異常を有するもの(開放性二分脊椎や腰仙部の皮膚陥凹などがあるもの)3%、内反足、踵足など後肢変形が観察されたもの18%、下位軀幹の低形成が認められたもの2.4%、尾の欠損あるいは低形成のものは2.4%であった。前肢の異常や Wistar-rat で多数発生した頭蓋破裂、外脳症等の頭部の異常は認められなかった。

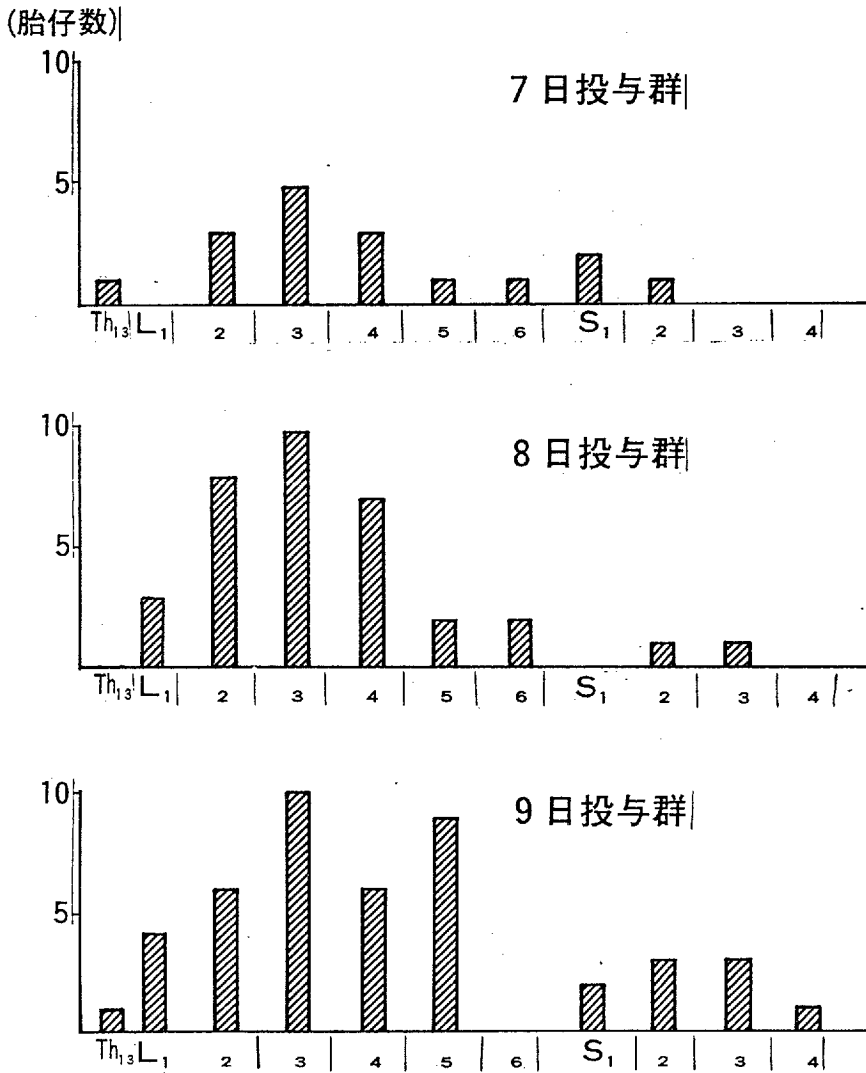
これらの外表面奇形の出現率を投与日別にみると、7日目投与群12%、8日目投与群35%、9日目投与群40%と、8日目、9日目投与群に高率に認められた。

全胎仔に軟X線撮影を行い、脊椎の骨化核の異常について検討した。軟X線像上全胎仔の29%に脊椎骨化核異常を認めた。骨化核異常高位は主に胸椎下位から尾側に認められ骨化核の形成不全、欠損がほとんどであった。

こちらに、骨軟骨染色を行い脊椎の骨格異常を観察すると、形成不全には主に椎体の骨化核に変形、形成不全が強いもの、椎弓の骨化核が欠損し、椎体の骨化核が残存しているもの、又両骨化核ともに形成不全、欠損のみられるもの等があった。腰椎下位から仙椎部の形成不全を有するもの、特に sacral agenesis を有するものには両側腸骨骨化核が接近しているのが認められた。

