

## 後縦靱帯・脊髄硬膜の elastin に関する形態学的, 生化学的研究

中 川 洋

解剖屍体より採取した後縦靱帯, 脊髄硬膜の elastin に関する形態学的, 生化学的研究を行った。後縦靱帯は, 頸椎部, 上位胸椎部, 下位胸椎部, 腰椎部の4部位に分け, 脊髄硬膜はさらに腹側と背側とで8部位に分けて透過型電子顕微鏡を用いて観察を行った。またそれぞれの部位における elastin 含有率を測定した。

後縦靱帯の elastin は, microfibril に取り囲まれた直径 $0.8\sim 1.0\mu\text{m}$ の無構造物質として観察され, 多くが頭尾方向にはほぼ平行に近い配列を示していた。脊髄硬膜の elastin は, microfibril に取り囲まれた直径 $0.5\sim 1.0\mu\text{m}$ の無構造物質として観察され, 後縦靱帯と比べやや小型のものが多く, 多方向に配列する傾向が認められた。後縦靱帯の elastin 含有率は平均7.6%, 脊髄硬膜の elastin 含有率は腹側で平均7.1%, 背側で平均13.0%であった。部位別では, 頸椎部での elastin 含有率が低く, collagen 含有率が高い傾向にあり, また下位胸椎部では elastin 含有率が高かった。脊髄硬膜の elastin 含有率については, いずれの部位でも背側が腹側に比し約1.5~2.0倍の値を示し, collagen 含有率では背側で低値を示した。

後縦靱帯, 脊髄硬膜の elastin のアミノ酸組成は, 黄色靱帯, 項靱帯などの脊柱靱帯組織と類似していた。  
(平成3年2月25日採用)

### A Morphological and Biochemical Study of Elastin in the Human Posterior Longitudinal Ligament and the Spinal Dura Mater

Hiroshi Nakagawa

A morphological and biochemical study of elastin in the posterior longitudinal ligament and spinal dura mater collected from autopsy cadavers was performed. The posterior longitudinal ligament was divided into four regions; namely the cervical spinal, upper thoracic spinal, lower thoracic spinal and lumbar spinal regions and the spinal dura mater was divided into eight regions; namely the above four regions on both the ventral and dorsal sides. Observations were made using a transmitting electron microscope. The elastin content was also determined for each respective region.

Elastin in the posterior longitudinal ligament was observed as an unstructured substance with a diameter ranging from  $0.8\sim 1.0\mu\text{m}$  surrounded by microfibrils. Most of it displayed an almost parallel arrangement in the craniocaudal direction.

Elastin in the spinal dura mater was observed as an unstructured substance with a diameter ranging from 0.5~1.0  $\mu\text{m}$  surrounded by microfibrils. In comparison with the posterior longitudinal ligament, most of the elastin tended to be smaller in size, something is not smaller in shape and a tendency was observed for its arrangement to be multidirectional.

The elastin content of the posterior longitudinal ligament was 7.6% of the total dry weight. The elastin content of the ventral side of the spinal dura mater was 7.1% of the total dry weight and that of the dorsal side was 13.0%.

A comparison of the elastin content for each respective region showed that in the posterior longitudinal ligament to be low in the cervical spinal region while the collagen content tended to be high. The elastin content also showed a high level in the lower thoracic spinal region.

In all regions of the dorsal side, the spinal dura mater displayed an elastin content about 1.5~2.0 times that of the ventral side, and conversely, the collagen content was low.

The elastin amino acid component of the posterior longitudinal ligament and the spinal dura mater resembled that of other spinal ligaments, such as the yellow ligament and the nuchal ligament. (Accepted on February 25, 1991) *Kawasaki Igakkaishi* 17(1):47-59, 1991

**Key Words** ① Posterior longitudinal ligament ② Spinal dura mater  
③ Elastin

## はじめに

生体の支持組織として重要な機能をもっている結合組織は、collagenを主成分とする膠原線維とelastinを主成分とする弾力線維より構成され、器官、臓器、部位によりelastin, collagenの構造、方向性、含有量などが異なることが知られている。

elastinは、持続的な伸縮、変形の力を受けるため特に弾性が要求される組織、例えば動脈壁、<sup>1)</sup> 肺胞、<sup>2)</sup> アキレス腱<sup>2)</sup>などに多く分布している。脊柱靱帯にも、運動時よりもより安静時にも固有張力 (pre-stress) があり脊柱を安定化させているといわれており、これはelastinの弾性作用によると考えられている。<sup>3)</sup> 脊柱靱帯のうち項靱帯、黄色靱帯にはelastinが多く含まれており、これらについての生化学的、形態学的研究は散見される<sup>4)~6)</sup>が後縦靱帯あるいは脊髄硬膜に関する研究は、著者の渉猟しえた範囲では見当

たらない。後縦靱帯、脊髄硬膜は解剖学的にみても特徴的な構造をしており、その弾力性に関しては不明な部分が多く、生体力学的にも興味深いところである。

今回著者は後縦靱帯、脊髄硬膜のelastinの構造、方向性、含有量などを調べ、生体力学的な意味について考察を加えた。

## 材料および実験方法

本学解剖学教室にて、死後48時間以内に解剖屍体の大腿動脈あるいは橈骨動脈より注入針を挿入し、clot disperser (Champion社製)、cell conditioner (Champion社製) からなる固定前液3ℓを注入用ポンプ(Conrac社製 PE-11型)を用いて注入し、血液およびclotを除去した後、95% ethyl alcohol 7.6ℓ、35% formalin 1.3ℓ、diethylene glycol 2.7ℓ、phenol 1.3ℓ、water 8ℓからなる固定液を注入することにより

**Table 1.** The posterior longitudinal ligament was divided into 4 regions. The spinal dura mater was divided into 8 regions.

