

原著

## 遺伝性骨軟骨異常マウス (twy mouse) における 頭頸移行部の圧迫性脊髄病変と頸椎の靭帯骨化の 病理組織学的及び免疫組織化学的検討

増谷守彦<sup>1)</sup>

原田征行<sup>2)</sup>

**抄録** 自然発生的に脊髄圧迫病変を生ずる twy マウスの延髄下部と上位頸髄部の経時的な病理組織学的変化と、脊柱靭帯骨化発現に関与する TGF- $\beta$  と decorin の局在及び骨化発現との関連について明らかにするため免疫組織学的検討を行った。上位頸椎部、延髄部では椎間板と椎体に連続し後方へ突出した骨化病変と後方からの突出性病変により圧迫された部位に一致して白質の変化が明瞭に認められた。圧迫が特に顕著な部位では灰白質にも細胞の萎縮と軽度の脱落を認めた。び慢性の変化は白質、灰白質を問わず、延髄、脊髄全体に認められた。抗 TGF- $\beta$  抗体染色では初期に染色性の高い軟骨細胞が増加していた。抗 decorin 抗体染色では骨髄腔面、線維軟骨、靭帯部分が陽性に染色され、特に変性して突出した部位では明瞭な陽性像を示した。したがって twy マウスでは椎間板線維輪最外側部を中心に骨化過程が進行することが示唆された。

弘前医学 57:1-8, 2005

**キーワード:** twyマウス; 頭頸移行部; 靭帯骨化; TGF- $\beta$ ; デコリン。

ORIGINAL ARTICLE

## HISTOPATHOLOGICAL STUDY OF THE COMPRESSIVE CERVICAL MYELOPATHY AND IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF THE OSSIFICATION OF THE LIGAMENT AT THE CRANIO-CERVICAL JUNCTION OF TWY MOUSE

Morihiko Masuya<sup>1)</sup> and Seiko Harata<sup>2)</sup>

**Abstract** The tiptoe walking-Yoshimura (twy) mouse is a mutant strain showing multiple osteochondral lesions including deformity of the vertebral column and cervical myelopathy. The purpose of this study was to clarify both the histopathological alterations occurring in the lower medulla oblongata and higher cervical cord, and the involvement of TGF- $\beta$  and decorin in pathological ossification, of the twy mouse. Alteration of substantia alba was found in loci compressed by ossification lesions in the higher cervical cord and medulla oblongata. Cellular atrophy and slight defluviuim in gray matter were present in the loci with remarkable compression. Diffuse changes were observed in the medulla oblongata and the whole cervical cord. Therefore, we consider the twy mouse to be a useful experimental model for cervical myelopathy including a cranio-cervical junction. It was suggested that ossification of the posterior longitudinal ligament progressed around the posterior corner of the vertebral body and anulus fibrosus of the lateral intervertebral disc, because these were stained by anti-TGF- $\beta$  antibody and anti-decorin antibody.

Hirosaki Med. J. 57:1-8, 2005

**Key words:** twy mouse; cranio-cervical junction; ossification; TGF- $\beta$ ; decorin.

<sup>1)</sup> Department of Orthopaedic Surgery, Hirosaki University School of Medicine

<sup>2)</sup> Aomori Prefectural Central Hospital

Correspondence: M. Masuya

Received for publication, August 5, 2004

Accepted for publication, March 8, 2005

<sup>1)</sup> 弘前大学医学部整形外科

<sup>2)</sup> 青森県立中央病院

別刷請求先: 増谷守彦

平成16年8月5日受付

平成17年3月8日受理

## 緒言

後縦靭帯骨化症, 黄色靭帯骨化症などの脊柱靭帯骨化症の成因はいまだ不明である。しかし, 本来骨形成能を持たない靭帯組織が骨組織に置換されるという病態から, その成因に transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) や bone morphogenetic protein (BMP) が関与している可能性が考えられる<sup>1)</sup>。Decorin は TGF- $\beta$  と結合し TGF- $\beta$  の活性を調節する作用を持ち, negative feedback factor であると考えられている<sup>2)</sup>。後縦靭帯骨化発現に際して TGF- $\beta$  の作用が関与していることが推測されているが, 同部での decorin の存在の有無に関しては明らかにされていない。