奇形椎高位を催奇形剤の投与日別にみると奇形椎の上限は投与が遅くなるに従って、仙椎レベルでの奇形を有する胎仔の発生率が高くなったが、催奇形剤の投与時期が早いほどより頭側での奇形が発生する傾向はなかった(表1)。

表1 奇形椎高位と投与日との関係



後肢変形は脊椎奇形を有する胎仔の62%に認められた。その種類は内反足、踵足、股関節外転外旋位変形、股関節屈曲位膝伸展位変形を呈すもの等4型に分類できた(図1)。発生頻度は内反足が最も多く、脊椎、脊髄奇形仔中の27%、踵足は17%、股関節外転外旋位変形21%、股関節屈曲位膝伸展位変形5%であっ

た。これらの後肢変形と脊椎骨化核異常の上限を検討すると、内反足、踵足、股関節外転外旋位変形を呈すものは奇形椎高位との明らかな関係は認めなかったが、股関節屈曲位膝伸展位変形を有する胎仔は腰椎高位での骨化核異常を有するものが多かった(表2)。

開放性二分脊椎を伴う胎仔は全胎仔中1.8%、

図1. 各種の後肢変形

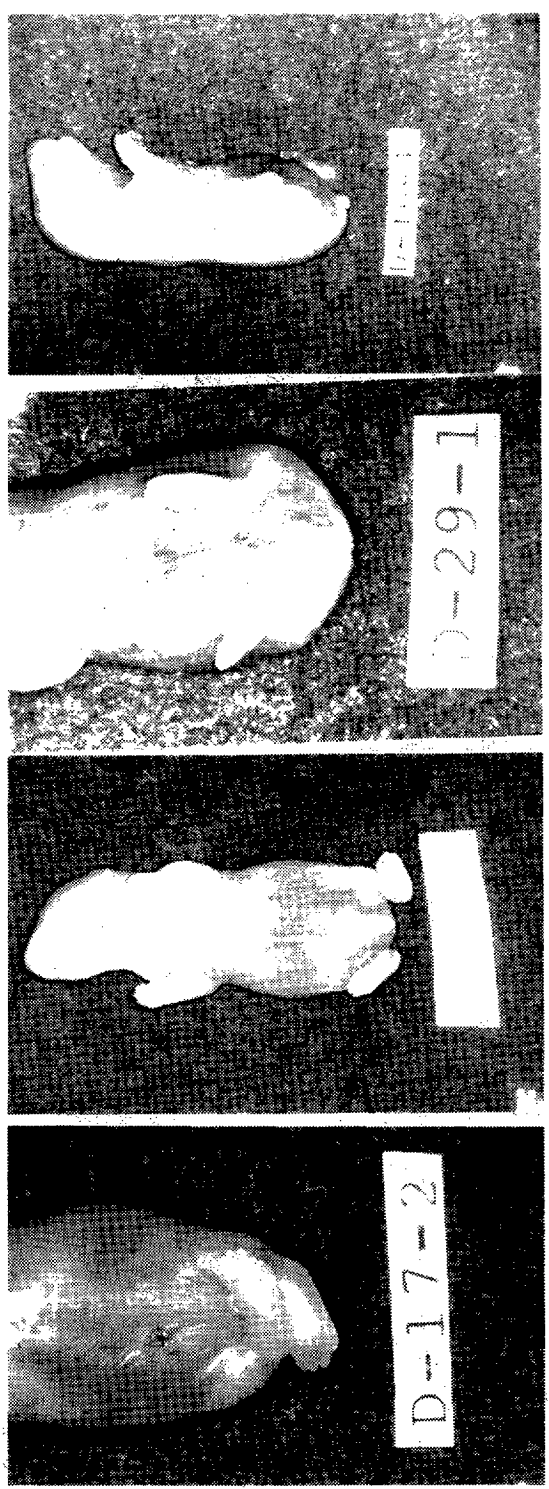
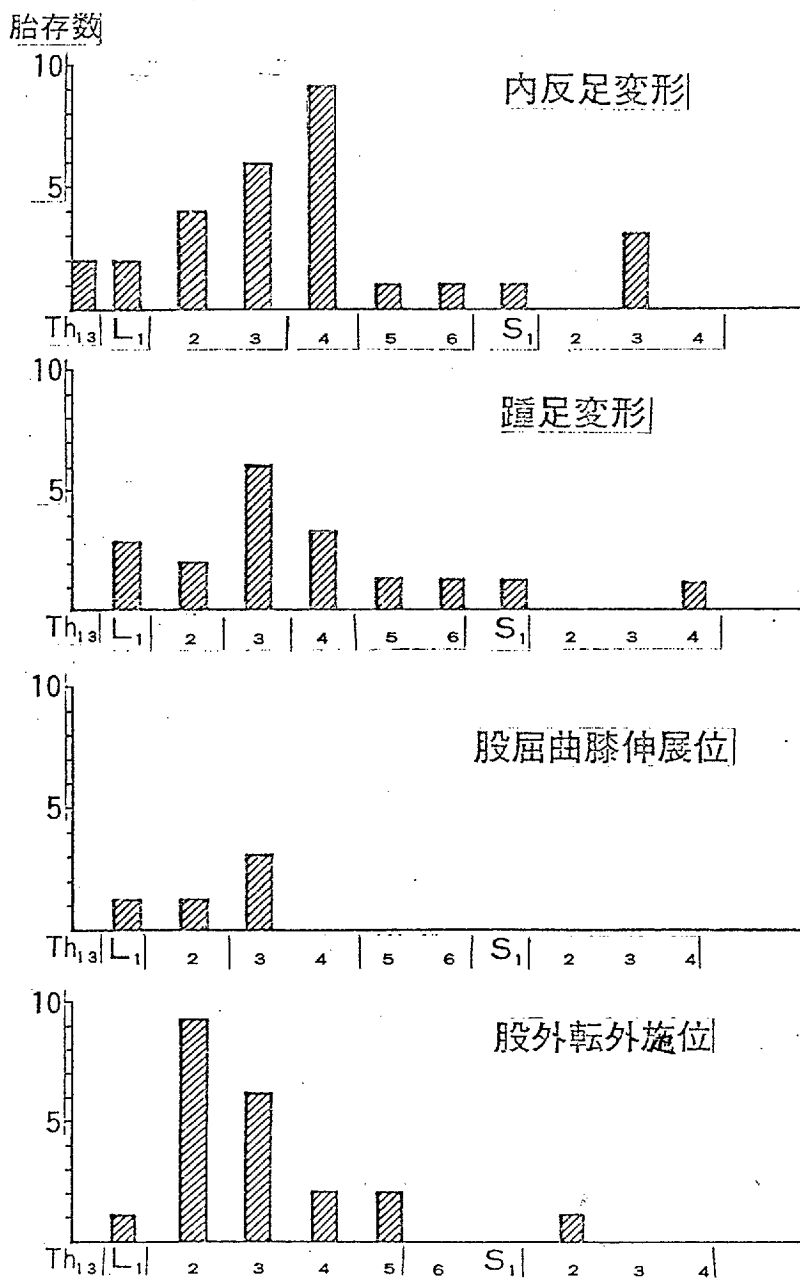