Posterior longitudinal ligament
1. Cervical region
2. Upper thoracic region
3. Lower thoracic region
4. Lumbar region
Spinal dura mater
1. Ventral side of cervical region
2. Ventral side of upper thoracic region
3. Ventral side of lower thoracic region
4. Ventral side of lumbar region
5. Dorsal side of cervical region
6. Dorsal side of upper thoracic region
7. Dorsal side of lower thoracic region
8. Dorsal side of lumbar region

防腐保存処置が施行された解剖屍体を使用した。<sup>7), 8)</sup>

解剖屍体の頸椎から腰椎まで椎弓切除を行い、後縦靱帯と脊髄硬膜を採取した。死因が脊髄、脊椎疾患であるものや、後縦靱帯、脊髄硬膜に骨化あるいは腫瘍の波及などの明らかな病的変化の認められるものは除外した。

### 1. 形態学的観察

後縦靱帯の標本は、3体(男2体、女1体)より採取した。部位別での相違をみるために頸椎部、上位胸椎部、下位胸椎部、腰椎部の4部位より採取した (Table 1)。具体的には頸椎部はC<sub>4</sub>椎体中央部、上位胸椎部はTh<sub>3</sub>椎体中央部、下位胸椎部はTh<sub>9</sub>椎体中央部、腰椎部はL<sub>3</sub>椎体中央部に位置する後縦靱帯を採取した。年齢は72歳、76歳、80歳であった。

脊髄硬膜の標本は、3体(男1体、女2体)より採取し、それぞれ頸椎部、上位胸椎部、下位胸椎部、腰椎部の4部位より採取した。具体的には、頸椎部はC<sub>4</sub>椎体部、上位胸椎部はTh<sub>3</sub>椎体部、下位胸椎部はTh<sub>9</sub>椎体部、腰椎部はL<sub>3</sub>椎体部に位置する脊髄硬膜を採取し、それぞれを腹側と背側に分離して計8標本を採取した (Table 1)。年齢は69歳、77歳、80歳であった。

標本は、採取後0.1M cacodylate bufferを加えてpH 7.4にした2% glutaraldehydeに1.5時間固定した後、1% osmium tetroxideにて1時

間固定し、その後アルコールにて順次脱水を行いEpon 812に包埋した。ガラスナイフを作製し、ultramicrotomeを用いて頭尾方向に対して縦断面および横断面の二つの超薄切片を作製し、酢酸ウラニール・クエン酸鉛染色を行った。染色した試料は、日立製 H-500型透過型電子顕微鏡を用いて電圧70kVにて観察を行った。

### 2. elastin, collagen の生化学的測定

後縦靱帯は、17体(男13体、女4体)より採取した。部位別での相違をみるために頸椎部、上位胸椎部、下位胸椎部、腰椎部の4部位に分けて計68標本を採取した。年齢は29~94歳、平均年齢は78.6歳であった。

脊髄硬膜は、14体(男6体、女8体)より採取した。部位別での相違をみるために頸椎部、上位胸椎部、下位胸椎部、腰椎部に分け、これをさらに腹側と背側に分割を行い8部位から計112標本を採取した。年齢は29~91歳、平均年齢は76.5歳であった。

#### (a) 総乾燥重量の測定

採取した標本は、剪刀で約1~2 mm<sup>2</sup>に細断した後、polytron homogenizerを用いさらに粉碎した。ethanol・etherにより脱水、脱脂を行った後、vacuum ovenに入れ50~60℃で12時間かけて乾燥させ総乾燥重量を測定した。

#### (b) elastin 重量の測定

試験管に乾燥した標本と0.1N NaOHを8 mlずつ加え95~98℃に保温されたwater bath内で50分間煮沸した後、3,000 rpmで10分間、遠心分離を行い supernatant ①を採取した。沈澱物が残った試験管にそれぞれ3 mlずつ蒸留水を注入し、3,000 rpmで10分間、遠心分離を行い supernatant ②を採取後、再度3 mlずつ蒸留水を注入し、3,000 rpmで10分間、遠心分離を行い supernatant ③を採取した。残った沈澱物は、ethanol・etherと anhydrous etherで脱水を行った後、ovenに入れ105~110℃で2時間乾燥させ、elastin 乾燥重量を測定した (Table 2).<sup>9)</sup>

#### (c) collagen 重量の測定

採取した supernatant ①、②、③を標本ごとに試験管に混入した。supernatant を中和後、

**Table 2.** Procedure for measurement of elastin

Total dry weight and elastin dry weight were determined using the method of Lansing.

1. finely minced with scissors until the particle is about 1~2 mm<sup>2</sup>
2. dehydrate in 3:1 ethanol-ether 2 hours
3. centrifuge 3,000 rpm 10 minutes
4. extract with anhydrous ether 30 minutes
5. centrifuge 3,000 rpm 10 minutes
6. vacuum oven 50~60°C 12 hours
7. total dry weight is measured gravimetrically
8. 0.1N NaOH 8 ml 95~98°C water bath 50 minutes
9. centrifuge 3,000 rpm residue 10 minutes supernatant ①
10. wash twice with 3 ml of water
11. centrifuge 3,000 rpm residue 10 minutes supernatant ②, ③
12. dehydrate in 3:1 ethanol-ether 2 hours
13. centrifuge 3,000 rpm 10 minutes
14. extract with anhydrous ether 30 minutes
15. centrifuge 3,000 rpm 10 minutes
16. transfer into weighing bottle of known weight
17. air dry 24 hours
18. dried in an oven 110°C 2 hours
19. elastin is measured gravimetrically

**Table 3.** Procedure for measurement of collagen

The determination of hydroxyproline was performed according to Woessner's method.<sup>10)</sup> The collagen equivalent of the soluble fraction was expressed in milligrams, using the factor 7.46 to convert hydroxyproline to collagen.

1. neutralization of supernatant ①, ②, ③: neutralization (I)
2. measurement of the quantity after the neutralization (I)
3. hydrolyzation with 10N HCL
4. oven 130°C: 3 hours
5. neutralization: neutralization (II)
6. measurement of the quantity after the neutralization (II)
7. chloramine T: 20 minutes
8. HClO<sub>4</sub>: 5 minutes
9. p-dimethyl-aminobenzaldehyde: 20 minutes into the water bath 60°C
10. cooling in the water: 5 minutes
11. measurement of absorbance at 557 nm with Gilford system 2600
12. determination of hydroxyproline
13. calculation of collagen

中和後量(1)を測定した。各 supernatant 1 ml をガラス管に入れ10N HCl 1.5 ml を加え密封し、oven に入れ130°Cで3時間分解を行った後、ガラス管を開封し、試験管に移して中和後、中和後量(2)を測定した。chloramine T, HClO<sub>4</sub>, p-dimethyl-aminobenzaldehyde を順次加えて発色させ Gilford system 2600 を使用し、波長 557 nm で吸光度を測定した。Hydroxyproline standard 液の吸光度との比率を求め各標本の hydroxyproline の定量を行った (Table 3)。

collagen重量は、hydroxyproline 量に中和後量(1), 中和後量(2), factor 7.46 を掛け合わせ Woessner 法により mg 単位で算出した。<sup>10)</sup>

