

令和 3 年 6 月 30 日現在

機関番号：87114

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16680

研究課題名（和文）血清亜鉛濃度を用いた、急性期脊髄損傷患者の神経学的予後予測

研究課題名（英文）The acute phase serum zinc concentration is a reliable biomarker for predicting the functional outcome after spinal cord injury

研究代表者

久保田 健介（Kubota, Kensuke）

独立行政法人労働者健康安全機構総合せき損センター（研究部）・独立行政法人労働者健康安全機構総合せき損センター（研究部）・研究員（移行）

研究者番号：00717069

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,500,000円

研究成果の概要（和文）：総合せき損センターで前向き研究を行い、急性期の血清亜鉛濃度で運動機能予後を予測できるかどうかを調べた。その結果、38人の脊髄損傷患者に関する非線形回帰分析にて、脊髄損傷後72時間以内の血清亜鉛濃度が長期の運動機能予後を高い精度で予測することに成功した（ $R^2=0.84$ 、予測式：回復後の ASIA motor スコア =  $98.064 / \{1 + \exp[-0.236([\text{Zn}] - 67.489)]\}$ ）。この精度はこれまでに報告された急性期バイオマーカーよりも著しく高く、脊髄損傷急性期の血清亜鉛濃度が脊髄損傷患者の運動機能予後を予測するための有用なバイオマーカーであることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、iPS細胞などを用いた脊髄再生治療に高い関心が集まっている。しかし、急性期脊髄損傷では自発的な機能回復がしばしば見られ、回復の程度も患者ごとに異なるため、神経学的予後予測は極めて困難である。そのため、新規治療候補薬が急性期脊髄損傷患者にどれほどの麻痺改善効果をもたらすのか判別することが難しく、脊髄損傷に対する新規治療薬開発の大きな障害となっている。本研究にて、脊髄損傷急性期の血清亜鉛濃度が、これまでに報告されてきたバイオマーカーよりも著しく高い精度で、脊髄損傷患者の運動機能予後を予測可能であることが分かった。本研究の成果は、今後の脊髄損傷の新規治療法開発に寄与しうると確信している。

研究成果の概要（英文）：We examined whether we could predict the functional prognosis by evaluating the serum zinc concentration within 72 h after SCI in a human prospective study. A non-linear regression analysis of 38 SCI patients showed that the serum zinc concentrations in the acute-phase accurately predicted the long-term functional outcome ( $R^2=0.84$ ) more accurately than any other previously reported acute-phase biomarkers.

研究分野：脊髄損傷

キーワード：脊髄損傷 血中亜鉛濃度 神経学的予後

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 脊髄損傷は、運動機能ならびに感覚機能に障害を引き起こし、患者はもとより家族や社会にも深刻な影響を与える。これまでに多くの基礎動物実験と急性期脊髄損傷臨床試験が行われ治療法の開発が試みられてきたが、有効性の確認された治療法はほとんど存在しない。また、脊髄損傷の重症度は患者ごとに大きく異なり、急性期には自発的な機能回復がしばしば観察されるため、受傷早期に運動機能予後を予測することは極めて困難である。これまでに、血清生化学的マーカー、画像解析、および神経生理学的評価を使用して脊髄損傷の重症度を急性期に評価し、患者の回復の可能性を予測することに多くの努力が注がれてきた。しかしながら、これらの予後予測手法は予測精度が極めて低く、いまだに、運動機能予後を確実に予測できる臨床応用可能な方法は開発されていない。そして、急性期に患者の潜在的な運動機能予後を確実に予測できないことが、急性期脊髄損傷治療法の開発にとって大きな障害となっている。

(2) 我々は、これまでに急性期血清亜鉛濃度を用いて、実験的マウスモデルで運動機能予後を予測することに成功した。しかしながら、急性期血清亜鉛濃度が、脊髄損傷患者に関しても運動機能予後を予測できるかは不明である。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、急性期の血清亜鉛濃度が脊髄損傷患者の運動機能予後を高い精度で予測可能なバイオマーカーであるか検証することである。

## 3. 研究の方法

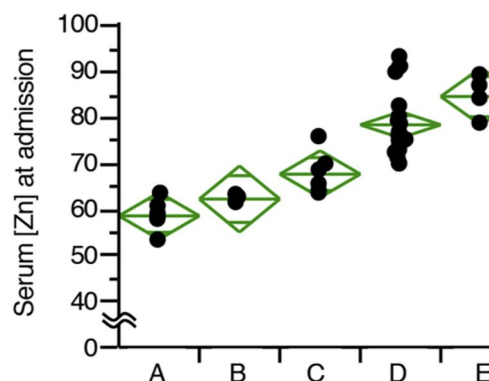
(1) 総合せき損センターに入院した64人の脊髄損傷患者を対象とした。患者データには年齢、性別、損傷のメカニズム、損傷レベル、外傷から入院までの期間、経過観察期間、入院時および最終フォローアップ時のAISグレードおよびASIA motorスコア、ならびに入院時の血清亜鉛濃度が含まれる。Inclusion criteriaは以下の通りとした。(i) 頸髄損傷、(ii) 18歳以上、(iii) 損傷後72時間以内に当施設に入院する、(iv) 当施設で入院中のリハビリテーションを受ける、(v) AISグレードおよびASIAの運動スコアによる適切な評価がある。Exclusion criteriaは以下の通りとした。(i) 入院中のリハビリテーション前の死亡または他の病院への転院、(ii) 脳損傷の臨床的徴候がある、(iii) 認知症により運動機能評価への協力が無い、(iv) 脊髄損傷以外の神経障害の病歴、(v) 慢性腎不全の病歴、(vi) 溶血性サンプル。合計38人の患者がこれらの基準を満たし、最終フォローアップで得られたAISならびにASIA motorスコア(平均観察期間 $6.3 \pm 0.8$ ヶ月)を評価に用いた。

(2) すべての神経学的評価は、入院時および最終フォローアップ時に経験豊富な脊椎外科医が行った。これらの時点に加えて、各患者の神経学的評価を、入院後4日、7日、2週、4週、6週、8週、および、その後毎月行った。血液サンプルは、脊髄損傷後3日以内の患者から当院に搬送された直後に採取した。メタロアッセイZn LSキットを用いて、入院時の血清亜鉛濃度を測定した。脊椎骨折、脱臼、または重度の不安定性を有する患者には手術が行われた。

(3) 医療記録データの分析を含むすべての研究は、ヘルシンキ宣言に示された原則に従って行われ、せき損センター内倫理審査委員会によって承認された。研究は、各被験者からインフォームドコンセントを得た後に実施された。

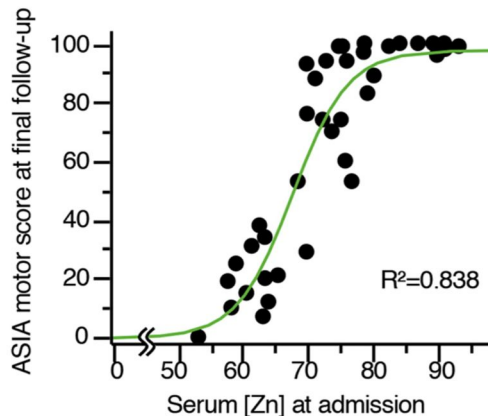
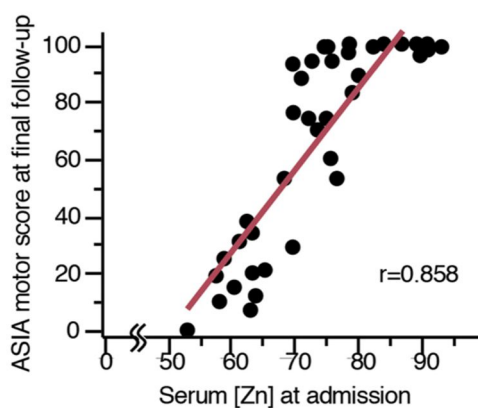
## 4. 研究成果

(1) 入院時の血清亜鉛濃度と運動機能予後との関係に焦点を当てて、64人の脊髄損傷患者の分析を行った。Inclusion criteria/Exclusion criteriaを適用した後、損傷後3日以内に入院した38人の患者データを解析した。脊髄損傷から採血までの平均期間は $1.2 \pm 0.2$ 日であり、平均フォローアップ期間は $6.3 \pm 0.8$ か月であった。最終フォローアップ時のAISグレードに基づいて患者を5つのグループに分けた後、5つのグループの入院時血清亜鉛濃度を比較した。その結果、運動機能予後が悪い群は、入院時の血清亜鉛濃度が有意に低いことが明らかになった(右図)。



