

長寿医療研究開発費 平成26年度 総括研究報告（総合報告及び年度報告）

脊柱管狭窄症の分子病態と治療基盤に関する研究（24-12）

主任研究者 渡辺 研 国立長寿医療研究センター
運動器疾患研究部（骨細胞機能研究室長）

研究要旨

3年間全体について

腰部脊柱管狭窄症は、高齢者に好発し、著しくQOLを低下させる運動器疾患であり、わが国の推定患者数は500万人以上に上る。このように高齢者の主要な運動器疾患にもかかわらず、本症の治療には、短期的効果や疼痛緩和の対症療法と、手術による狭窄圧の除去など、エビデンスに支持される治療法の選択肢は非常に限られている。主な狭窄要因である脊柱管内の黄色靭帯の変性肥厚について、オミックス解析による分子情報の取得から、脊柱管の臨床画像データの相関解析を行うことにより、診断・治療に資する分子病態について検討を行った。まず狭窄要因による病型分類とDNAメチロームのクラスタリング解析結果に高い相関が示され、靭帯性狭窄でと非靭帯性狭窄で初めて分子レベルのエビデンスを得た。この知見をベースに画像から病型分類するモデルを構築した。さらにプロテオーム、トランスクリプトーム解析から黄色靭帯変性肥厚の分子病態を明らかにした。靭帯肥厚の分子基盤を得た上で、狭窄要因による病型間には保存療法における治療効果の差異が認められたことから、当該研究期間において分子情報の取得から臨床情報との相関、さらには狭窄要因による病型分類の分子基盤とその臨床的意義について示すことができた。

平成26年度について

黄色靭帯の分子情報から変性肥厚に関与する分子・分子群の抽出を行い、肥厚と相関のあるタンパク質と変性黄色靭帯に散見する軟骨化生と弾性線維異常に関与する分子の同定を行った。また、靭帯性狭窄と非靭帯性狭窄の病型間において、保存療法の治療効果の差異を明らかにし、この狭窄要因別の病型の臨床的意義を示した。

主任研究者

渡辺 研 国立長寿医療研究センター 運動器疾患研究部（骨細胞機能研究室長）

分担研究者

酒井義人 国立長寿医療研究センター 脊椎外科（医長）

中村博幸 国立長寿医療研究センター 再生歯科医療研究部（副部長）（平成24年度）

金沢大学 医薬保健研究域歯科口腔外科学（准教授）（平成25年度）

研究期間

平成24年4月1日～平成27年3月31日

A. 研究目的

部脊柱管狭窄症は、臀部から下肢の疼痛やしびれを伴い、その約90%に歩行障害が認められる運動器疾患である。本症は高齢者に好発し、年々増加傾向にあり、わが国の推定患者数は数百万人に上る。また、疼痛を伴う歩行障害は、高齢者のADLを低下させるだけでなく社会参加を阻み、QOLの低下とさらには精神的な障害をも招き、介護予防の大きな課題となっている。このように高齢者の主要な運動器疾患にもかかわらず、本症の治療には、短期的効果や疼痛緩和の対症療法と、手術による狭窄圧の除去など、エビデンスに支持される治療法の選択肢は非常に限られている。診断ならびに手術技術の開発・改良が進み、現時点で手術治療が最も有効な治療方法とされている。しかし、2011年に腰部脊柱管狭窄症診療ガイドライン（日本整形外科学会・日本脊椎脊髄病学会監修）が策定されたが、その前文において「現在のところ明確な病態が不明であり、原因が明確になれば将来再分類される可能性がある。」としており、病態や病型の統一概念が得られていない現状である。これは同年に公開された北米脊椎学会（North American Spine Society）の腰部脊柱管狭窄症の診療ガイドライン（Evidence-based clinical guidelines for multidisciplinary spine care: Diagnosis and treatment of degenerative lumbar spinal stenosis, 2011）においても同様の見解が示されており、本症においては世界的にも未だ多くの不明な点がある。一方で、治療法の開発、とりわけ治療効果が高く、侵襲の低い生物製剤の利用が進んでいる他の運動器疾患（骨粗鬆症、関節リウマチなど）と大きく異なるのは、病態の理解と分類、治療法の開発などに資する分子病態が不明である事である。そこで、多層的疾患オミックスプロジェクトにおいて、腰部脊柱管狭窄症の黄色靭帯試料について分子情報が得られることから、これらの情報と臨床データを元に、病態の理解や診断・治療法の開発に資する腰部脊柱管狭窄症の分子病態・病理など分子基盤の解明とその分子情報に裏付けられた病型分類の確立を目的とした。