#### (d) elastin, collagen の含有率の算出

総乾燥重量と elastin 乾燥重量および collagen 重量の比率を求め、それぞれの標本の elastin 含有率, collagen 含有率を算出した。

各々部位別に平均値を求め、それをその部位の elastin 含有率, collagen 含有率とした。なお統計学的処理には Student T 検定を用い、危険率 1% で差があるときに有意とした。

#### (e) elastin のアミノ酸分析

後縦靱帯、脊髄硬膜とも同一屍体の頸椎部より標本を採取し、脊髄硬

膜は1体につき腹側と背側から2標本を採取した。

後縦靱帯は4体(男2体, 女2体)より4標本, 脊髄硬膜は8標本を採取した。年齢は69~86歳, 平均年齢は79.3歳であった。採取した標本から, 前述した Lansing 法<sup>9)</sup>を用いて elastin の抽出を行った。

抽出された elastin に6N HCl を加え密封し 110°C で24時間加熱し, 加水分解を行った後 HCl を除去し, 乾燥させた elastin をアミノ酸自

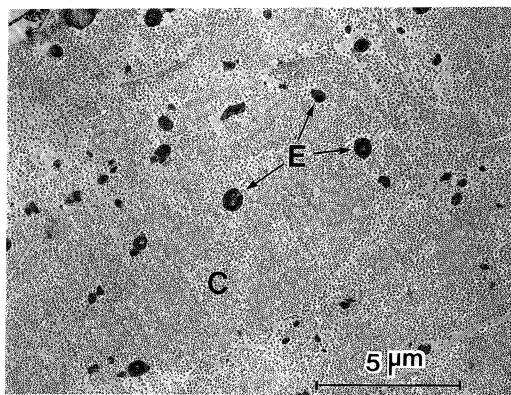


Fig. 1. Electron micrograph of a cross-section of the posterior longitudinal ligament (stained with lead citrate and phosphotungstic acid) showing an elastin (E) and a collagen (C) ( $\times 5,000$ )

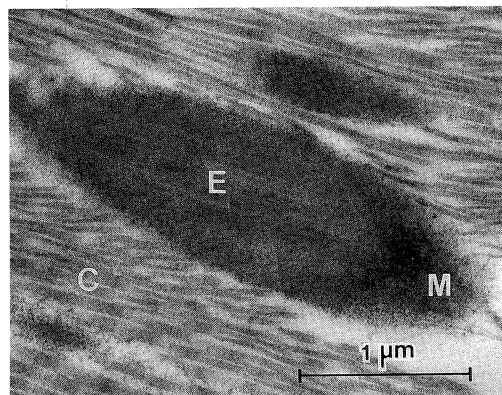


Fig. 2. Electron micrograph of a vertical-section of the posterior longitudinal ligament (stained with lead citrate and phosphotungstic acid) showing an elastin (E), a collagen (C) and a microfibril (M) ( $\times 30,000$ )

動分析計にかけた。アミノ酸分析は、日立高速アミノ酸自動分析計 (835-50型) で行った。

## 結 果

### 1. 形態学的観察

#### (1) 後縦靱帯

collagen が dominant な成分であり、所々に濃く染まった elastin が認められた (Fig. 1)。大部分の elastin が縦断面では紡錘形 (Fig. 2)、横断面では円形に見え (Fig. 3)、elastin の直径は  $0.8 \sim 1.0 \mu\text{m}$ 、collagen の直径は  $0.05 \sim 0.07 \mu\text{m}$  でそれぞれ配列の異なるものも一部認められたがほとんどの elastin、collagen が頭尾方向にほぼ平行に近い配列をしており、個々の elastin の周囲には全周性に microfibril が認められた (Fig. 2)。

部位による相違に関しては、明らかな違いは認められなかった。

#### (2) 脊髄硬膜

腹側、背側とも後縦靱帯同様 collagen が dominant な成分であり、所々に濃く染まった elastin が認められた (Figs. 4, 5)。

典型的な collagen の直径は  $0.05 \sim 0.07 \mu\text{m}$ 、

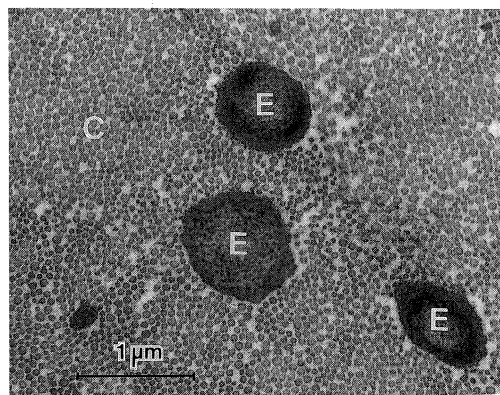


Fig. 3. Electron micrograph of a cross-section of the posterior longitudinal ligament (stained with lead citrate and phosphotungstic acid) showing an elastin (E) and a collagen (C) ( $\times 20,000$ )

elastin の直径は  $0.5 \sim 1.0 \mu\text{m}$  で、後縦靱帯と比べやや小型のものが多く認められた。

elastin、collagen の配列方向は、後縦靱帯と異なり頭尾方向のみならず多方向に配列する傾向があり (Fig. 6)、後縦靱帯同様、個々の elastin の周囲には全周性に microfibril が認められた (Fig. 7)。

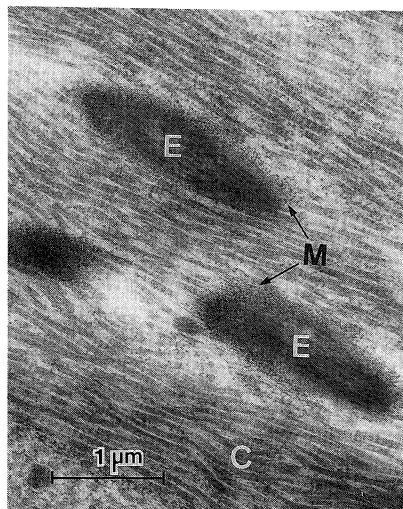


Fig. 4. Electron micrograph of a vertical-section of the ventral side of the spinal dura mater (stained with lead citrate and phosphotungstic acid) showing an elastin (E), a collagen (C) and a microfibril (M) ( $\times 20,000$ )