(2) また、入院時の血清亜鉛濃度と最終フォローアップ時の ASIA motor スコアとの関係を調べたところ、入院時の血清亜鉛濃度と最終フォローアップ時の ASIA motor スコアとの間には正の相関があることがわかった ( $r = 0.858$ ) (左下図)。

(3) さらに、入院時の血清亜鉛濃度を評価することによって脊髄損傷後の運動機能予後を予測できるかどうかを調べるために、入院時の血清亜鉛濃度と最終フォローアップ時の ASIA motor スコアとの間の非線形回帰分析を行った。非線形回帰式により算出された  $R^2$  は 0.838 であった (予測式: 最終フォローアップ時の ASIA motor スコア =  $98.064 / \{1 + \text{EXP}[-0.236([\text{Zn}] - 67.489)]\}$ ) (右下図)。



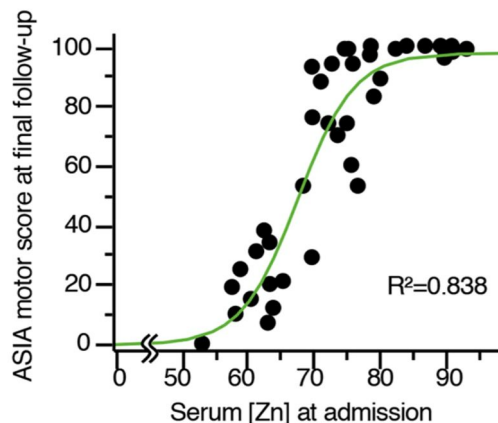
下の表に示した通り、急性期の血清亜鉛濃度は、過去に報告された他のいかなる急性期バイオマーカーよりも脊髄損傷後の運動機能予後の予測精度が著しく高かった。

A comparison of the accuracy among the acute prediction methods.

Clinical measure	Parameter	R <sup>2</sup>	Study
ASIA motor score (6 M)	Craniocaudal diameter (mm) of intramedullary intensity changed area in MRI image at 2 or 3 days after SCI	0.28	Matsumita et al. [15]
ASIA motor score improvement (6 M)	The hematoma length and cord expansion length in MRI at 12 h after SCI	0.29	Dalkilic et al. [12]
SCIM-II score (1Y)	Age, female gender, incomplete SCI	0.31	Pouw et al. [10]
FIM motor score (1Y)	Initial AIS grade, age, and spinal MRI intramedullary signal characteristics within 3 days of injury	0.52	Wilson et al. [16]
SCIM III score (1Y)	LT, AIS grade, ISS and AMS during the acute hospitalization	0.57	Kaminski et al. [39]
ASIA motor score improvement (6 M)	Cerebrospinal fluid proteins (tau, GFAP, and S100β) at 24 h after SCI	0.58	Dalkilic et al. [12]
ASIA motor score (6 M)	Serum [Zn] within 3 days after SCI	0.84	this study

AMS = ASIA Motor Score; FIM = Functional Independence Measure; GFAP = glial fibrillary acidic protein; ISS = Injury Severity Score; LT = Light Touch score; M = Months; SCIM = Spinal Cord Independence Measure; Y = Years; [Zn] = zinc concentration.

(4) 最後に、脊髄損傷患者が最終的に歩行できるかを予測可能であるか調べるために、入院時の血清亜鉛濃度に基づくロジスティック回帰 (LR) モデルをコホートに適用した。この分析では、リハビリ記録に基づいて患者の歩行能力を評価した。脊髄損傷急性期の血清亜鉛濃度は、脊髄損傷患者が最終的に歩行できるかどうかを予測するのに非常に有用であった (area under the curve (AUC)=0.974, 95% confidence interval 0.823-0.997,  $p < 0.0001$ ) (右図)。



(5) これらの結果から、損傷急性期の血清亜鉛濃度が脊髄損傷患者の運動機能予後を予測するための有用なバイオマーカーであることが明らかとなった。以上の結果は、科学雑誌 EBioMedicine 誌に掲載された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kijima Ken, Kubota Kensuke, Hara Masamitsu, Kobayakawa Kazu, Yokota Kazuya, Saito Takeyuki, Yoshizaki Shingo, Maeda Takeshi, Konno Daijiro, Matsumoto Yoshihiro, Nakashima Yasuharu, Okada Seiji	4. 巻 41
2. 論文標題 The acute phase serum zinc concentration is a reliable biomarker for predicting the functional outcome after spinal cord injury	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 EBioMedicine	6. 最初と最後の頁 659 ~ 669
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ebiom.2019.03.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------