B. 研究方法

1. 分子病態に関する研究

Human FBLN5、MFAP4 ならびに HTRA1 cDNA は RT-PCR 法により単離し、pEF4-mycHisA に挿入した。HTRA1 はその活性に必須な Ser328 について PCR 法によって塩基置換によるアミノ酸変異 (Ser→Ala) を施した不活性型変異体 HTRA1SA を同様に作製した。HTRA1 には V5 タグ、FBLN5 および MFAP4 には myc-His タグを付与し、タンパク質の検出にはそれぞれ Anti-V5 タグ抗体ならびに Anti-myc タグ抗体を用いて行った。239T 細胞への遺伝子導入は FuGENE6 を用いた。国立長寿医療研究センターの倫理・利益相反委員会の承認をうけ、インフォームドコンセントの事前同意を得て腰部脊柱管狭窄症の手術から取得した黄色靭帯を液体窒素で凍結し、破碎を行った後、miRNeasy kit (Qiagen 社) を用いて RNA の調製を行った。マイクロアレイ解析は Agilent 社製のものを使用し、定量 PCR (Q-PCR) 法は、SYBR Premix Ex-taqII (タカラバイオ社) を用いて行った。バイオインフォマティクス解析には、GeneSpring GX12 (Agilent 社)、ならびに Ingenuity Pathway Analysis (IPA, Ingenuity 社) を用いた。

2. 病型分類に関する研究

画像計測データと他の臨床データ相関に関する研究：

国立長寿医療研究センターにおいて腰部脊柱管狭窄症および腰椎椎間板ヘルニアにより手術を施行し、多層的疾患オミックスプロジェクトで解析を行った 48 例 (腰部脊柱管狭窄症 33 例：平均年齢 71.1±11.2 歳、腰椎椎間板ヘルニア 15 例：平均年齢 53.2±17.8 歳) について、術前 MRI 画像より L1/2~L5/s1 高位における黄色靭帯厚及び面積、脊柱管面積を計測した。黄色靭帯厚及び面積は左右計測値の平均値を採用した。また腰部脊柱管狭窄症においては術中所見および術前 MRI 画像より罹患高位の責任病変が靭帯性か骨性を分類した。臨床データは発症前および発症後の Barthel Index、術前の日本整形外科学会腰痛治療判定基準 (JOA スコア；総 29 点満点、腰痛 3 点)、腰痛および下肢痛の visual analogue scale (VAS)、Roland Morris Disability Questionnaire (RDQ)、日常生活自立度を評価した。その他画像評価として、単純 X 線で腰椎側弯角 (L1-S1 Cobb 角)、腰椎前弯角 (L1-S1)、仙骨傾斜角、腰椎可動域 (L1-S1) を、CT で関節水腫の厚さ (最大部位の左右平均値) と L4/5 椎間関節角 (左右平均値) を、MRI で終板変性の有無を Modic change で評価し、体幹筋萎縮を L1/2 および L4/5 高位の横断面で多裂筋および脊柱起立筋断面積 (左右の和) で評価した。また DXA 法で四肢筋量を身長² で除した skeletal muscle mass index (SMI) を計測し、それぞれ黄色靭帯評価との関連を検討した。

病型分類の客観的評価系に関する研究：

腰部脊柱管狭窄症のため手術を施行した患者 230 例の臨床データをまとめた。平均年齢 72.6 歳 (50~91 歳)、男性 126 例、女性 104 例、術式は脊椎固定術 102 例、椎弓形成術 (除圧術) 128 例であった。術前 MRI における T2 強調横断像より最狭窄部の黄色靭帯部分の断面積および脊柱管断面積を面積計算ソフト (SYNAPSE®, FUJIFILM MEDICAL) を用いて計測した。術前 MRI 画像および術中所見より馬尾または神経根狭窄の主たる圧迫因子を靭帯性および非靭帯性 (骨性狭窄、椎間板ヘルニアを含む) に分類し、臨床データと照合した。また靭帯性狭窄を定義するため、SPSS を用いて ROC 曲線を作成し、Youden Index から最狭窄部における靭帯成分の占める割合を靭帯面積/脊柱管面積でもとめ、靭帯性狭窄の cut off 値を求めた。

臨床的意義に関する研究：

LSS による下肢症状のため経口 PGE1 投与の効果が乏しく、Lipo-PGE1 点滴を行い、効果判定しえた 191 例 (男 87 例、女 104 例、平均 75.0±6.9 歳) を対象とした。黄色靭帯肥厚は LSS 手術例 230 例から狭窄部の黄色靭帯面積と術中所見から解析した靭帯面積/脊柱管面積の cut off 値 0.4275 (感度 0.861, 特異度 0.854, AUC 0.92, 95%CI=0.891~0.950) をもとに靭帯性狭窄、骨性狭窄に分類した。各分類につき Lipo-PGE1 投与 2 週における治療効果を、VAS、JOA スコア、Roland-Morris Disability Questionnaire (RDQ)、EQ5D で評価した。