1978年, 実験動物中央研究所において ICR (Institute of Cancer Research) 系マウスから近交系を作出する目的で交配中に, 体型が小さく, 脊柱の彎曲を示し, 前・後肢の末梢関節が拘縮し, つま先立ち歩行を示す個体が発見された。この形質は常染色体性劣性遺伝子によって支配され, この遺伝子を Tiptoe Walking-Yoshimura と命名し, twy マウス<sup>3)</sup>と呼ばれている。Twy マウスは骨膜や靭帯の骨形成のため脊柱管の狭窄性病変を 100% 自然発症し, 特にその狭窄は大後頭孔を含む上位頸椎部に著明である。したがって twy マウスは頭頸移行部の神経細胞の変化を追跡し, 骨化発現と骨化によって圧迫された神経細胞に関して検討するのに適していると考えられる。

本実験では骨軟骨異常をもつ twy マウスの頭頸移行部の病変を病理組織学的に経時的に観察すると共にその脊椎における TGF- $\beta$  と decorin の局在及び骨化進展との関連について明らかにするため免疫組織化学的検討を行った。

## 実験材料及び方法

### 1. 実験動物

1) Twy マウス 20 匹を用いた。これらは慶応大学医学部病理学教室から譲り受けた twy マウス 14 匹と日本クレア株式会社より購入した twy マウス 6 匹を弘前大学医学部附属動物実験施設にて飼育した。

2) 対照群として ICR 系マウス 15 匹を用いた。

これらは日本クレア株式会社より購入し同一環境にて飼育した。

このうち twy マウスを 5 週令で 4 匹, 11 週令で 4 匹, ICR マウスを 5 週令で 4 匹, 11 週令で 3 匹を屠殺後, 脊椎脊髄を一塊として摘出し, 以下の実験を行った。

### 2. 実験方法

#### 1) 病理組織標本の作製

前述の標本を切出し, 10% 中性緩衝ホルマリンにて 48 時間固定した。Plank Rychlo 液にて 24 時間脱灰後, パラフィン包埋した。延髄部, 上位頸椎部について薄切を行い, それぞれ横断面及び矢状面の 7  $\mu$ m の連続標本を作製した。

脊椎, 脊髄, 及び延髄の病理組織学的変化を観察する目的で, これらの各パラフィン切片に対して hematoxylin-eosin (HE) 染色を行った。

2) 脊柱の靭帯肥厚及び骨化過程の初期変化を検討する目的で, 5 週令と 11 週令のパラフィン切片に対して以下の染色を行った。

(1) 抗 decorin 抗体染色

(2) 抗 transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ <sup>1</sup>) 抗体染色

抗 decorin 抗体染色では一次抗体として Chemicon International 社製の rabbit anti-human decorin (PG40) polyclonal antiserum, 標識二次抗体として Zymed Laboratories 社製の peroxidase-goat anti-rabbit IgG (H+L) を使用した。抗 TGF- $\beta$ 1 抗体染色では脱パラフィン後 Pelton ら<sup>4)</sup>の方法に準じて行い, 前処置として生化学工業社製の hyaluronidase (Str. hyalurolyticus) にて室温で 12 時間の酵素処置を行った。一次抗体は Becton Dickinson Labware 社製の anti-human TGF- $\beta$ 1 IgG, turkey, 標識二次抗体は Nordic Immunological Laboratories 社製の peroxidase-goat Anti-turkey IgG (H+L) を使用した。Chroma 社のメチルグリーンにて後染色を行った。

## 結果

### 1. Twy マウスの運動の変化

経時的に twy マウスの生態を観察したが, 5 週令では対照群と比べて目立った変化は認めなかつ

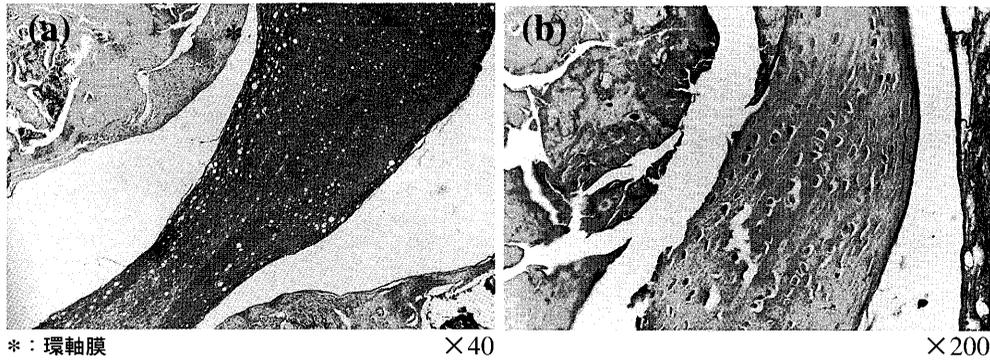


図1 5週令 twy マウス。  
 (a)延髄上位脊髄標本 (HE染色) ×40. 小空胞変性の出現を認める。  
 (b)環軸膜標本 (HE染色) ×200. 多くの線維軟骨細胞が認められる。