表2 後肢変形と奇形椎上限との関係



脊椎奇形胎仔中6.6%に認められた。皮膚の欠損部は腰仙部に認められ、同部は薄い被膜で覆われ、一部は囊腫状となったものもみられた。

皮膚欠損部の範囲は、大きなものでは腰仙部の大部分を占める程度のものから、点状の小さなものまで認めた。しかし皮膚欠損の範囲と軟X

線像上での骨化核の変形、欠損の程度とは関連がないように思われた。開放性二分脊椎を有する胎子の脊椎骨化核異常レベルは、Th₁₃、L₁、L₂ と他の脊椎奇形胎子の異常レベルと比較し、より高位からの dysplasia を伴うものがほとんどであり（表3）、これらでは椎弓の骨化核が欠損し、椎体の骨化核は変形はみられるが残存しているのが特徴であった。

組織学的には、皮膚欠損部の Transverse section では脊椎は anomalous な椎体のみが存

在し、椎弓は欠損していた。腰椎部ですでに脊髄は認められず、体表近くの異常な位置に巨大な Spinal-ganglion が存在していた。別の開放性二分脊椎胎子の sagittal section では脊髄は奇形椎体より頭側で終わっているが、硬膜と共に後方へ牽引されている。硬膜は皮膚欠損部まで連絡し、体表に開放していた（図2）。