(倫理面への配慮)

本研究課題の実施にあたっては、厚生科学審議会答申「手術等で摘出されたヒト組織を用いた研究開発の在り方」(平成 10 年 12 月 16 日) 等の関連指針に則り、肥厚黄色靭帯組織サンプルについては提供者の同意を前提とし、個人情報保護を徹底する。本研究は、倫理・利益相反委員会へ申請し、承認を受けた上で実施した。また、動物実験は、独立行政法人国立長寿医療研究センターの動物実験指針等に則り、動物愛護上の配慮に留意し、動物実験倫理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

3 年間全体について

1. 分子病態に関する研究

通常の腱・靭帯組織がコラーゲン線維を主とするのとは異なり、黄色靭帯は弾性線維を主とする特殊な靭帯組織である。多層的疾患オミックスプロジェクトのプロテオーム解析により顕著な増減を示す蛋白質は主に細胞外マトリックス分子であり、正常の弾性線維組織

から変性・肥厚への変遷プロファイルを反映するものと考えられた。そこで、腰部脊柱管狭窄症由来変性黄色靭帯群で増加していた HTRA1 と、低下していた Microfibril associated protein-4 (MFAP4) について 293T 細胞を用いた共発現系を用いて相互作用解析を行ったところ、HTRA1 の発現用量依存的に MFAP4 発現量が減少した。一方、HTRA1 の活性中心である Ser328 を Ala に置換したプロテアーゼ活性欠損変異体 HTRA1SA では MFAP4 の減少が見られなかったことから、HTRA1 の酵素活性が MFAP4 の減少に寄与している可能性が考えられた。

腰部脊柱管狭窄症における変性肥厚黄色靭帯のトランスクリプトーム解析を行ったところ、非変性黄色靭帯（腰椎椎間板ヘルニア由来試料）との比較において、1.5 倍以上の増減として、変性黄色靭帯で 565 個の遺伝子発現亢進ならびに 495 個の遺伝子発現低下が検出された。これらの変動遺伝子について IPA により解析を行ったところ、炎症関連遺伝子の発現亢進、またパスウェイ解析では遺伝子発現変化が組織線維化の遺伝子変化と高い相関がある事が示された。そこで、これらのデータを狭窄要因に基づく病型分類（靭帯性狭窄と非靭帯性狭窄）により分別して、上流因子解析を行ったところ、靭帯性狭窄群では、上位から IFN γ (activation Z score, 5.787)、TNF(同、2.819)、MAP キナーゼ阻害剤 U0126 (同、-2.424=阻害)などが推測された。一方、非靭帯性狭窄群においては、CSF2(同、3.793)、IL10(同、1.304)などが推測され、腰部脊柱管狭窄症の黄色靭帯では炎症が関わるものの、狭窄要因による病型でその成因が異なることが示唆された。

2. 病型分類に関する研究

靭帯性狭窄は 113 例 (49.1%)、非靭帯性狭窄は 117 例 (50.9%) であり、平均年齢は靭帯性 74.6 \pm 6.5 歳、非靭帯性 70.7 \pm 6.8 歳と有意に靭帯性で高齢であった(p<0.01)。術式も固定：除圧は靭帯性 34:79、非靭帯性 68:49 と有意に靭帯性では除圧術が選択されていた(p<0.01)。術前の痛みは腰痛、下肢痛とも VAS (0-10) および日本整形外科学会腰痛治療判定基準(JOAS コア; 29 点満点)では靭帯性・非靭帯性で有意差はなく、ADL 評価としての Roland Morris Disability Questionnaire (RDQ; 24 点満点)、EQ-5D(0-1)、健康度 VAS (0-10) のいずれも靭帯性・非靭帯性で有意差は認めなかった。SF-36 においては physical および mental component の 8 項目すべてで両群間で有意差を認めなかった。

画像所見では DXA 法で計測した四肢筋量は上肢・下肢とも靭帯性・非靭帯性で有意差はなく、単純 X 線での腰椎前弯角 (L1-S1)、仙骨傾斜角、腰椎可動域 (L1-S1) すべて両群間で有意差を認めなかった。MRI 上における腰背筋断面積も L1/2 高位および L4/5 高位の脊柱起立筋・腰部多裂筋断面積ともに靭帯性・非靭帯性で有意差は認めなかった。L4/5 高位の椎間関節角および椎間関節水腫の程度においても両群間で有意差を認めなかった。Hand-Held Dynamometer (Isoforce GT-300 ; OG GIKEN) で計測した術前の背筋力、腹筋力においても