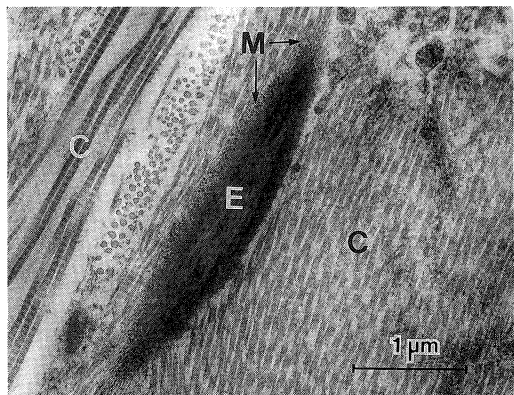


Fig. 5. Electron micrograph of a vertical-section of the dorsal side of the spinal dura mater (stained with lead citrate and phosphotungstic acid) showing an elastin (E), a collagen (C) and a microfibril (M) ( $\times 20,000$ )

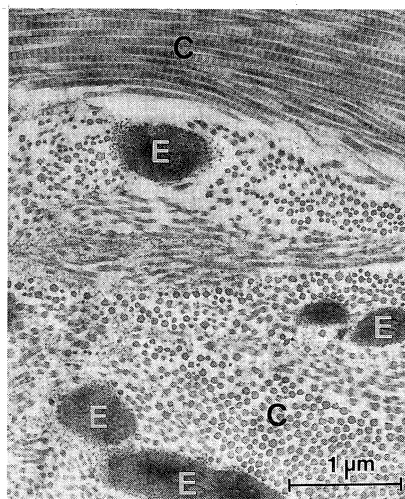


Fig. 6. Electron micrograph of a cross-section of the ventral side of the spinal dura mater (stained with lead citrate and phosphotungstic acid) showing an elastin (E), a collagen (C) and a microfibril (M) ( $\times 20,000$ )

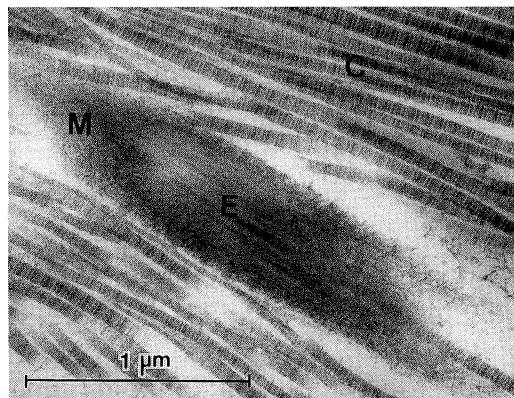


Fig. 7. Electron micrograph of a vertical-section of the dorsal side of the spinal dura mater (stained with lead citrate and phosphotungstic acid) showing an elastin (E), a collagen (C) and a microfibril (M) ( $\times 40,000$ )

腹側と背側とでは、形態学的に明らかな相違は認められなかった。また後縦靱帯同様、部位による明らかな違いは認められなかった。

## 2. elastin, collagen の含有率

後縦靱帯のelastin含有率は、平均7.6%であった。部位別のelastin含有率は、頸椎部

5.9%, 上位胸椎部7.9%, 下位胸椎部8.8%, 腰椎部7.7%であった。後縦靱帯の collagen 含有率は、平均62.5%であり、部位別には頸椎部66.3%, 上位胸椎部59.1%, 下位胸椎部61.8%, 腰椎部62.3%であった (Table 4)。

elastin 含有率は、頸椎部において他の部位と比較し低値を示しており、特に頸椎部と下位胸椎部の間では有意差 ( $p<0.01$ ) が認められた。collagen 含有率は、頸椎部で高値を示しており、特に頸椎部と上位胸椎部の間で有意差 ( $p<0.01$ ) が認められた。

脊髄硬膜の elastin 含有率は、腹側で平均7.1%, 背側で平均13.0%であった。部位別では、頸椎部腹側7.0%, 頸椎部背側15.6%, 上位胸椎部腹側7.3%, 上位胸椎部背側12.1%, 下位胸椎部腹側7.0%, 下位胸椎部背側11.0%, 腰椎部腹側7.2%, 腰椎部背側13.2%であった (Table 5)。

腹側では部位別の有意差は特に認められなかったが、背側では頸椎部で他の3部位と比べ有意に高い値 ( $p<0.01$ ) が得られた。また下位胸椎部と腰椎部の間にも有意差 ( $p<0.01$ ) が認められた。

**Table 4.** Elastin and collagen content of the posterior longitudinal ligament g/100g total dry weight (mean $\pm$ SD)

	Elastin	Collagen
Cervical region	5.9 $\pm$ 2.6	66.3 $\pm$ 7.3
Upper thoracic region	7.9 $\pm$ 2.6	59.1 $\pm$ 5.7
Lower thoracic region	8.8 $\pm$ 2.2	61.8 $\pm$ 5.4
Lumbar region	7.7 $\pm$ 2.7	62.3 $\pm$ 6.0
Total	7.6 $\pm$ 2.7	62.5 $\pm$ 6.6

**Table 5.** Elastin and collagen content of the spinal dura mater g/100g total dry weight (mean $\pm$ SD)

	Elastin		Collagen	
	Ventral	Dorsal	Ventral	Dorsal
Cervical region	7.0 $\pm$ 1.9	15.6 $\pm$ 3.5	59.9 $\pm$ 6.6	56.8 $\pm$ 3.9
Upper thoracic region	7.3 $\pm$ 1.9	12.1 $\pm$ 3.1	59.1 $\pm$ 4.4	56.4 $\pm$ 3.5
Lower thoracic region	7.0 $\pm$ 1.7	11.0 $\pm$ 2.8	59.4 $\pm$ 3.8	59.3 $\pm$ 3.3
Lumbar region	7.2 $\pm$ 2.6	13.2 $\pm$ 3.1	59.7 $\pm$ 6.3	54.3 $\pm$ 4.4
Total	7.1 $\pm$ 2.0	13.0 $\pm$ 3.5	59.5 $\pm$ 5.3	56.7 $\pm$ 4.1

