椎間板内薬物注入の実験的研究 — 組織学的検討および椎間板内圧測定 —

久留米大学医学部整形外科

佐藤 公昭・永田 見生
大橋 輝明・石橋 和順
安部 淳・森田 雅和
廣橋 昭幸・井上 明生

Experimental Intradiscal Drug Injection : Histological Studies and Measurement of Intradiscal Pressure

by

Kimiaki Sato, Kensei Nagata, Teruaki Ohashi, Kazumasa Ishibashi,
Jun Abe, Masakazu Morita, Teruyuki Hirohashi and Akio Inoue
Department of Orthopaedic Surgery, Kurume University School of Medicine

We investigated the pathological changes and alterations in intradiscal pressure after an experimental intradiscal injection in the mature rabbit. Thirty intervertebral discs in 6 rabbits were used as controls, and normal pressures were measured. Chymopapain, 10% sodium chloride, or betamethasone were injected separately into 5 intervertebral discs of 9 rabbits. Rabbits were sacrificed at 1 week, 4 weeks, and at 12 weeks after the intradiscal drug injection. The intradiscal pressure changed depending on the degree of disc degeneration and if there was any regeneration. The chymopapain-injected intradiscal pressure decreased significantly at 4 weeks compared with the pressure at 1 week and at 12 weeks ($p<0.05$, $p<0.01$ respectively). The intradiscal pressure of the 10% sodium chloride-injected discs decreased at 4 weeks, but by 12 weeks the pressure had recovered to the same level as found in the controls. Necrotic nucleus pulposus was seen histopathologically at 1 week after chymopapain injection, and at 1 week after the 10% sodium chloride injection. At 12 weeks, there intervertebral discs had regenerated with chondrocytes different from in the normal nucleus pulposus.

The pressure of the betamethasone-injected discs was unchanged throughout the 12 weeks with only slight histological changes.

Key words : intervertebral disc (椎間板), intradiscal drug injection (椎間板内薬物注入), intradiscal pressure (椎間板内圧)

はじめに

現在椎間板ヘルニアに対する中間療法として種々の薬物が椎間板内注入療法に用いられている。今回我々は家兔の腰椎椎間板内に各種薬物を注入して椎間板内圧を測定し、組織学的変化との関係を検討したので報

告する。

対象および方法

対象は成熟家兔 33 羽で、6 羽 30 椎間をコントロールとして用い正常椎間板内圧を測定し、27 羽に薬物を注入した。

方法は Sodium Pentobarbital 10~15mg/kg および Ketamine hydrochloride 30~50mg/kg 静脈麻酔下に側方より腹膜外経路で腰椎を展開し、23G注射針を直視下に椎間板に刺入して薬物を注入した。注入薬剤は Chymopapain 500 pkat unit/ml, 10%高張食塩水, および Betamethasone 4 mg/ml であり、各々9羽に各薬剤を1椎間板当り 0.02ml 注入した。注入部位は L1/2~L5/6 の5椎間板とした。注入後1週, 4週および12週で3羽ずつ屠殺し、椎間板内圧の測定を行った後、組織学的検索を行った。椎間板の内圧測定装置は HEWLETT PACKARD 社製の Model 8850C Pressure Amplifier を用い、日本光電製の Thermal Array Recorder に記録した。

結 果

正常椎間板の組織像は髄核と線維輪との境界は明瞭であり、線維輪は外方凸の規則正しい層状構造をとっている。髄核の強拡大では濃染する核を持ち環状の合胞形態をとる脊索細胞を認める(図1)。

Chymopapain 注入例では椎間板内圧は1週目ですでに著しく低下し、12週経過すると内圧の回復を認めたが、正常と比べるとなお明らかに低値を示してい

た(図2)。組織学的には1週目は髄核部分が広範な壊死に陥り、髄核と線維輪との境界は判別不能で、椎間は後方部分が著しく狭くなっていた。4週目では髄核と線維輪の境界は不明瞭で椎間は著しく狭くなっていた。強拡大では髄核周囲に軟骨細胞を認めるが、中央部分は壊死のままであり、後方の内側線維輪は内側凸の走行を呈していた。注入後12週で髄核周囲からの軟骨細胞の増生を認めた(図3)。

10%高張食塩水注入例では内圧は4週目で低下し、12週経過すると回復していた(図2)。組織学的には1週目で髄核は部分的壊死に陥っていた。4週目では髄核と線維輪との境界は明瞭だが、髄核内の細胞配列の乱れを認めた。椎間は Chymopapain と比べると軽度だが、やはり後方部分が狭くなっていた。強拡大では脊索細胞は一部残存するが、髄核には halo を伴った軟骨細胞を認め、cluster を形成していた(図4)。12週目では軟骨細胞の増生を認めたが、一部に環状合胞形態にやや乱れを認める正常に近い脊索細胞が見られるものもあった。

Betamethasone 注入例では12週まで内圧の有意な変化はなかった。組織学的には12週目で髄核部分は肉眼的に光沢を失い細胞配列のわずかな不整を認めた。強拡大では脊索細胞の環状の合胞形態は乱れていた(図5)。

考 察

Chymopapain はパパイヤから抽出された蛋白分解酵素であり、1964年 Smith らによりはじめて臨床応用が報告され¹⁰⁾、以後欧米を中心に広く用いられている。その有効性は明らかであるが重篤な合併症もあり、より安全で効果的な注入薬物が求められている。高張

図1 a. 家兎正常椎間板矢状面全体像 (HE×5)
b. 正常髄核 (HE×50)

椎間板内圧

図2 椎間板内圧測定結果

図3 a. Chymopapain 注入後 4 週の椎間板矢状面全体像 (HE×5)

b. 椎間板中央部：線維輪は内方凸の走行を示し、髄核部は壊死に陥っている (HE×50)

c. Chymopapain 注入後 12 週の髄核部：軟骨細胞による修復を認める (HE×50)

食塩水を椎間板内に注入することに関しては近年その臨床応用の可能性について検討されている⁹⁾。ステロイドは 1956 年 Feffer⁴⁾ が初めて報告し、本邦では室らが臨床成績を報告している⁸⁾。他に種々の薬物が検討されているが、評価は未だに定まっていない。

椎間板内注入薬物の作用は椎間板内圧低下によるものと抗炎症作用によるものに分けられる。Chymopapain や高張食塩水は前者でステロイドは後者である。

図4 a. 10%高張食塩水注入後 4 週の椎間板矢状面全体像 (HE×5)

b. 髄核部：残存する脊索細胞と、halo を伴った軟骨細胞を認める (HE×50)

図5 a. Betamethasone 注入後 12 週の椎間板矢状面全体像 (HE×5)

b. 髄核部：脊索細胞の環状合胞形態の乱れを認める (HE×50)

髄核に蛋白分解作用を持つ薬物を注入した場合、髄核が変性壊死に陥ると内圧は低下し、軟骨細胞による再生が起こると内圧が回復していた。内圧低下の程度は変性・壊死の程度に左右され、これは薬物の種類・濃度・容量に依存する。内圧回復の程度は正常髄核細胞の有無、線維輪の状態、椎間狭小の程度など髄核および周囲組織の修復状態に左右される。髄核の再生は薬物の種類や濃度による差異はあるものの、元来の脊索細胞で再生されるのではなく、軟骨細胞によって置換される不可逆的な変化であり³⁾、その再生の程度に応じて内圧回復の期間や程度も変わるものと思われる。キモパインは大量に注入すると修復にあたる線維輪内層まで消化され、時間が経過してもほとんど修復が起こらないと報告されており⁵⁾、組織及び椎間板内圧の変化を検討する本実験ではこの点を考慮に入れ、組織修復が期待できる dose に決定した。薬物の volume に関しては成熟家兎のすべての腰椎椎間板に注入可能であり、かつ誤差がないようにある程度の volume となることを考え併せて決定した。

組織学的に髄核が軟骨細胞によって再生修復されるのにある程度の期間が必要である。10%高張食塩水注入例では4週後に髄核部分に軟骨細胞を認めたが、椎間板内圧の回復はこれより遅れ、Chymopapain 注入例ではさらに長期間を要することを考えると、臨床的に侵襲の少ない治療法であるが後療法には一定の安静期間が不可欠と思われた。

また今回の実験では椎間狭小化が後方部分により強く見られ、薬物が効果的に働くのが椎間板の後方部位であることが示唆された。臨床的にも経皮的髄核摘出術後2年以上経過した症例のX線学的評価を行った結果、後方の椎間板高の減少のみが認められたとの報告もあり⁷⁾、髄核に損傷が加えられた際、椎間板はある一定の修復過程をとることが推測された。

ステロイドの作用機序に関しては十分には解明されていない。今のところ抗炎症作用⁴⁾や自己免疫反応¹⁾²⁾などが推測されているが、今回の実験結果により椎間板内圧の低下がステロイドの作用機序に強く関与している可能性は否定的であった。しかし臨床的にはその有用性が報告されており⁸⁾、Chymopapain や高張食塩水などとは明らかに異なる作用機序によるこ

とが推察される。Feffer は椎間板内に hydrocortisone を注入し、2年後に椎間腔の狭小化も椎間板変性の促進もなかったとしている⁴⁾。しかし加藤⁶⁾は12ヶ月後には椎間腔の狭小化とMRI上輝度の低下を認めており、長期的には椎間板の変性、それに伴う椎間板内圧の低下も考えられる。

ま と め

1. 成熟家兎を用い、椎間板内薬物注入の実験的研究を行った。

2. 薬物による髄核の変性・壊死に伴い椎間板内圧は低下し、軟骨細胞による再生に伴い内圧の回復を認めた。

3. ステロイド注入例では髄核の変化は軽微であり、椎間板内圧に変化はなかった。

参 考 文 献

- 1) Bisla RS, et al. : Auto-immunological basis of disk degeneration. *Clin Orthop*, 121 : 205-211, 1976.
- 2) Bobechko WP, Hirsch C : Auto-immune response to nucleus pulposus in the rabbit. *J Bone Joint Surg*, 47 B : 574-580, 1965.
- 3) 千葉一裕 : 各種化学物質の椎間板およびその周囲組織に及ぼす影響に関する実験的研究 (第一報). *日整会誌*, 67 : 1055-1069, 1993.
- 4) Feffer HL : Treatment of low-back and sciatic pain by the injection of hydrocortisone into degenerated disc. *J Bone and Joint Surg*, 38-A : 585-592, 1956.
- 5) 林孝乾 : Chemonucleolysis に関する組織学的研究 - Chymopapain の注入量と椎間板修復について -. *日整会誌*, 65 : 216-229, 1991.
- 6) 加藤文彦 : MRI 所見から考察した IDT 療法の作用機序. *脊椎脊髄*, 4(12) : 949-954, 1991.
- 7) 河合淳, 長谷川徹, 渡辺良 : 腰椎椎間板ヘルニアに対する経皮的髄核摘出術. *整形外科*, 46 : 827-830, 1995.
- 8) 室捷之ら : 椎間板内 steroid 注入療法による腰部椎間板ヘルニア症 100 例の治療成績とその効果追跡. *整形外科*, 29 : 329-334, 1978.
- 9) 西川雄司ら : 椎間板内注入療法に関する基礎的、臨床的研究 - その可能性について -. *中部整災誌*, 34 : 465-467, 1991.
- 10) Smith L : Enzyme dissolution of the nucleus pulposus in humans. *J Am Med Assn*, 187 : 137-140, 1964.