有意差を認めなかった。

MRI における最狭窄部の靭帯面積は靭帯性狭窄で $129.8 \pm 37.8 \text{mm}^2$ 、非靭帯性狭窄で $63.2 \pm 32.0 \text{mm}^2$ と有意に靭帯性で大きく ($p < 0.01$)、最狭窄部の靭帯面積/脊柱管面積は靭帯性 0.59 ± 0.18 、非靭帯性 0.31 ± 0.13 と有意に靭帯性で病変における靭帯の占める割合が大きかった ($p < 0.01$)。靭帯性・非靭帯性狭窄と靭帯面積/脊柱管面積の ROC 曲線を作成した。AUC は 0.92、95%CI=0.891~0.950 であった。

平成 26 年度について

1. 分子病態に関する研究

変性肥厚黄色靭帯のプロテオーム結果から、顕著な変動を示すタンパク質について MRM 法による定量値と臨床画像から得られた黄色靭帯の計測値について検討を行ったところ、靭帯厚(mm)とフィブロネクチンの量に相関が認められた (スピアマン相関係数 $r = 0.550$)。黄色靭帯のトランスクリプトームの結果から、変性靭帯においては Aggrecan や Sox9 などの軟骨遺伝子群の顕著な亢進が認められた。その一方で、PAX9 遺伝子の減少が認められたことから、PAX9 を軟骨細胞に発現させてその分化について検討を行ったところ、その軟骨分化は顕著に抑制された。この分化抑制についてマイクロアレイ解析を行い、定量 PCR 法により確認を行ったところ、Sox9, Aggrecan に加え、Sox5, Sox6 の発現も抑制されていた。そこで、黄色靭帯由来細胞を用いて、PAX9 をノックダウンしたところ、逆に SOX9 の発現亢進が観察された。一方、Elastin などの弾性線維成分の遺伝子は逆の挙動を示した。

2. 病型分類に関する研究

靭帯性狭窄は 97 例、非靭帯性狭窄は 94 例であり、年齢、性別、罹病期間、疼痛および ADL 評価、腰椎前弯、可動域、LSS 病型分類 (馬尾、混合、神経根) に有意差は認めなかった。Lipo-PGE1 投与後では靭帯性狭窄において下肢痛 VAS、腰痛 VAS、RDQ、JOA スコアの改善が非靭帯性狭窄に比べ有意に良好であった。(いずれも $p < 0.05$) 1 年以内に手術に至った例は靭帯性狭窄 38 例 (40.4%)、非靭帯性狭窄 50 例 (51.5%) と有意差はないものの、靭帯性狭窄で少ない傾向にあった。($p < 0.122$)

D. 考察と結論

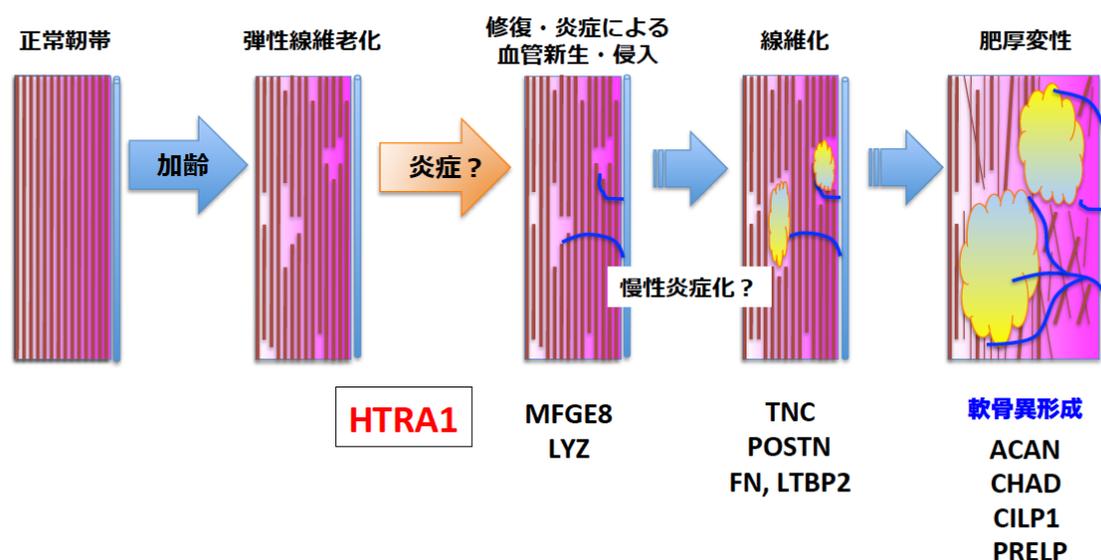
腰部脊柱管狭窄症の診療においては、臨床症状 (神経障害型式) をもとにした病型 (神経根型、馬尾型、混合型) が用いられる場合が多いものの、狭窄要因による病型分類は未だ広く認識されている訳ではない。画像上の黄色靭帯の肥厚が buckling (椎間距離の短縮や角度変化による「たわみ」という視点もあり、本質的な差異についてはほとんど情報がな