各部位ごとに腹側と背側を比較してみると、いずれの部位でも背側の方が腹側より約1.5~2.0倍以上の高値を示しており、有意差 ( $p<0.01$ ) が認められた。脊髄硬膜の collagen 含有率は、腹側で平均59.5%, 背側で平均56.7%であった。部位別では頸椎部腹側59.9%, 頸椎部背側56.8%, 上位胸椎部腹側59.1%, 上位胸椎部背側56.4%, 下位胸椎部腹側59.4%, 下位胸椎部背側59.3%, 腰椎部腹側59.7%, 腰椎部背側54.3%であった (Table 5)。腹側では部位による差は認められなかったが、背側では下位胸椎部と腰椎部の間で有意差 ( $p<0.01$ ) が認められた。

各部位ごとに腹側と背側を比較してみると、いずれの部位でも背側の方が腹側よりやや低値を示しており、腰椎部では有意差 ( $p<0.01$ ) が認められた。

### 3. elastin のアミノ酸組成

後縦靱帯、脊髄硬膜の elastin のアミノ酸組成を Table 6 に示す。glycine が全体の約30%を占め、alanine, valine, proline などの非極性アミノ酸の割合が多く、lysine, histidine などの極性アミノ酸の割合が少ない値が得られ、これは黄色靱帯<sup>5), 6)</sup> 項靱帯<sup>2)</sup> などの脊柱靱帯組織と類似の組成を示していた。

desmosine, isodesmosine の含有率はいずれも約0.3%であった。

### 4. 結果の総括

(1) 後縦靱帯の elastin は、microfibril に取り囲まれた直径0.8~1.0  $\mu$ m の無構造物質として観察され、多くが頭尾方向にほぼ平行に近い配列をしていた。部位による相違は認められなかった。

(2) 脊髄硬膜の elastin は、microfibril に取り囲まれた直径0.5~1.0  $\mu$ m の無構造物質として観察され、後縦靱帯に比しやや小

**Table 6.** Amino acid composition of elastin in the posterior longitudinal ligament and the ventral and dorsal side of the spinal dura mater

	PLL	Ventral dura	Dorsal dura
Aspartic acid	29.8±4.3	30.4±5.5	22.8±3.6
Threonine	15.4±0.9	15.5±2.9	12.3±1.8
Serine	15.7±1.9	14.5±3.2	10.9±2.2
Glutamic acid	51.1±5.7	54.5±4.3	50.3±3.7
Glycine	272.4±4.0	269.5±9.4	283.3±9.7
Alanine	188.3±10.7	177.4±8.4	183.1±7.7
Valine	105.1±6.6	101.9±4.4	105.5±3.1
Methionine	7.2±1.1	9.9±0.8	10.2±1.2
Isoleucine	26.7±0.4	28.7±0.5	29.2±0.7
Leucine	67.1±1.2	68.2±1.7	66.8±1.3
Tyrosine	17.6±2.3	20.4±2.8	19.1±1.8
Phenylalanine	27.4±0.5	27.4±1.6	25.3±0.7
Lysine	8.6±1.3	9.4±1.4	7.5±1.1
Histidine	3.3±0.7	3.6±0.5	3.0±0.6
Arginine	16.2±2.3	15.0±1.8	11.8±0.9
Hydroxyproline	30.6±4.7	34.3±4.1	35.9±3.0
Proline	112.1±1.3	113.8±3.7	118.5±1.8
Desmosine	2.6±0.3	2.5±0.3	2.8±0.1
Isodesmosine	2.9±0.2	3.1±0.2	3.4±0.1

Expressed as amino acid residues/1,000 total amino acid residues(mean±SD)

型のものが多く、多方向に配列する傾向が認められた。部位および背側、腹側による相違は認められなかった。

(3) 後縦靱帯の elastin 含有率は平均7.6%であった。部位別には、頸椎部で他の部位に比し低値を示す傾向にあり、頸椎部と下位胸椎部の間では有意差 ( $p<0.01$ ) が認められた。

collagen 含有率は平均62.5%であった。頸椎部においては他の部位に比し高値を示しており、頸椎部と上位胸椎部の間では有意差 ( $p<0.01$ ) が認められた。

(4) 脊髄硬膜の elastin 含有率は腹側で平均7.1%、背側で平均13.0%であった。腹側では、部位別の含有率に有意差は認められなかったが、背側では頸椎部で他の3部位に比し有意 ( $p<0.01$ ) に高い値が得られた。また下位胸椎部と腰椎部の間で有意差 ( $p<0.01$ ) が認められた。いずれの部位でも背側が腹側の約1.5~2.0倍の elastin 含有率を示し、統計学的にも有意の差 ( $p<0.01$ ) を認めた。

(5) 脊髄硬膜の collagen 含有率は、腹側で平均59.5%、背側で平均56.7%であった。腹側では部位別の含有率に有意差は認められなかったが、背側では下位胸椎部と腰椎部の間で有意差 ( $p<0.01$ ) が認められた。各部位ごとに腹側と背側を比較してみると、いずれの部位でも背側の方が腹側よりやや低値を示しており、腰椎部では有意差 ( $p<0.01$ ) が認められた。

(6) 後縦靱帯ならびに脊髄硬膜腹側および背側より抽出した elastin のアミノ酸組成には

差異は認められなかった。glycine が全体の約30%を占め、alanine, valine, proline などの非極性アミノ酸の割合が多く、lysine, histidine などの極性アミノ酸の割合が少なかった。desmosine, isodesmosine の含有率は、いずれも約0.3%であった。

## 考 察

後縦靱帯、脊髄硬膜は、どちらも原始軟骨膜より分離する間葉組織膜から分化する<sup>11)</sup>といわれており、発生学的に同じ起源に由来すると考えられている。解剖学的にも後縦靱帯浅層と腹側の脊髄硬膜との間は、線維性組織で結合している<sup>12)</sup>といわれており後縦靱帯、脊髄硬膜は発生学的にも解剖学的にも関連性があり、両者を比較検討することは有意義と考えられる。

Cailliet<sup>13)</sup> は脊柱全体としての動きに関して、伸展では頸椎、腰椎が主として動き、胸椎にはほとんど動きがないことを示した。Steindler<sup>14)</sup>



は脊柱の屈曲は主に頸椎、上位胸椎で行われ、伸展は頸椎、腰椎で行われると述べている。また Walls<sup>15)</sup> は脊柱の屈曲は主に頸椎、上位胸椎、腰椎で起こり伸展は頸椎、腰仙椎移行部の動きが主であるとした。