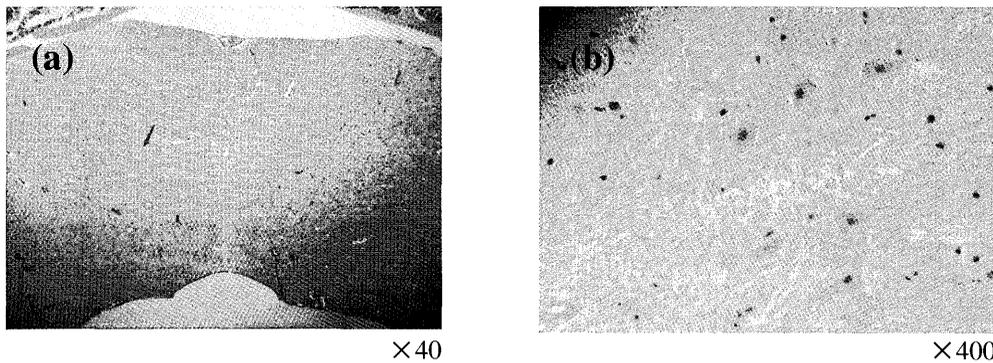


図2 5週令 twy マウス。  
 (a)延髄横断標本 (HE染色) ×40.  
 (b)延髄標本 (HE染色) ×400. 神経細胞は軽度萎縮性変化を示し、小空胞と軽度グリアの増生を認める。

た。11週令では生育不良が目立ち、脊椎はやや後弯し、四肢関節は拘縮してきたがつま先立ち歩行はしていなかった。

## 2. Twy マウスの頭頸移行部脊椎脊髄病理組織変化

### 1) 5週令

矢状断を観察すると最も著明な変化は歯突起先端から背側にかけて肥厚した環椎横靭帯と蓋膜が一体となり不規則に肥厚、骨化し、後頭環軸関節部で脊柱管内へ突出していた。また環軸関節部も骨膜が肥厚する形で脊髄を後方から圧迫し、圧迫された延髄下部と頸髄上部は狭窄されていた。上位頸椎では椎間板外側部及び椎体終板部での変化は5週令で既に出現しており、HE染色で染色性の低下を示し、軟骨細胞、軟骨基質の消失した部位を中心に層板状構造をもつ変性像や無構造の変性像が認められた。これは椎体の石灰化前線によって境界を有していた。また軟骨小窩の縮小を

認めた(図1)。脊髄全体に渡り慢性に小空胞が出現し、特に延髄では辺縁部、オリブ核、皮質脊髄路、内側毛帯、及び外側脊髄視床路の軸索の腫脹が出現し、脱髄を認め、その近位でグリアが軽度増生していた。横断面では延髄下部は圧迫のためやや扁平化し、オリブ核などの神経細胞は軽度萎縮性変化を示し、小空胞と軽度のグリアの増生を認めた。脊髄小脳路、三叉神経脊髄路にも同様の変化が認められた。延髄の上部、下部にうっ血を生じ、毛細血管が拡張し、軽度のグリアの増生を認めた。中心側に存在する脊髄視床路も同様であったが、わずかな変化であった。C2高位では前後から圧迫され、うっ血を認めた。前角細胞は萎縮的で、壊死性の変化を示すものもあり、細胞数も軽度減少し、グリアも軽度増生していた。前皮質脊髄路、外側皮質脊髄路、脊髄視床路、脊髄小脳路でもグリアが軽度増加し、特に前皮質脊

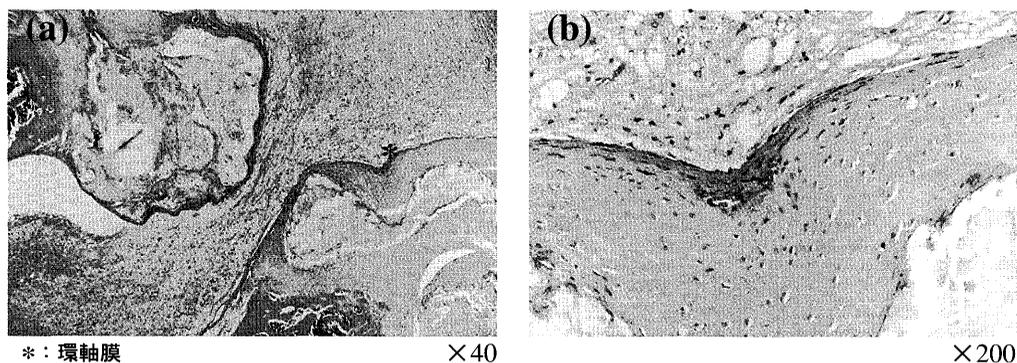


図3 11週令 twy マウス.  
 (a)延髄上位脊髄標本 (HE染色) ×40. 著明な脊髄の圧迫とそれに伴う神経線維の希薄化が認められる.  
 (b)環軸膜標本 (HE染色) ×200. 線維軟骨細胞と骨細胞及び骨芽細胞の混在を認める.