かった。本研究課題では黄色靭帯に着目し解析を進めた事により、1) unsupervised の DNA メチローム解析により 2 群に分かれた症例が、狭窄要因による病型（非靭帯性狭窄と靭帯性狭窄）と高い相関を示した事、2) 病型により黄色靭帯の変性の分子病態が異なり、その成因も異なると考えられる事、3) その病型は画像により客観的に分類できる可能性がある事が示唆された。分子病態に関する研究では、靭帯性狭窄ならびに非靭帯性狭窄とも炎症関連遺伝子の発現亢進が検出されたが、これは組織の加齢変化の影響を受けていると考えられる。これまでに様々な組織の加齢性変化について遺伝子発現プロファイリングが行われてきているが、ほとんどの例で炎症関連遺伝子の発現亢進が見られる。しかし、今回病型に分けて解析する事により、炎症の分子病態がかなり異なる事が明らかとなった。これは黄色靭帯の変性肥厚が顕著なものでは加齢性とは異なる分子病態が見いだされており、黄色靭帯肥厚が加齢性変化 buckling だけで説明できない、狭窄要因となる「病的肥厚」の病態を示唆している。また、プロテオーム解析で同定された疾患群で増加する HTRA1 が、逆に疾患群で減少する弾性線維構成成分の FBLN5 を分解することを見いだした。FBLN5 が弾性線維形成に必須の機能を有するが、一方で血管新生の阻害機能も有していることが示唆されている。このことは、血管成分の低い黄色靭帯が変性に伴って新生血管が増加することを考慮すると、HTRA1 が弾性線維変性のみならず血管新生も助長している可能性が考えられる。さらに、軟骨化生と弾性線維消失の病理について、正常黄色靭帯に発現し、変性黄色靭帯で発現が低下する PAX9 が軟骨分化抑制活性に加えて、Elastin などの弾性線維成分遺伝子の発現を亢進させていることを明らかにした。通常、腱・靭帯組織はコラーゲン線維を主とした rigid な膠原線維組織として知られているが、脊椎に存在する黄色靭帯と項靭帯は、主に弾性線維を主とする特徴的な靭帯であり、それにより弾性を生じている。これまで腱・靭帯の発生過程に重要な機能をもつ Scx や Mxk、同組織でコラーゲン発現に寄与する Egr1/Egr2 といった転写因子群に加え、弾性線維という特徴を付与すると考えられる PAX9 を新たに同定し、黄色靭帯変性の病理との関係性を示唆することができた。これらの新たに同定した病態関連因子（HTRA1 および PAX9）の発現変化が病態発生との関連が高いと考え、これらの変動誘導因子の同定を試みている。

病型分類は診断や治療方針を決定する上で有用でなければならない。狭窄要因による病型分類があまり広く認識されて来なかった一つには臨床的意義の不足と考えられる。本研究課題における酒井の病型分類に関する研究では、昨年度までに、これらの分類を客観的に評価するための臥位 MR 画像の計測データを元に分類モデルのドラフトが病型を反映していたことを明らかにし、本年度においては、この狭窄要因による病型間で保存療法の効果に差異が認められたことで、本病型分類の臨床的意義が示されたことが大きな成果である。

今後、狭窄に関わる他の組織因子（腰椎や周辺組織のパラメータ）を加味することにより、病型診断ツールの開発につなげていければと考える。また、最新のガイドラインで指摘されているように、腰部脊柱管狭窄症は「症候群」との考えもあり、これから再分類される可能性を言及している。推定患者数が数百万人にのぼる common disease の位置づけがあるものの、診断や治療方針を決定する上で有用な病型の開発により個別化医療の可能性を示唆しており、本研究成果は意義深いものと考えられる。腰椎手術の手術療法の発展が目覚ましいものの、外科的手術以外でエビデンスの高い治療選択肢を増やして行く上でも、病型や層別化が新たな治療法の開発の基盤になると思われる。