このように、脊柱の動きは大きく分けて頸椎、上位胸椎、下位胸椎、腰椎においてそれぞれ異なると考えられ一致する部位の後縦靱帯、脊髄硬膜の動きあるいは力学的 stress もそれぞれ異なると考えられる。

以上のことから後縦靱帯、脊髄硬膜を頸椎部、上位胸椎部、下位胸椎部、腰椎部の4部位に分けて elastin の構造、方向性、含有量につき検討した。

Cheng,<sup>16)</sup> 佐藤ら<sup>17)</sup> によると脊髄硬膜は頭側では厚く尾側にいくに従い薄くなり、同じレベルでの腹側と背側との比較では腹側部が背側部より有意に厚いことを述べている。

前述のごとく脊髄硬膜の腹側と後縦靱帯の間には線維性の結合が存在し背側にはない<sup>12)</sup>といわれており、脊髄硬膜の腹側と背側の解剖学的な差異を考慮し、脊髄硬膜は腹側と背側に分けて elastin の研究を行った。

今回の研究で得られた結果、所見を形態学的、生化学的、生体力学的に考察する。

### 1. 形態学的考察

弾性線維が elastin とその周囲の microfibril から構成されることは、透過型電子顕微鏡による観察で、多くの研究者によって報告されている。<sup>18)~21)</sup> elastin は無構造物質として観察され、弾性線維の発育時期によって elastin と microfibril の割合が異なり、幼若な弾性線維では microfibril が豊富に存在し発育とともに減少するといわれている。<sup>22), 23)</sup> microfibril は elastin の辺縁に見られる直径100 Åの微細線維であり、生化学的特性は不明である。現在 microfibril は糖蛋白と考えられており、細胞内では可溶性で elastin の carrier として働き、細胞外で不溶性の microfibril となって elastin の線維形成過程における結合物として重要な役割を有していると推測されている。<sup>24)</sup> また microfibril は elastin

と共有結合をしておらず、<sup>25)</sup> 弾性線維の弾力性に全く関係しない<sup>26)</sup> ことが報告されている。

脊柱を構成する組織における elastin の透過型電子顕微鏡による形態学的研究は、著者の渉猟し得た範囲では項靱帯、<sup>25)</sup> 黄色靱帯、<sup>6), 20)</sup> 脊髄硬膜背側<sup>27)</sup> での報告をみるのみである。剖検時に屍体より脊髄硬膜を採取し電子顕微鏡で観察を行った報告<sup>27)</sup> はみられるが、解剖屍体での報告は著者の渉猟し得た範囲では見当たらない。今回の研究では、実験材料に解剖用保存屍体を使用し、後縦靱帯、脊髄硬膜の elastin, collagen の組織学的観察を行ったが、保存屍体における電子顕微鏡の観察には当初疑問があった。しかし後縦靱帯、脊髄硬膜を用いての予備実験の結果、死亡後早期に適切な固定保存処置さえ行われれば、後縦靱帯、脊髄硬膜の電子顕微鏡での観察が十分可能であることが判明した。今回の研究では、屍体後縦靱帯を頸椎部から腰椎部まで剥離し採取を行ったが、解剖学的には後縦靱帯は椎間板組織と椎体隅角部で密に結合し、椎体部では後縦靱帯と椎体との間に椎体静脈が存在し椎体との結合は粗である<sup>28), 29)</sup> といわれており、事実椎間板部での用手的剥離は困難であった。このため今回の研究では、後縦靱帯については椎体部より採取した標本のみについて観察を行った。

後縦靱帯の elastin は、黄色靱帯や項靱帯同様 microfibril に取り囲まれた直径0.8~1.0 μm の無構造物質として観察され、多くが頭尾方向にほぼ平行に近い配列を示していた。大部分の elastin が、縦断面では紡錘形、横断面では円形に見え三次元的には頭尾方向に円柱状の構造をなしていると考えられた。解剖学的には後縦靱帯は、椎体部では狭く頭尾方向に走行し、椎間板部では幅広く、中央部は頭尾方向に走行しているが、両側方には尖った突起を出し鋸歯状を呈して斜め下方に走行している。<sup>30), 31)</sup> このような特殊な構造をしているため、椎体部のみの形態学的所見から全体を把握することは困難と考えられた。

脊髄硬膜の elastin は、後縦靱帯の elastin 同

様 microfibril に取り囲まれた直径0.5~1.0  $\mu\text{m}$  の無構造物質として観察され、後縦靱帯と比較しやや小型のものが多く認められた。elastin, collagen の配列方向は、後縦靱帯と異なり頭尾方向のみならず多方向に配列する傾向があった。三次元的には円柱状の構造で多方向性に配列していると考えられた。

## 2. 生化学的考察

elastin は生体内に広く分布する線維性蛋白質であるが不溶性のため collagen に比し、その生化学的研究は著しく遅れていた。elastin の抽出方法は、1941年 Lowry ら<sup>32)</sup> により考案されたものが最初で以後 Lansing ら<sup>9)</sup> の hot alkali 法、Partridge ら<sup>33)</sup> の autoclave 法により collagen をゼラチン化して取り除く方法、Miller ら<sup>34)</sup> の guanidine と collagenase を用いた方法などが考案されているが、不溶性蛋白の純度を判定することは極めて困難で、いまだに standard な方法は見いだされていない。今回の研究では現在でも広く用いられている Lansing ら<sup>9)</sup> による hot alkali 法により elastin の抽出を行った。

elastin 含有率が比較的高い組織としては、項靱帯<sup>2)</sup> (74.8%)、黄色靱帯<sup>6)</sup> (46.7%)、大動脈<sup>2)</sup> (28~30%) などが報告されている。その他、肺胞<sup>2), 35)</sup> (3~7%)、アキレス腱<sup>2)</sup> (4.4%)、椎間板<sup>6)</sup> (1.7%)、皮膚<sup>2)</sup> (0.6%) の elastin 含有率が報告されているが、後縦靱帯、脊髄硬膜の elastin 含有率に関する報告は著者の渉猟し得た範囲では見当たらない。今回の研究結果によると、後縦靱帯の elastin 含有率は平均約7.6%、脊髄硬膜の elastin 含有率は腹側で平均約7.1%、背側で平均約13.0%であった。いずれも項靱帯や黄色靱帯より低率であったが、アキレス腱と比べると高率を示しており少なくとも肺胞程度の弾力性は有していると考えられた。部位別には頸椎部の後縦靱帯は他の部位に比し elastin 含有率が低く、下位胸椎部の elastin 含有率が高い傾向がみられた。後縦靱帯においては相対的に頸椎部では弾力性に乏しく、下位胸椎部では弾力性に富むのではないかと推測された。

