

氏名	ほさかのぼる 保坂 登
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博(医)第229号
学位授与の日付	平成20年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	Significant correlation between cerebrospinal fluid nitric oxide concentrations and neurologic prognosis in incomplete cervical cord injury (頸髄不全損傷における髄液内一酸化窒素濃度と神経学的予後との有意な相関)
論文審査委員	主査 教授 西澤正豊 副査 教授 遠藤直人 副査 教授 藤井幸彦

#### 博士論文の要旨

##### 背景：

脊髄損傷（以下脊損）の病態には、機械的損傷による一次損傷と、虚血や浮腫、脊髄実質への白血球侵入、apoptosis、脊髄変性に至る二次損傷がある(Tator CH,1991)。この二次損傷の過程に一酸化窒素(以下 NO)が関与している。

共同研究者の木村は、NO と脊椎疾患研究の嚆矢として、腰椎変性疾患患者において、術前の髄液内 NO 酸化物濃度(以下 NO 値、亜硝酸イオンと硝酸イオンの合計) が疼痛の無い対照群に比して有意に高値を示し(Kimura,1998)、さらに NO 量が本症の術後の痛み・しびれの改善を予測できる定量的因子(predictor)になりうることを報告している(Kimura, 2001)。しかし、NO と脊損における重症度や予後との関係は不明である。本研究の目的は、脊損における NO の臨床的意義、神経学的予後との関係を検討することである。

##### 対象と方法：

この研究は、新潟大学倫理委員会の承認を得ており、すべての患者様より同意を得て行われた。1998年から2004年にかけて、頸髄損傷患者25例（以下頸損群）。男18例、女7例、平均61歳、経過観察期間平均17ヵ月。術前または保存療法中に腰椎穿刺にて髄液を採取し、NO値を測定。髄液採取時期は、保存療法中または術前で、受傷後平均5.0日（0～30日）。頸損群の内訳は、非骨傷性頸髄損傷が23例、頸椎脱臼骨折2例。治療法は、保存療法8例、手術療法17例。Methylprednisolon大量療法（NASCIS II）併用21例。対照群36例（頸損群と age matching した）は、神経疾患のない患者群で、内訳はソケイヘルニア患者(n=11)、下肢骨接合抜釘患者(n=24)、ボランテア(n=1)である。NO値は、腰椎穿刺で得られた髄液1～2ccを凍結保存し、Griess法を用いて測定した。

検討項目、1) 頸損群と対照群との髄液内 NO 値の比較。2) NO 値と神経学的重症度の関係について、初診時 Frankel A,B,C 群を useless 群、Frankel D 群を useful 群と区別し、比較検討。更に、ASIA motor score (以下 ASIA-MS) と NO 値の相関。3) NO 値と神経学的改善率との関係について、Frankel 分類の推移と ASIA motor recovery percentage (以下 MRP) を用いて NO 値との相関を検討。

#### 結果：

検討 1) 頸損群 ( $5.9 \pm 0.7 \mu\text{M}$ ) と対照群 ( $4.9 \pm 0.3 \mu\text{M}$ ) で有意差は認められなかった。検討 2) useless 群の NO 値 ( $7.3 \pm 0.8 \mu\text{M}$ ) は useful 群 ( $5.0 \pm 1.1 \mu\text{M}$ ) よりも有意に高値を示した。また、初診時 ASIA-MS と NO 値には負の相関関係を認めた ( $P < 0.05$ ,  $r = -0.45$ )。

検討 3) 初診時 Frankel B が 1 例、C が 9 例、D が 15 例であったが、B の 1 例は調査時 C まで改善し、C の 7 例は D まで改善、D の 7 例は E まで改善していた。また、調査時 MRP と NO 値には有意な負の相関が認められた ( $P < 0.01$ ,  $r = -0.67$ )。

#### 考察：

脊損における NO の産生については、脊損の動物実験で、受傷後 24 時間から 1 週程の期間に、損傷部での誘導型 NO 合成酵素 (以下 iNOS) 発現や NO の産生が増えるとの報告がある (Hamada 1996, Xu 2001, Nakahara 2002)。今回、頸損群平均 NO 値と対照群 NO 値に有意差を認めなかったが、その理由として、頸損群が比較的軽症例が多かったことが考えられる。頸損群を Frankel B,C 群 (useless 群) と D 群 (useful 群) に分けて NO 値を比較すると有意に useless 群が高値であった。また、NO 値と初診時 ASIA-MS との間に負の相関関係が認められた。すなわち、受傷早期の NO 値が高いほど神経学的に重症の傾向が認められた。

NO の作用については、細胞保護、細胞障害性の二面性があるが、脊損後に iNOS より過剰に産生された NO は、障害性に作用する (Dawson, 1993)。障害を受けた細胞内では apoptosis が生じ、脊髄細胞変性が生じる (Estevetz 1998, Crowe MJ 1997)。これらの報告から、NO 値が高い環境ほど神経 apoptosis から神経脱落変性が進みやすいと考えられる。

従来、脊髄損傷の予後予測には、急性期 Frankel 分類からの予測 (Marino RJ, 1999; Frankel HL, 1969) や、MRI 脊髄輝度変化 (Davis PC, 1993; Grabb DA, 1994; Flanders AE, 1990; Collignon F, 2002) からの予測などがある。しかし、脊髄損傷の急性期に麻痺の改善率を定量的に示す predictor はない。

本研究では、神経学的改善率と NO 値については、NO 値と MRP には負の相関関係が認められた。すなわち NO 値が大きいほど神経学的な改善が劣る傾向が認められた。頸髄不全損傷において、NO 値は神経学的改善率の定量的な指標になる可能性が示唆された。

脊髄損傷後の更なる運動機能改善、神経変性の予防を目的に動物実験では薬物の投与が試みられている。NOS 阻害剤 L-NAME (Hamada, 1996) や PDTC 投与 (間接的に NO 産生を抑制, La Rosa, 2004) で有意な運動機能改善が得られた報告がある。より良い機能改善のため、NOS 阻害剤の副作用と効能について、臨床的に更に解明してゆく必要がある。

NO 値測定に関して、いくつかの問題がある。ひとつは、spinal tap 時の血液混入など影響である。しかし、spinal tap の影響については、共同研究者の Wang (2005) の論文から、NO 採取時に肉眼的に新鮮血液の混入があっても、NO 量に影響はないことがわかった。別の問題として、本研究では脊損群の重症例が少なく、今後の課題である。

(論文審査の要旨)

腰椎変性疾患患者においては、髄液内 NO 酸化物濃度(NO 値; 亜硝酸イオンと硝酸イオンの合計) は対照群に比して有意に高値を示し、術後の痛み・しびれの改善を予測できる定量的因子になり得ると報告されている。本研究では、脊髄損傷における NO の臨床的意義、神経学的予後との関係について検討した。

頸髄損傷患者(頸損群) 25 例より、術前または保存療法中に腰椎穿刺にて髄液を採取し、Griess 法で NO 値を測定した。その結果、頸損群と対照群では NO 値に有意差を認めなかったが、頸損群のうち、useless 群の NO 値は useful 群よりも有意に高値を示し、初診時 ASIA-Motor score (ASIA-MS) と NO 値には負の相関を認めた。また調査時 ASIA motor recovery percentage (MRP) と NO 値にも負の相関を認めた。

頸損群の平均 NO 値が対照群と有意差を認めなかった理由としては、頸損群に比較的軽症例が多かったことが考えられる。NO 値と初診時 ASIA-MS との間に負の相関が認められたことは、受傷早期の NO 値が高いほど、神経学的に重症の傾向があることを示すものである。神経学的改善率については、NO 値と MRP に負の相関が認められたことから、NO 値が大きいほど神経学的な改善が劣る傾向があると考えられた。以上より頸髄不全損傷において、NO 値は神経学的改善率の定量的な指標になる可能性が示唆された。

以上、本論文は頸髄損傷における髄液 NO 濃度の臨床的意義を明らかにした点に学位論文としての価値を認める。