現状の研究段階での結論として、腰部脊柱管狭窄症における靭帯性狭窄と非靭帯性（骨性）狭窄の分類は、臨床的検討から発生機序が異なると考えられ、今後の黄色靭帯を治療標的とした場合の評価として有用かつ必須であると考えられる。さらなる症例数を重ねて本分類を確立していきたい。



E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1 論文発表

- 1) Kamita M, Mori T, Sakai Y, Ito S, Gomi M, Miyamoto Y, Harda A, Niida S, Yamada T, Watanabe K, Ono M. Proteomic analysis of ligamentum flavum from patients with lumbar spinal stenosis. *Proteomics* 15, 1622-1630, 2015.

- 2) Sakai Y, Ito S, Hida T, Harada A. Neuropathic pain in elderly patients with chronic low back pain and effects of pregabalin. *Asian Spine J*, 9, 254-262, 2015.
- 3) Kanemura T, Matsumoto A, Ishikawa Y, Yamaguchi H, Satake K, Ito Z, Yoshida G, Sakai Y, Imagama S, Kawakami N. Radiographic changes in patients with pseudarthrosis after posterior lumbar interbody arthrodesis using carbon interbody cages. *J Bone J Surg Am*. E82:1-9, 2014.
- 4) 酒井義人 骨量・筋量減少と虚弱 特集/高齢者のフレイル（虚弱）とリハビリテーション Monthly Book MEDICAL REHABILITATION Vol. 170, 33-39, 2014
- 5) Eguchi T, Watanabe K, Hara ES, Ino M, Kuboki R, Calderwood SK. OsteMiR: a novel panel of microRNA biomarkers in osteoblastic and osteocytic differentiation from mesenchymal stem cell. *PLoS One*, 8, e58796 2013.
- 6) Yano M, Yamamoto T, Nishimura N, Gotoh T, Watanabe K, Ikeda K, Garan Y, Taguchi R, Node K, Okazaki T, Oike Y. Increased oxidative stress impairs adipose tissue function in sphingomyelin synthase 1 null mice. *PLoS One*, 8, e61380, 2013.
- 7) Murasawa Y, Watanabe K, Yoneda M, Zako M, Kimata K, Sakai LY, Isogai Z. Homotypic versican G1 domain interactions enhance hyaluronan incorporation into fibrillin microfibrils. *J. Biol. Chem*. 288, 29170-29181, 2013.
- 8) Mouri A, Noda Y, Watanabe K, Nabeshima T. The roles of MAGE-D1 in the neuronal functions and pathology of the central nervous system. *Rev. Neurosci.*, 24, 61-70, 2013.
- 9) Ito Z, Imagama S, Kanemura T, Hachiya Y, Miura Y, Kamiya M, Yukawa Y, Sakai Y, Katayama Y, Wakao N, Matsuyama Y, Ishiguro N. Bone union rate with autologous iliac bone versus local bone graft in posterior lumbar interbody fusion (PLIF): a multicenter study. *Eur Spine J*, 22:1158-1163, 2013.
- 10) Sakai Y, Imagama S, Ito Z, Wakao N, Matsuyama Y. Outcome of back exercise for flexion and extension-provoked low back pain. *Orthoped. Muscul. System* 1, 119-124, 2013.