一般に組織の elastin 含有率は若年者に比し老

人では減少し、collagen 含有率は増加する傾向がある<sup>36)</sup>といわれている、今回の研究では解剖屍体から sample を採取したため年齢が制約されており(約80%が70歳以上)、年齢と elastin, collagen 含有率の関係は不明であった。

elastin のアミノ酸組成については1938年の Stein ら<sup>37)</sup> による報告が最初で、以後種々の組織 elastin のアミノ酸組成が報告されている。一般に elastin のアミノ酸組成は器官、臓器によって多少の相違は認められるもののほぼ同様に glycine が全体の約30%を占め、alanine, valine, proline などの非極性アミノ酸の割合が多く、lysine, histidine などの極性アミノ酸の割合が少ない。このため全体として疎水性の性状を示すものと考えられる。elastin のアミノ酸組成で最も特徴的なことは、1970年 Partridge ら<sup>38)</sup> によって発見された desmosine と isodesmosine を含有することである。desmosine と isodesmosine は lysyl oxydase の作用により4分子の lysine より合成されるアミノ酸で、これらにより elastin に三次元構造が形成され特有のゴム状弾性が発揮される<sup>39)</sup>といわれている。

後縦靱帯、脊髄硬膜の elastin のアミノ酸組成に関する報告は、著者の渉猟し得た範囲では見当たらない。今回の研究では後縦靱帯、脊髄硬膜の elastin のアミノ酸組成は黄色靱帯、<sup>6)</sup> 項靱帯<sup>5)</sup> などの脊柱靱帯組織と類似しており椎間板<sup>6)</sup> とは幾分異なった所見を呈していた。desmosine, isodesmosine は、いずれの部位でも約0.3%の割合で認められ、黄色靱帯、<sup>6)</sup> 項靱帯<sup>5)</sup> などの脊柱靱帯組織に比べやや高い値を示した。

## 3. 生体力学的考察

Nordin ら<sup>40)</sup> によると collagen は張力強度が非常に大きく伸びにくい性質を有しており、引っ張り破断試験を行うと完全損傷まで非弾性変形となり、損傷までの変形は6~8%の範囲であるのに対し、elastin は張力強度が小さく、伸びやすく弾性に富み、引っ張り破断試験を行うと軽い負荷をかけたとき elastin は元の長さの2倍以上に伸び、負荷を増すと変形することなく突然破断を生じるといわれている。結合組織中に

は collagen, elastin が器官、臓器、部位によって異なった比率で含有されており、それぞれの組織の力学的特性に重要な役割を果たしていると考えられる。

堀田<sup>41)</sup>は屍体を用いて腰部脊柱靱帯に関して引っ張り破断実験を行った結果、破断荷重量は前縦靱帯が最も強く 116.7 kg、後縦靱帯が最も弱く 36.4 kg であり、後縦靱帯においてはまず深層が断裂するが浅層は深層から完全に剥離されて一本のゴム紐のようになり容易に断裂せず、極めて弾力性に富むことを報告している。また渡辺<sup>42)</sup>の報告によると後縦靱帯は椎間板部より椎体部での伸びが大きいことを示している。このことから、今回は後縦靱帯の浅層と深層あるいは椎間板部と椎体部を一括して調べたが、それぞれを分けて調べれば elastin の形態、含有率の相違があると考えられ、今後検討の余地があると思われた。

形態学的所見では椎体部の後縦靱帯の elastin および collagen が頭尾方向にほぼ平行に配列しており、頭尾方向の生体力学的 stress に対応した構造と考えられた、脊髄硬膜の elastin 含有率

では腹側に比し背側が約 1.5～2.0 倍の高値を示しており、腹側と背側の弾性の違いが示唆された。形態学的所見からみて脊髄硬膜では腹側、背側とも後縦靱帯とは異なっており elastin が多方向に配列する傾向が認められ、生化学的には脊髄硬膜の elastin 含有率は腹側に比し背側が約 1.5～2.0 倍の高値を示していた。脊髄硬膜の背側は腹側と異なり弾性に富み、脊髄の後方への力学的 stress に対する緩衝作用を有しているのではないかと推測した。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜った川崎医科大学整形外科 渡辺 良教授に謹んで感謝いたします。また同時に直接御指導いただいた三河義弘助教授に深く感謝いたします。さらに解剖屍体を提供していただいた同 解剖学教室 池田 章教授はじめ教室員の方々、御協力をいただいた生化学センター、電顕センター、当教室員の方々ならびに秋山直美研究補助員に感謝いたします。

なお、本論文の要旨は、第 5 回日本整形外科学会基礎学術集会（平成 2 年 10 月、神戸）において発表した。

## 文 献

- 1) Hosoda, Y., Kawano, K. and Yamasawa, F.: Age-dependent changes of collagen and elastin content in human aorta and pulmonary artery. *Angiology* 35: 615—621, 1984
- 2) Uitto, J.: Biochemistry of the elastic fibers in normal connective tissues and its alterations in diseases. *J. Invest. Dermatol.* 72: 1—10, 1979
- 3) Nachemson, A. L.: Some mechanical properties of the third human lumbar interlaminar ligament (ligamentum flavum). *J. Biomech.* 1: 211—220, 1968
- 4) 高木道人, 井上 茂, 軽部俊二, 林 泰史, 五十嵐三都男, 織田弘美: 腰部黄色靱帯中のエラスチンとコラーゲン. *整外基礎科学* 13: 76—77, 1986
- 5) Rasmussen, B. L., Bruenger, E. and Sandberg, B.: A new method for purification of mature elastin. *Anal. Biochem.* 64: 255—259, 1975
- 6) Mikawa, Y., Hamagami, H., Shikata, J. and Yamamuro, T.: Elastin in the human intervertebral disk. *Arch. Orthop. Trauma Surg.* 105: 343—349, 1986
- 7) Ikeda, A., Ugawa, A., Kazihara, Y. and Hamada, N.: Arterial patterns in the hand based on a three-dimensional analysis of 220 cadaver hands. *J. Hand. Surg.* 13A: 501—509, 1988
- 8) 池田 章, 吉井 致, 顔 政伸, 池田一男, 亀田美子: 特殊注入用ポンプによる遺体の防腐保存法とその応用. *医のあゆみ* 99: 89—92, 1976

- 9) Lansing, A. I., Rosenthal, T. B., Alex, M. and Dempsey, E. W.: The structure and chemical characterization of elastic fibers as revealed by elastase and by electron microscopy. *Anat. Rec.* 114: 555—575, 1952
- 10) Woessner, J. F.: The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportion of this amino acid. *Arch. Biochem. Biophys.* 93: 440—447, 1961
- 11) 円尾宗司, 片岡 治, 水野耕作: 硬膜の骨化を伴う頸椎後縦靱帯骨化症の1剖検例. *日整外会誌* 50: 37—43, 1976
- 12) Hayashi, K., Yabuki, T., Kurokawa, T., Seki, H., Hogaki, M. and Minoura, S.: The anterior and the posterior longitudinal ligament of the lower cervical spine. *J. Anat.* 124: 637—642, 1977
- 13) Cailliet, R.: Low back pain syndrome. 3rd ed. Philadelphia, F. A. Davis Co. 1981, pp. 37—41
- 14) Steindler, A.: Kinesiology. 1st ed. Springfield and Illinois, C. C. Thomas. 1955, pp. 150—151
- 15) Walls, K. F.: The spinal column. *In* Kinesiology, 5th ed. Philadelphia, W. B. Saunders. 1971, pp. 316—350
- 16) Cheng, P. A.: The anatomical and clinical aspect of epidural anesthesia. *Anesth. Analg.* 42: 398—400, 1963
- 17) 佐藤二郎, 佐藤 尚, 山本達朗, 横川陽子, 平賀一陽, 水口公信: 硬膜透過性に関する研究. *麻酔* 35: 917—923, 1986
- 18) Ross, R.: The elastic fiber. A review. *J. Histochem. Cytochem.* 21: 199—208, 1973
- 19) Ross, R. and Bornstein, P.: The elastic fiber in the body. *Sci. Am.* 224: 44—52, 1971
- 20) Yahia, L. H., Garzon, S., Strykowski, H. and Rivard, C.: Ultrastructure of the human interspinous ligament and ligamentum flavum. A preliminary study. *Spine* 15: 262—268, 1990
- 21) Tsuji, T., Lavker, R. M. and Kligman, A. M.: A new method for scanning electron microscopic visualization of dermal elastic fibers. *J. Microsc.* 115: 165—173, 1978
- 22) Sandberg, L. B.: Elastin structure in health and disease. *Int. Rev. Connect. Tissue Res.* 7: 159—210, 1976
- 23) 梶川欽一郎: 結合組織. 東京, 金原出版. 1984, pp. 279—317
- 24) Shikata, J., Sanada, H., Yamamuro, T. and Takeda, T.: Experimental studies of the capsular ligament, influence of aging and sex hormones on the hip joint capsule of rats. *Connect. Tissue Res.* 7: 21—27, 1979
- 25) Ross, R. and Bornstein, P.: The elastic fiber. I. The separation and partial characterization of its macromolecular components. *J. Cell. Biol.* 40: 366—381, 1969
- 26) 永井 裕: エラスチンの構造, 代謝と疾患. 感染・炎症・免疫 13: 75—92, 1983
- 27) Fink, B. R. and Walker, S.: Orientation of fibers in human dorsal lumbar dura mater in relation to lumbar puncture. *Anesth. Analg.* 69: 768—772, 1989
- 28) 佐藤良治, 山浦伊姿吉, 上小鶴正弘, 四宮謙一, 佐藤浩一, 中井 修, 金田 昭, 古屋光太郎: 脊椎靱帯の支持力に関する研究 —脊椎縦靱帯の剥離強度について—. *整外バイオメカニクス* 2: 147—149, 1982
- 29) Tkaczuk, H.: Tensile properties of human lumbar longitudinal ligaments. *Acta Orthop. Scand. Suppl.* 115: 5—15, 1968
- 30) 内田正雄: 日本人の脊柱靱帯について. *解剖誌* 9: 121—165, 1936
- 31) 鈴木康正: 脊柱前縦靱帯ならびに後縦靱帯の解剖学的研究, 特にその微細構造と骨化病態について. *日整外会誌* 46: 179—195, 1972
- 32) Lowry, O. H., Gilligan, D. R. and Katersky, E. M.: The determination of collagen and elastin in tissues, with results obtained in various normal tissues from different species. *J. Biochem.* 139: 795—801, 1941

- 33) Partridge, S. M., Davis, H. F. and Adar, G. S. : Soluble proteins derived from partial hydrolysis of elastin. *J. Biochem.* 61 : 11—21, 1955
- 34) Miller, E. J. and Fullmer, H. M. : Elastin, diminished reactivity with aldehyde reagents in copper deficiency and lathyrism. *J. Exp. Med.* 123 : 1097—1106, 1966
- 35) Richmond, V. : Lung parenchymal elastin isolated by non-degradative means. *Biochim. Biophys. Acta* 351 : 173—177, 1974
- 36) Pearce, R. H. and Grimmer, B. J. : Age and the chemical constitution of normal human dermis. *J. Invest. Dermatol.* 58 : 347—361, 1972
- 37) Stein, M. H. and Miller, E. G. : The composition of elastin. *J. Biol. Chem.* 125 : 599—609, 1938
- 38) Partridge, S. : *Chemistry and Molecular Biology of the Intercellular Matrix*. 1st ed. London and New York, Academic Press. 1970, pp. 593—616
- 39) Thomas, J., Elsend, D. F. and Partridge, S. M. : Degradation products from elastin. *Nature* 16 : 651—652, 1963
- 40) Nordin, M. and Frankel, V. : *Biomechanics of collagenous tissues. Basic biomechanics of the skeletal system.* 79—98, 1980
- 41) 堀田 寛：脊柱支持機構における靱帯の支持力に関する研究，とくに腰椎の靱帯について．*日整外会誌* 50 : 1—14, 1976
- 42) 渡辺正紀，山内裕雄，小原惟道，福島 稔：頸椎後縦靱帯「伸び／荷重」値の部位別分布について．*整外バイオメカニクス* 5 : 223—225, 1983