考察及びまとめ

Trypan blue は中枢神経系の奇形を効果的に発生せしめ得る催奇形剤としてよく知られてい

表3 開放性二分脊椎の胎子における奇形椎上限

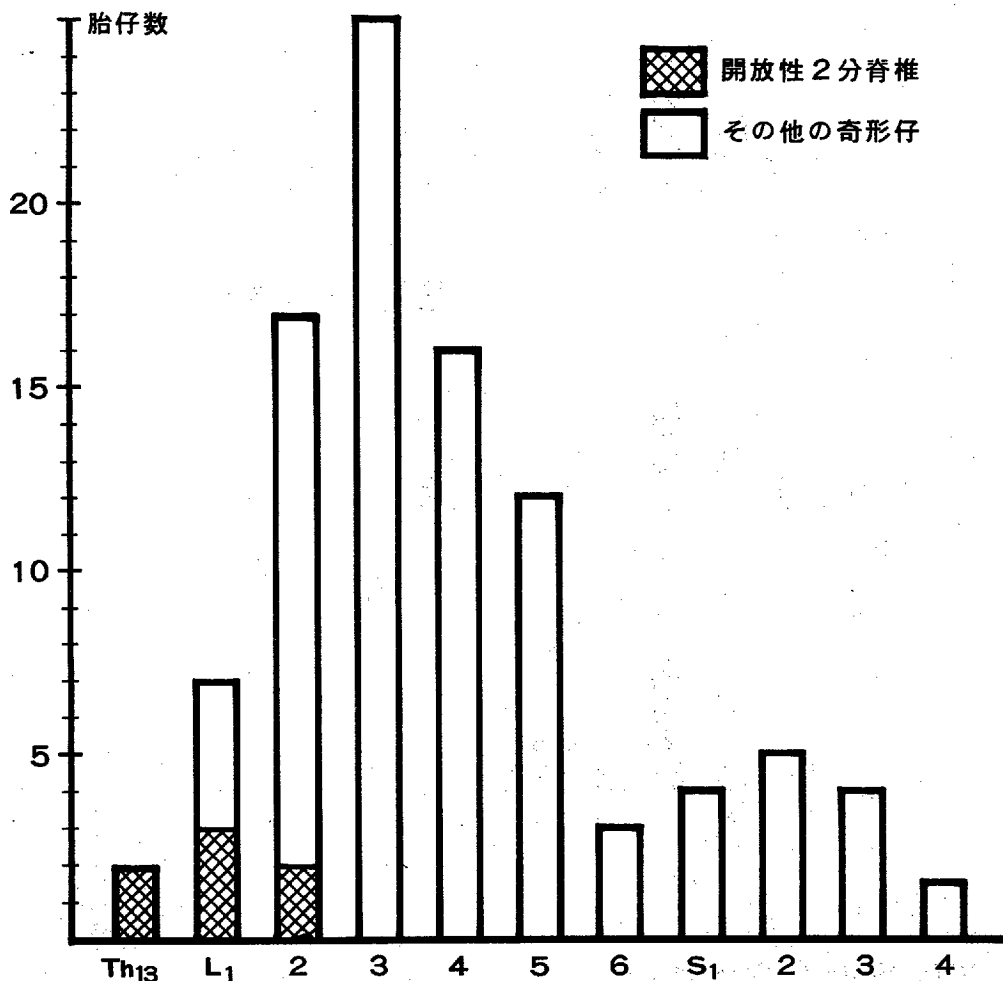
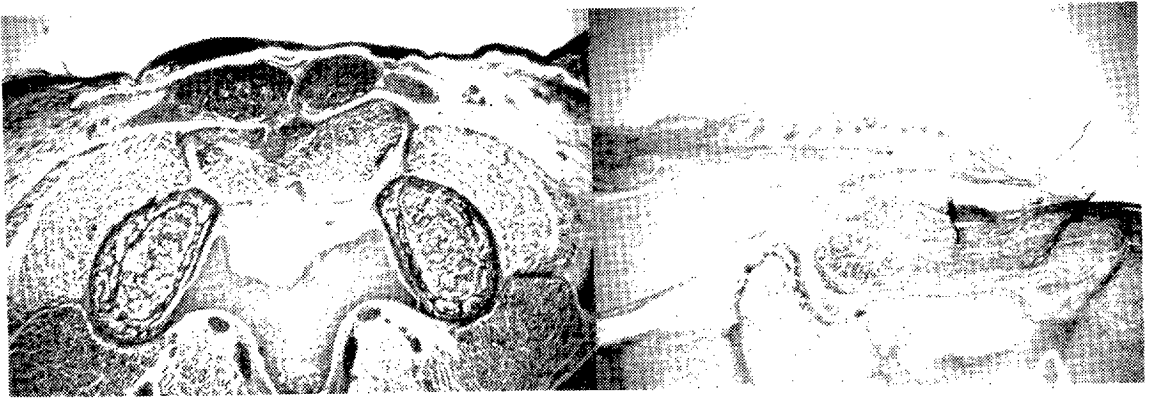


図2 開放性二分脊椎胎仔の脊椎脊髄組織



る。その投与方法は各実験者により種々であるが、ratにおいては妊娠6日目から10日目に投与した場合に高率に中枢神経系の奇形の発生をみている。本実験では催奇形剤の投与日とその脊椎、脊髄奇形の種類との関係や、投与日と奇形椎高位について検討する目的で妊娠7日目、8日目、9日目に単回投与のみ行った。その結果、軟X線像による骨化核の観察では腰仙椎の dysplasia aplasia がほとんどで、特に脊椎奇形の種類と催奇形剤の投与時期との明らかな関係は認められなかった。しかし奇形椎高位は投与日が遅れるに従って仙椎レベルでの奇形を有する胎仔が増加する傾向がみられた。

従来使用していたWistar-rat では脊椎脊髄奇形は全胎仔。3.6%に得られたが、Donryu-rat に品種を変更する事により脊椎脊髄奇形を有する胎仔は29%に増加した。Wistar-rat にみられた腰仙椎の異常も dysplasia aplasia を呈するものがほとんどで Donrya-rat で高頻度に得られた外脳症等の頭部の異常は今回認められなかった。一般に催奇形実験においては発生する奇形の種類並びにその発生率は、催奇形剤の種類、投与時期、投与方法、動物種等に関係が深いと考えられているが、本実験では同一動物種間でも品種によって大きく異なる事がわかった。

脊椎、脊髄奇形に伴う後肢変形は全胎仔の24%に脊椎、脊髄奇形を有する胎仔の62%に認められた。その種類は前述の如く4型の後肢変形が認められた。このうち股関節屈曲位膝伸展位変

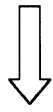
形以外のもの、特に内反足、踵足変形を有する胎仔においては脊椎奇形高位と後肢変形との明らかな関係はみられなかった。これらの変形には単なる麻痺性変形のみならず他の因子、特に London らの指摘している如く子宮内の mechanical な factor も変形に関与していると思われる。

全胎仔の1.8%に開放性二分脊椎を有する胎仔を得た。これらは他の脊椎、脊髄奇形胎仔に比較し、より高範囲の dysplasia を有するものがほとんどであり、組織像においても椎体の変形、体表直下の巨大変形した spinal ganglion の存在等、他の閉鎖性脊椎、脊髄奇形仔に比較し、高度な異常が認められるものであった。

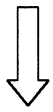
参考文献

- 1) Gillman J., Gilbert C., Gillman T : A preliminary report on hydrocephalus, spina bifida and other congenital anomalies in the rat produced by trypan blue. S. Atr. J. med, Sci., 13, 47, 1948.
- 2) Gunberg D.L. Spina bifida and the Arnold-Chiari malformation in the progeny of trypan blue injected rat. Anat Rec. 126, 343, 1956.
- 3) Hamburg U : The embryology of trypan blue induced abnormalities in mice. Anat Rec. 119, 409, 1954.
- 4) Hoshino K : Experimental studies on myeloshisis and myelodysplasia. Cong.

- Anom. 11(4), 179, 1971.
- 5) R. G. Lendon : Studies on the embryogenesis of spina bifida in the rat. Develop. med. Child Neurol. 10. suppl. 16, 54, 1968.
- 6) R. G. Lendon : Normal posture and deformities of lower limbs in rat fetus with experimentally produced spina bifida, Develop, med, child Neurol. 13 Suppl. 25, 50-57, 1971.
- 7) R. G. Lendon : The embryogenesis of Trypan-blue induced spina bifida aperta and short tail in the rat. Develop, med. Child Neurol. 17, suppl. 35, 3-10, 1975.
- 8) Warkany J., Wilson J. G., Geiger J. F.: Myelosis and myelomeningocele produced experimentally in rat. J. comp. Neurol, 109, 35-64, 1958.



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



はじめに

先天性脊椎奇形の中でも、二分脊椎は神経管閉鎖障害に起因するとされており、発生学的に脊髄の形成異常と特に密接な関係にあると考えられる。実験奇形学の分野でも古くから二分脊椎に関する研究があるが、従来の研究は主として脊髄の奇形発生機序に関する研究が多く、その病理形態や生後発育に関する研究は少ない。そこで実験的に二分脊椎動物を作成し、その脊髄形成異常と脊椎形成異常とを病理形態学的に検討した。