- 1 1) Imagawa S, Ito Z, Wakao N, Seki T, Hirano K, Muramoto A, Sakai Y, Matsuyama Y, Hamajima N, Ishiguro N, Hasegawa Y. Influence of spinal sagittal alignment, body balance, muscle strength, and physical ability on falling of middle-aged and elderly males. *Eur Spine J.* 22:1346-1353, 2013.
- 1 2) 酒井義人 高齢者慢性腰痛症に対するプレガバリンの効果 別冊整形外科 Vol.63, p93-99, 2013.
- 1 3) 酒井義人 筋肉と脊柱管狭窄症—ロコモティブシンドロームの関連 *Bone Joint Nerve* Vol.3 No.1, p111-117, 2013.
- 1 4) Mouri A, Sasaki A, Watanabe K, Sogawa C, Kitayama S, Mamiya T, Miyamoto Y, Yamada K, Noda Y, Nabeshima T. MAGE-D1 regulates expression of depression-like behavior through serotonin transporter ubiquitylation. *J. Neurosci.* 32, 4562-4582, 2012
- 1 5) Dong L, Watanabe K, Itoh M, Huan CR, Tong XO, Nakamura T, Miki M, Iwao H, Nakajima A, Sakai T, Kawanami T, Sawaki T, Masaki Y, Fukushima T, Fujita Y, Tanaka M, Yano M, Okazaki T, Umehara H. CD4⁺ T cell dysfunctions through the impaired lipid rafts ameliorate concanavalin A-induced hepatitis in sphingomyelin synthase 1-knockout mice. *Int. Immunol.* 24, 327-37, 2012.
- 1 6) Lu MH, Takemoto M, Watanabe K, Luo H, Nishimura M, Yano M, Tomimoto H, Okazaki T, Oike Y, Song WJ. Deficiency of sphingomyelin synthase-1 but not sphingomyelin synthase-2 causes hearing impairments in mice. *J. Physiol.* 590, 4029-4044, 2012.
- 1 7) Mouri A, Noda Y, Watanabe K, & Nabeshima T. The roles of MAGE-D1 in the neuronal functions and pathology of the central nervous system. *Rev. Neurosci.*, *in press*.
- 1 8) Zama K, Mitsutake S, Watanabe K, Okazaki T, Igarashi Y. A sensitive cell-based method to screen for selective inhibitors of SMS1 or SMS2 using HPLC and a fluorescent substrate. *Chem. Physics Lipids.*, *in press*.
- 1 9) Sakai Y. Low Back Pain Pathogenesis and Treatment. InTech, 244, 2012.
- 2 0) Sakai Y. Osteophyte Formation in the Lumbar Spine and Relevance to Low Back Pain. Low Back Pain Pathogenesis and Treatment. InTech 27-40, 2012.
- 2 1) Yoshida D, Shimada H, Harada A, Matsui Y, Sakai Y, Suzuki T. Estimation

- of appendicular muscle mass and fat mass by near infrared spectroscopy in older persons. *Geriatr Gerontol Int* 12(4), 652-658, 2012.
- 2 2) Yoshida G, Kanemura T, Ishikawa Y, Sakai Y, Iwase T, Matsuyama Y, Ishiguro N. Cardiopulmonary function in elderly patients with cervical spondylotic myelopathy. *J Orthop Sci* 17(1), 3-8, 2012.
- 2 3) Nakashima H, Imagama S, Sakai Y, Nakamura H, Katayama Y, Ito Z, Wakao N, Matsuyama Y, Ishiguro N. Dumbbell-type hemangiopericytoma in the cervical spine: a case report and review. *J Orthop Sci*. Apr 14, 2012.
- 2 4) Ando K, Imagama S, Ito Z, Hirano K, Tauchi R, Muramoto A, Matsui H, Matsumoto T, Sakai Y, Matsuyama Y, Ishiguro N. Differentiation of Spinal Schwannomas and Myxopapillary Ependymomas: MR Imaging and Pathologic Features. *J Spinal Disord Tech*. Mar 27, 2012.
- 2 5) 酒井義人 腰部脊柱管狭窄症における腰痛性間欠跛行. *J Spine Res*. 3(6):872-878, 2012.
- 2 6) 酒井義人 ロコモティブシンドロームとしての腰部脊柱管狭窄症～虚弱 (frailty)との係わりも含めて～ *CLINICAL CALCIUM* Vol.22, No.4, 59-66, 2012.
- 2 7) 酒井義人 理解を助けるトレーニング問題 高齢者運動器疾患について *CLINICAL CALCIUM* 22 (4), 113, 2012.
- 2 8) Eba H, Murasawa Y, Iohara K, Isogai Z, Nakamura H, Nakashima M. The Anti-Inflammatory Effects of Matrix Metalloproteinase-3 on Irreversible Pulpitis of Mature Erupted Teeth. *PLoS ONE* e52523, 2012.

2 学会発表

- 1) 森 大気, 紙田正博, 酒井義人, 伊藤定之, 山田哲司, 尾野雅哉, 原田 敦, 新飯田俊平, 渡辺 研 腰部脊柱管狭窄症の変性黄色靭帯からの病態関連分子の解析 第45回日本結合組織学会・第60回マトリックス研究会大会合同学術集会 2013年6月28日, 和歌山
- 2) 森 大気, 紙田正博, 酒井義人, 伊藤定之, 山田哲司, 尾野雅哉, 原田 敦, 新飯田俊平, 渡辺 研 腰部脊柱管狭窄症における黄色靭帯変性関連分子の解析 第86回生化学会大会, 2013年9月12日, 横浜