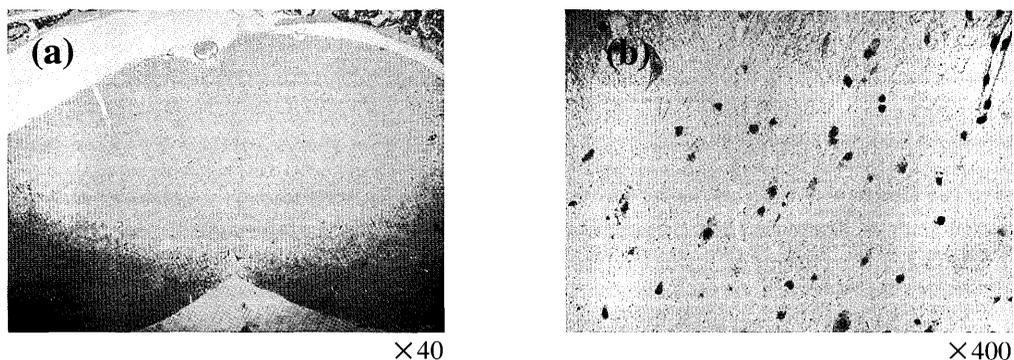


図4 5週令 twy マウス.  
 (a)延髄横断標本 (HE染色) ×40.  
 (b)延髄標本 (HE染色) ×400. 神経細胞は軽度萎縮性変化を示し, 小空胞と軽度グリアの増生を認める.

髓路, 脊髓視床路で小空胞が存在し, 白質の髄鞘の腫脹と崩壊が目立ち, グリアの増生がより高度に認められた. 後索ではグリアの増生はわずかであった (図2).

## 2) 11 週令

矢状断を観察すると5週令に比べ11週令では環椎が歯突起と癒合し, 骨髓腔の狭小化を認めた. 後方から環軸椎間の後環軸膜が肥厚骨化し, あたかもヘルニアのように前方へ膨隆していた. また前方では上位頸椎椎体後面が後縦靭帯と癒着し, 不規則な骨化を示し脊髄を前後から著明に圧迫していた (図3). 延髄下部は髄鞘, 軸索が消失してグリアが紡錘形に引き延ばされて増生していた. 皮質脊髓路, 脊髓視床路など, reticular formation が圧迫により影響を受け, 内側縦束も障害されていた. 後索の薄束や楔状束にも同様の変化を認めた. それより上下の延髄ではうっ血が

認められ圧迫部を中心として上下に細胞と組織の変性が拡がり, グリアの増生を伴っていた. 横断面では前後の扁平化を示し, 前外側の脊髓小脳路, 三叉神経脊髓路が圧迫されて, グリアの増生が著明であった. び慢性の空胞形成は網様体の神経細胞にも及んでいてその細胞の中には萎縮性のものもあり, わずかに壊死になっていた. 皮質脊髓路のグリアの増生は5週に比べ高度であった. 上位頸髄では脊髓前面が扁平化し, 圧迫を受けた前皮質脊髓路, 外側皮質脊髓路, 脊髓視床路など白質でグリアの増生を認め, 更に後索にも出現していた. 前角細胞は著しく萎縮した細胞が主体をなし壊死も認められた. これは前根部で強いが, それ以外の灰白質は萎縮とグリアの増生を示していた (図4).

## 3. 靭帯組織の免疫組織学的観察

抗 TGF- $\beta$  抗体染色では5週令で対照の ICR

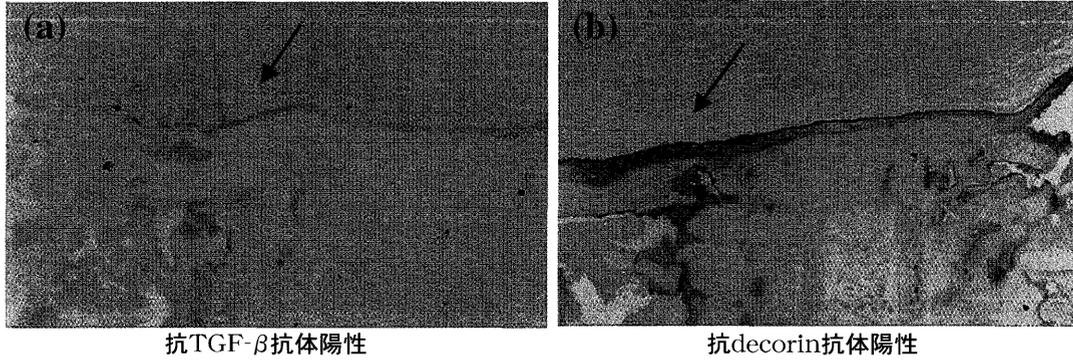


図5 5週令 twy マウス。  
 (a)延髄上位脊髄標本 (HE染色) ×40. 小空胞変性の出現を認める。  
 (b)環軸膜標本 (HE染色) ×200. 多くの線維軟骨細胞が認められる。

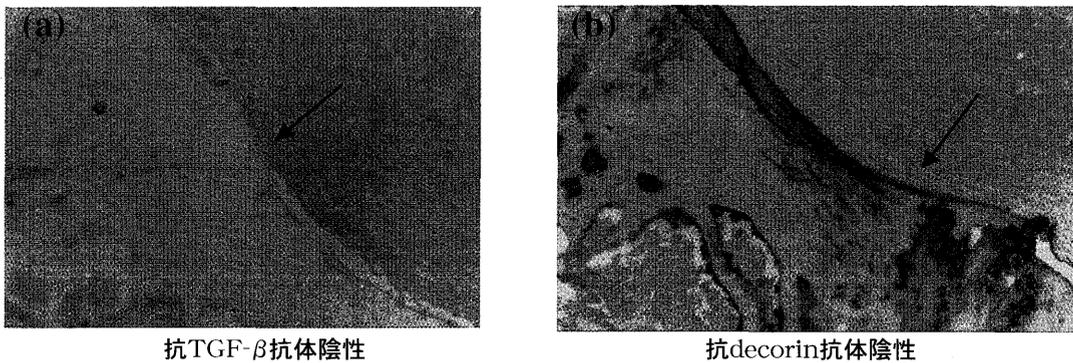


図6 5週令 twy マウス。  
 (a)延髄横断標本 (HE染色) ×40.  
 (b)延髄標本 (HE染色) ×400. 神経細胞は軽度萎縮性変化を示し、小空胞と軽度グリアの増生を認める。

マウスで軟骨基質と軟骨細胞が陽性に染色された。一方5週令の twy マウスでは隅角部の後縦靱帯と軟骨細胞が陽性であった。抗 decorin 抗体染色は椎体隅角部の後縦靱帯部で陽性であった (図5)。11週令での twy マウスの椎間板線維輪最外側部の脊柱管内への突出部に一致して石灰化軟骨細胞が出現し線維軟骨層の基質が増加していたが、この部位では抗 TGF-β抗体染色は陰性であった。椎間板辺縁の線維軟骨の増生の認められる部位と後縦靱帯の線維芽細胞様細胞と線維性結合組織及びこの近位部の椎体骨基質は抗 decorin 抗体染色陽性であった (図6)。

### 考 察

本実験で使用した twy マウスは遺伝性骨軟骨異常マウスであり、脊柱、四肢関節など全身性に石灰化、骨化を生じることが認められている<sup>3)</sup>。

小島原<sup>5)</sup>によれば椎間板線維輪を主体とした脊柱管内への突出性病変は週令が進むにつれてその程度は徐々に増大し、12週令においては脊柱管の面積の18.6%、34週令においては24.9%を占め、著明に脊髄を圧迫し変形させる。今回この脊柱管内への突出性病変による神経細胞への影響をこれまで注目されていなかった大後頭孔周辺の変化からその骨性変化に伴う延髄部病変の病理組織学的変化を検討した。

これまで脊髄の慢性圧迫による神経症状の発症がいかなる機序により発生するのかということは様々な研究が行われているにもかかわらず、定説を得るに至っていない。twy マウスを純粋な脊髄圧迫モデル動物として考えると圧迫部の上位で生じている組織像を説明することが困難である。慢性的な脊髄圧迫による脊髄の変化の原因として脊髄の血液循環障害に起因するという報告が散見

される<sup>6-13)</sup>. Taylor と Aberd<sup>6)</sup> は上位頸髄圧迫の動物実験で, 下部頸髄灰白質の paracentral vein の拡大と, 前角の虚血性変化, 後角の血管周囲出血を認め, 症状の発現が灰白質静脈系のうっ血で説明できるとしている. また Al-Mefty ら<sup>7)</sup> は犬の頸髄を前後からテフロン製のワッシャーとスクリューで圧迫する実験を行い, 軸索変性や脱髄はほとんど認めず, 血管の形態変化, 前角細胞の消失, 壊死, 空洞化を伴う灰白質の変性を認め, watershed area の微少循環の障害によることを報告している.

福田<sup>8)</sup> はイヌを用いた頸髄の虚血性ミエロパチーの研究で, ミエロパチーの原因として前脊髄動脈 pial plexus 後脊髄動脈を含めた脊髄表面の血管の閉塞の重要性を示している. また申<sup>9)</sup> は脊髄に生じるうっ血の結果, 後索深部を中心とした白質に脱髄が生じ, 内椎骨静脈叢と前脊髄静脈を経由する上行経路の重要性を説いている. 藤野<sup>10)</sup> は家兎の頸髄腹側圧迫実験に microangiography を行い, 慢性的な頸髄圧迫では圧迫部を中心とした上下2~3 髄節におよぶ, 灰白質, 前, 後角部の神経細胞の消失, 壊死巣, 空洞形成, 前索部, 側索部の脱髄性変化, 後索部の空胞状変化が認められ, 髄内, 微細動脈系の虚血性循環障害を指摘している.

twy マウスの縦断標本を観察すると, その脊髄圧迫は後頭環軸関節と各椎間板レベルで強い. これは肥厚靭帯の骨化と椎間板自体の膨隆による後方への突出が合併しているためであると考えられる.

上位頸椎部, 延髄部では椎間板と椎体に連続し脊柱管内に突出した後縦靭帯骨化病変と環椎横靭帯, 蓋膜の骨化病変により前方から圧迫され, また後環椎後頭膜, 後環軸膜などの後方要素の骨化により後方から圧迫され, 圧迫された部位に一致して辺縁部に存在する前皮質脊髄路, 外側皮質脊髄路, 外側脊髄視床路などの白質の変化が明瞭に認められた. 圧迫が特に顕著な部位では前角細胞など灰白質にも変化が認められたが, 神経細胞の著明な萎縮は縮窄が進行してから出現していた. しかし神経細胞の萎縮は目立つが脱落はごく軽度であった. び慢性の変化は白質, 灰白質を問わず, 延髄, 脊髄全体に認められ圧迫の程度に左右され

ていた. 今回の飼育による twy マウスの観察からも同様であったが, twy マウスでは遠位関節の石灰沈着が6~8 週と早期に認められる<sup>3)</sup> ため純粹に myelopathy の症状の進行を捉えることは困難であるとされている. しかし11 週時の病理組織では前角細胞に萎縮性変化が明瞭に認められていたことから, 11 週以降は運動障害が優位になると推察された. 血管壁の肥厚や硝子化はいずれの週令においても認められず, また血管腔の狭窄や血栓も認めなかった. Ito ら<sup>11)</sup> は脊髄への圧迫が微小循環や血液脳関門が破綻を引き起こし, 虚血を生じると報告しているが, 圧迫による局所の浮腫や壊死などの循環障害を思わせる変化は認められなかった. しかし, 圧迫部位の上下にはび慢性にうっ血性の変化が明らかに認められた. 脊髄横断面で周辺部が侵されやすく, 白質に病変が強いこと, 髄鞘の崩壊が神経細胞の変性より目立つことなど長嶋<sup>12)</sup> によって報告された硬膜外静脈の循環障害の特徴を認めた. また直接圧迫を受けていない延髄上部に生じていた脱髄は圧迫による変化だけでは考えにくく, 圧迫が高度になり長時間経過すると脊髄血管の解剖と血行動態<sup>13)</sup> から推察すれば, 脊髄静脈などの静脈還流障害によるうっ血のため虚血も生じていると考えられる. また狭窄が進行した段階では, 灰白質の圧迫により特に前角が著明な扁平化を示し, 神経細胞の脱落とグリオーシスを認めたという橋詰<sup>14)</sup> の報告した後縦靭帯骨化症の病理組織と類似していた. 今回認められた脊髄の病理変化は小野と藤原<sup>15)</sup> の報告した頸椎症性脊髄症の病理変化に類似しており, 頸椎症性脊髄症の病理学的変化を考察する上でも twy マウスは有用な動物であると考えられる.

後縦靭帯骨化症や黄色靭帯骨化症などの脊柱靭帯骨化症の成因はいまだ不明であるが, 本来骨形成能を持たない靭帯組織が骨組織に置換されるという病態から, その成因に TGF- $\beta$  や BMP が関与している可能性が考えられる<sup>1,16)</sup>.

骨組織には様々なサイトカインや成長因子の局在が知られている. TGF- $\beta$  は TGF- $\beta$ 1 ~ TGF- $\beta$ 5 まで5 種類の型が知られ, このうち TGF- $\beta$ 1 は, Seyedin ら<sup>17)</sup> により骨基質中の軟骨誘導因子として同定された成長因子で, 骨化靭帯の骨基質及び骨化巣周囲の軟骨細胞質に存在することが

明らかにされている。骨基質中の TGF- $\beta$  は分子量 12,500 の二量体に 40,000 のプロペプチド二量体が結合し、これに 135,000 の TGF- $\beta$  結合タンパク質が更に結合した不活性型として骨芽細胞より産生される<sup>18)</sup>。TGF- $\beta$  は元来は正常の線維芽細胞に作用して軟寒天培地での増殖を促進する因子として見いだされた。また細胞外マトリックスの産生を調節し、線維芽細胞などに作用してコラーゲンやフィブロネクチンなどの産生を促進する<sup>18)</sup>。これまでの実験で *in vitro* で間葉系細胞を軟骨細胞に分化させ<sup>17)</sup>、*in vivo* において骨膜下骨形成を促進させる<sup>19,20)</sup> ことから、骨改変や骨折治癒過程で骨形成に重要な役割を果たしていると考えられている。

細胞外マトリックスに存在する decorin は分子サイズが 45,000 のコアタンパク質に 1 本のグリコサミノグリカン糖鎖が結合した低分子デルマトン硫酸プロテオグリカンである。chinese hamster の卵細胞に高濃度に decorin が存在し、形態や成長に大きく影響することが知られている。Decorin は TGF- $\beta$  への結合能があり、TGF- $\beta$  は多くの細胞中に認められる decorin の合成を誘導するので、decorin は細胞の成長を制御する feedback system の一つであることが考えられている。Decorin は TGF- $\beta$  と結合してその細胞増殖促進作用を阻害することから TGF- $\beta$  の活性の negative-feedback 因子であるといえる<sup>21)</sup>。ヒトの骨化後縦靱帯組織での TGF- $\beta$  に関して、川口ら<sup>21)</sup> は TGF- $\beta$ 1 は骨基質及び骨化部周囲の軟骨細胞質には存在していたが周囲の間葉系細胞には分布せず、異所性骨化のより進んだ段階で、軟骨細胞や骨芽細胞に作用して骨形成を促進していると報告している。宮本ら<sup>22)</sup> は TGF- $\beta$ 1 は骨化靱帯内の一部の線維芽細胞様細胞、非石灰化軟骨層の線維軟骨細胞に局在し、脊柱靱帯の軟骨化及び骨化に関与していると報告している。また軟骨細胞は増殖期から成熟期を経て石灰化軟骨細胞へと分化することが知られている。

今回の実験では骨化前駆状態と考えられる twy マウスの脊椎病変に着目し、TGF- $\beta$  と decorin の局在から骨化の進行について免疫組織化学的に検討した。

今回検討した twy マウスの脊椎では脊柱管内

への突出部に一致して石灰化（肥大）軟骨細胞が出現し、石灰化軟骨層が増生していたが、この部位では抗 TGF- $\beta$ 1 抗体陰性であった。一方同部位と靱帯内の線維芽細胞様細胞が抗 decorin 抗体陽性であったことより twy マウスでは椎体隅角部から椎間板線維輪外側の脊柱管内突出部を中心に後縦靱帯骨化過程が進行するということが示唆され、TGF- $\beta$ 1 と decorin の発現を検討することは骨化機序の解明に意義のあることと考えられた。

## 結 語

1. Twy マウスの頭頸移行部の骨性変化に伴う延髄下部、上位頸髄部を経時的に免疫学的手法を用いて病理組織学的に検討した。
2. 歯突起先端から背側の蓋膜、環椎横靱帯の骨化、椎間板外側部及び椎体終板部での変化は 5 週令で既に出現し、軟骨細胞、軟骨基質の消失した部位に変性像が観察され、週令が進むにつれて拡大し、11 週令では同部位を中心とした骨梁の肥厚と骨形成を認めた。
3. 脊柱管内突出病変による慢性的な圧迫によって、脊髓周辺部が侵されやすく、灰白質よりも白質に病変が強いこと、髄鞘の崩壊が神経細胞の変性より顕著であることから、twy マウスは頭頸移行部も含めた頸髄症性脊髓症の実験モデルとして有用であると考えられた。
4. Twy マウスの軟骨細胞は早期より分化し、石灰化軟骨細胞となり、椎体隅角部と椎間板線維輪最外側部の脊柱管内突出病変を中心に骨化過程が進行することが示唆された。

## 文 献

- 1) 高岡邦夫, 吉川秀樹. 骨疾患と TGF- $\beta$  ファミリー. *Molecular Medicine* 1994;31:302-8.
- 2) Yamaguchi Y, Mann DM, Ruoslahti E. Negative regulation of transforming growth factor- $\beta$  by the proteoglycan decorin. *Nature* 1990;346:281-4.
- 3) Hosoda Y, Yoshimura Y, Higaki S. A new bleed mouse showing multiple osteochondral lesions twy mouse. *Ryumachi* 1981;21(Suppl.):157-64.
- 4) Pelton RW, Saxena B, Jones M, Moses HL,

- Gold LI. Immunohistochemical localization of TGF  $\beta$  1, TGF  $\beta$  2, and TGF  $\beta$  3 in the mouse embryo: Expression patterns suggest multiple roles during embryonic development. *J Cell Biol* 1991;115:1091-105.
- 5) 小島原憲一. 遺伝性骨軟骨異常マウス (twy mouse) における脊椎・脊髄病変の病理形態学的ならびに生化学的検討. *慶應医学* 1993;70:103-14.
- 6) Talor AR, Aberd MB. Vascular factors in the myelopathy associated with cervical spondylosis. *Neurology* 1964;14:62-8.
- 7) Al-Mefty O, Harkey HL, Marawi I, Haines DE, Peeler DF, Wilner HI, Smith RR, et al. Experimental chronic compressive cervical myelopathy. *J Neurosurg* 1993;79:550-61.
- 8) 福田真輔. 頸髄の虚血性 myelopathy に関する実験的研究. *日整会誌* 1967;41:215-35.
- 9) 申 明休. 頸髄のうっ血性 myelopathy に関する実験的研究. *日整会誌* 1972;46:155-66.
- 10) 藤野豊樹. Microangiography による実験的頸髄腹側限局性圧迫症の病態に関する研究. *日整会誌* 1975;49:403-20.
- 11) Ito T, Oyanagi K, Takahashi H, Takahashi HE, Ikuta F. Cervical spondylotic myelopathy. Clinicopathologic study on the progression pattern and thin myelinated fibers of the lesions of seven patients examined during complete autopsy. *Spine* 1996;21:827-33.
- 12) 長嶋和郎. 脊髄血管障害の病理解剖 - 非動脈硬化性病変ならびに鉛筆状軟化. *神経進歩* 1974;18:512-24.
- 13) 大友栄一. 脊髄血管の解剖および血行動態. *神経進歩* 1974;18:443-62.
- 14) 橋詰良夫. 頸椎後縦靭帯骨化症の脊髄の病理. *整形外科* 1993;44:1147-51.
- 15) 小野啓郎, 藤原桂樹. 頸椎症性脊髄症 (CSM) の臨床病理. *神経進歩* 1993;37:245-58.
- 16) Bonewald LF, Mundy GR. Role of transforming growth factor-beta in bone remodeling. *Clin Orthop Relate Res* 1990;250:261-76.
- 17) Seyedin SM, Thompson AY, Bentz H, Rosen DM, McPherson JM, Conti A, Siegel NR, et al. Cartilage-inducing factor-A. Apparent identity to transforming growth factor-beta. *J Biol Chem* 1986;261:5693-5.
- 18) 鈴木不二男. 細胞外マトリックスと細胞増殖・分化 auto-Matricrine 機構. *代謝* 1992;29:905-17.
- 19) Joyce ME, Roberts AB, Sporn MB, Bolander ME. Transforming growth factor- $\beta$  and the initiation of chondrogenesis and osteogenesis in the rat femur. *J Cell Biol* 1990;110:2195-207.
- 20) Noda M, Camilliere JJ. *In vivo* stimulation of bone formation by transforming growth factor- $\beta$ . *Endocrinology* 1989;124:2991-4.
- 21) 川口浩, 黒川高秀, 松本俊夫. 後縦靭帯骨化症における Bone morphogenetic protein-2 および transforming growth factor- $\beta$  の関与 - 免疫組織化学的検討. *整形外科* 1993;44:1041-7.
- 22) 宮本紳平, 米延策雄, 小野啓郎. 脊柱靭帯骨化の免疫組織化学的検討 - Transforming growth factor- $\beta$ , fibronectin, alkaline phosphatase について. *整形外科* 1993;44:1048-55.