- 3) 森 大気、渡辺 研、紙田正博、酒井義人、伊藤定之、山田哲司、尾野雅哉、原田 敦、新飯田俊平 プロテオーム解析を利用した腰部脊柱管狭窄症における黄色靭帯変性関連分子の解析 第28回日本整形外科学会基礎学術集会、2013年10月17日、千葉
- 4) Mori T, Kamita M, Sakai Y, Ito S, Yamada T, Ono M, Harada A, Niida S, Watanabe K. Alteration of Elastic Fiber Proteins in Ligamentum Flavum from Patients with Lumbar Spinal Canal Stenosis. 2014 Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society, Mar. 16, 2014, New Orleans, LA, U. S. A
- 5) 酒井義人、原田 敦、伊藤定之 Lipo PGE1 製剤の腰部脊柱管狭窄症に伴う腰痛に対する効果 第37回東海プロスタグランディン研究会 2013. 5. 18. 名古屋
- 6) 酒井義人、原田 敦、伊藤定之 腰部脊柱管狭窄症におけるサルコペニア 第86回日本整形外科学会学術集会 2013. 5. 24. 広島
- 7) 酒井義人、原田 敦、竹村真里枝 高齢者慢性腰痛症における神経障害性疼痛の関与 第50回日本リハビリテーション医学会 2013. 6. 15. 東京
- 8) 酒井義人、原田 敦 サルコペニアによるADL低下における体幹筋の影響 第55回日本老年医学会 2013. 6. 6. 大阪
- 9) 酒井義人 高齢者慢性腰痛症に対する薬物療法—ランダム化試験によるプレガバリンとオピオイドの比較試験— 第21回日本腰痛学会 2013. 11. 2. 東京
- 10) 酒井義人 Lipo PGE1 製剤の腰部脊柱管狭窄症に伴う腰痛に対する効果 第21回日本腰痛学会 2013. 11. 2. 東京
- 11) 渡辺 研 骨代謝とスフィンゴ脂質の機能 第7回スフィンゴセラピー研究会 2012年7月13日 能登
- 12) 渡辺 研、酒井義人、伊藤研悠、新飯田俊平、原田 敦 腰部脊柱管狭窄症肥厚靭帯由来細胞における転写因子の探索 第27回日本整形外科学会基礎学術集会 2012年10月27日 名古屋

- 1 3) 龔建生、紙田正博、東祥子、伊藤研悠、酒井義人、五十嵐文子、渡辺 研、山田哲司、尾野雅哉、原田 敦、新飯田俊平 プロテオミクスを基盤とした脊柱管狭窄症肥厚靱帯のタンパク質局在 第 27 回日本整形外科学会基礎学術集会 2012 年 10 月 26 日 名古屋
- 1 4) 渡辺 研 骨芽細胞系に発現する細胞外タンパク質リン酸化酵素 FAM20C/DMP4 の同定 第 85 回日本生化学会大会 2012 年 12 月 15 日 福岡
- 1 5) 酒井義人、原田 敦、伊藤研悠 腰部脊柱管狭窄症における腰痛—神経性腰痛は起こりうるか— 第 41 回 日本脊椎脊髄病学会 2012 年 4 月 19 日 久留米
- 1 6) 酒井義人、原田 敦、伊藤研悠 腰部脊柱管狭窄症手術例におけるロコモティブシンドロームの影響 第 85 回日本整形外科学会学術集会 2012 年 5 月 19 日 京都
- 1 7) 酒井義人、原田 敦、竹村真里枝 高齢者頸髄症手術における四肢筋量の影響 第 49 回日本リハビリテーション医学会 2012 年 6 月 2 日 博多
- 1 8) 酒井義人、原田 敦 頸髄症手術におけるサルコペニアの影響 第 54 回日本老年医学会 2012 年 6 月 29 日 東京
- 1 9) 酒井義人 高齢者慢性腰痛症における神経障害性疼痛とプレガバリンの効果 第 20 回日本腰痛学会 2012 年 11 月 3 日神戸
- 2 0) 酒井義人 筋電図と筋音図を用いた腰痛患者の多裂筋活動の評価 第 20 回日本腰痛学会 2012 年 11 月 3 日 神戸
- 2 1) 中村博幸、中島美砂子 歯髄炎における MMP-3 の抗炎症、組織再生作用の検討 日本結合組織学会 2012 年 6 月 7、8 日 東京
- 2 2) 中村博幸 MMP-3 の歯髄炎での抗炎症、組織再生作用の検討 日本再生歯科医学会 (シンポジウム I) 2012 年 8 月 31 日 神戸
- 2 3) 中村博幸、村澤裕介、磯貝善蔵 MMP-3 の抗炎症、組織再生作用の検討 第 10 回日本エラスチン研究会 2012 年 12 月 7、8 日 東京

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし