

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 28 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23592175

研究課題名(和文)腰痛の診断治療における神経栄養因子の応用

研究課題名(英文)Neurotrophic factors for the treatment of low back pain

研究代表者

青木 保親(Aoki, Yasuchika)

千葉大学・医学(系)研究科(研究院)・特任教授

研究者番号：70584001

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：腰椎変性疾患患者55例より摘出した60椎間板の変性髄核組織中のNGF、BDNF発現量をELISA法にて測定した結果、NGF、BDNF平均発現量はヘルニア群(n=29)においては、その他群(腰椎変性すべり症など；n=31)と比べ、いずれも有意に高かった。各群で椎間板変性度と各因子の発現を比較すると、ヘルニア群では変性度による発現量の有意差を認めなかった。その他群ではBDNFが高度椎間板変性例で若干高い傾向が見られた。両群ともに、腰痛の有無による各因子の発現量の違いは認めなかった。

研究成果の概要(英文)：The protein levels of NGF and BDNF in discs from patients with disc herniation and those from discs of patients with other lumbar degenerative disc diseases were examined. Nucleus pulposus tissue (or herniated disc tissue) was surgically removed and homogenized; protein levels were quantified using ELISAs for NGF and BDNF. Levels of NGF and BDNF in the discs were compared between 1) patients with disc herniation and those with other lumbar degenerative disc diseases, 2) patients with back pain and those with slight or no back pain, and 3) moderately degenerated discs and severely degenerated discs. Mean levels of NGF and BDNF in discs of patients were: NGF (herniation: 83.4; others: 64.8, pg/mg total protein); BDNF (herniation: 36.5; others 16.2, pg/mg total protein). Herniated discs showed significantly higher levels of NGF and BDNF ($p < 0.05$). No significant differences were found between patients with and without back pain, or between moderately and severely degenerated discs.

研究分野：整形外科

キーワード：椎間板 神経栄養因子 腰痛

1. 研究開始当初の背景

慢性の疼痛には神経栄養因子が関係していることが報告されておりますが、特に椎間板性腰痛の疼痛発生機序としては神経栄養因子の中でも Nerve Growth Factor (NGF) の関与が強い可能性が示唆されております。過去の研究より疼痛性椎間板内には NGF の発現があること、椎間板を支配する知覚神経(後根神経節細胞)が NGF に感受性が強いことが分かっておりました (Aoki et al., Life Sci, 2004)。椎間板細胞培養実験にて、椎間板細胞が NGF を発現し、NGF の発現が TNF や IL1 など炎症性サイトカインによって増加することもわかっておりました (Abe et al., Spine 2007)。また、手術検体を用いて椎間板内に NGF 感受性神経線維が存在することを証明されておりました (Ozawa et al., Spine 2006)。しかし実際にどのような状況で椎間板内 NGF が増加しており、実際に NGF の増加が腰痛の症状出現と関与しているかどうかに関しては報告がありませんでした。brain derived neurotrophic factor (BDNF) に関しましても、椎間板内で発現していることが報告されており、これらの神経栄養因子が椎間板性腰痛発症メカニズムに関与している可能性が示唆されておりました。

一方、臨床的に腰痛は様々な病態により発症する可能性があり、その症状を詳細に評価することが難しい病態であります。一言で腰痛と言っても様々なタイプの腰痛があり、そのタイプにより原因が異なる可能性も示唆されています。

本研究を行うにあたり、対象となる腰痛患者の腰痛を動作開始時、立位時、座位時に分けて評価を行い、患者椎間板内で発現している各神経栄養因子との関連を調査することとしました。このような背景により、本研究では腰痛患者の椎間板内の NGF、BDNF の発現について調査を行い、主に腰痛に関する臨床情報と合わせて分析をいたしました。

2. 研究の目的

我々は過去の報告をもとに、椎間板断裂時に誘導される NGF、BDNF 等の神経栄養因子が椎間板支配神経の感作、椎間板内進入などの病態を引き起こすことにより椎間板性腰痛の発症に関与するという仮説を立てました。本研究の目的は腰椎手術時に摘出した椎間板内の NGF、BDNF の発現量を調べ、椎間板断裂と神経栄養因子の発現の関係を調べることにより仮説検証を行うこと、これらの神経栄養因子が腰痛の程度や椎間板変性の程度とどのように関連しているかを調査することとあります。

3. 研究の方法

腰椎変性疾患患者 55 例より摘出した 60 椎間板の変性髄核組織中の NGF、BDNF 発現量を ELISA 法にて測定し、臨床的に椎間板断裂を起こしていると考えられる椎間板ヘルニア患者とそれ以外の腰椎変性疾患患者(その他

群:腰椎すべり症、脊柱管狭窄など)と比べ、椎間板変性の程度、腰痛の有無で発現量に違いがあるか調査しました。

また、独自に作成した腰痛の Visual Analogue Scale (VAS) 詳細評価法(図1)を用いて、腰痛を動作開始時、立位時、座位時の痛みに分けて評価を行い、各タイプの腰痛と各神経栄養因子との関連を調査することを目的としました。

腰痛疾患患者に対する手術成績や術後遺残性腰痛との関連を調査するために術前術後の腰痛と各神経栄養因子との関連も調査を行いました。

各神経栄養因子の椎間板内の局在は免疫染色法を用いて調査を行いました。また、椎間板内 NGF 発現量と術後症状との関連を調査しました。

図1:腰痛のVAS詳細評価法に実際に用いた評価表

4. 研究成果

NGF、BDNF 平均発現量はヘルニア群 (n=29) で各 83.4pg/mg (以下単位略) 36.5、その他群 (n=31) で各 64.8、16.2 であり、いずれもヘルニア群で有意に高い傾向がありました (NGF: p=0.031、BDNF: p=0.013)。2 群を異なる病態と考え各群で椎間板変性度と各因子の発現を比較しますと、ヘルニア群では変性度による発現量の有意差を認めませんでした。その他群では Pfirrmann grade3-4 (n=22) では各 59.7、13.5 に対し、Grade5(n=9)では各 76.7、23.1 であり、BDNF は高度椎間板変性例で若干高い傾向が見られました (NGF: p=0.101、BDNF: p=0.099)。

両群ともに、腰痛の有無による各因子の発現量の違いは認めませんでした。

NGF 発現量と手術成績、遺残性腰痛の関係を調査するため、NGF の発現が少ない群 (Low-level NGF 群) と NGF の発現が多い群 (High-level NGF 群) における手術前後の腰痛の程度を調査した結果、ヘルニア群におい

ではHigh-level NGF 群でやや椎間板変性が強い傾向が見られ、術後の動作時腰痛の改善が良好であった。この結果より NGF が高発現している患者群では、発現の少ない患者群と比べて、椎間板断裂部において NGF が関連する炎症性変化などの病的変化が腰痛に関連しており、手術により腰痛が軽快しやすいことが示唆されました。(表 1)

表 1. ヘルニア群の手術前後における腰痛 VAS 値

		Low-level NGF 群 (n=8)	High-level NGF 群 (n=9)	p 値
年齢	(歳)	38.9 ± 13.6	38.8 ± 11.1	NS
性別	(男/女)	4 / 4	5 / 4	NS
椎間板変性度	Pfirmann Grade 2/3/4	2 / 6 / 0	0 / 6 / 3	NS
動作時腰痛	術前	71.5 ± 29.7	52.3 ± 36.9	NS
	術後	8.0 ± 7.4	1.3 ± 3.3	
立位時腰痛	術前	66.1 ± 34.4	46.4 ± 40.4	NS
	術後	10.6 ± 12.6	2.9 ± 3.9	
座位時腰痛	術前	65.6 ± 30.1	47.9 ± 37.6	NS
	術後	9.4 ± 8.1	7.7 ± 13.8	

興味深いデータとして、我々の腰痛のタイプ別評価法によれば、3 種類の腰痛のうち、ヘルニア群の術後の動作時腰痛のみが Low-level NGF 群と High-level NGF 群の間に有意差が認められ(表 1) NGF に関連する腰痛に最も強く関連している可能性が示唆されました。

今回の主な発表論文 2, 3 にて本腰痛評価法の有用性を報告しておりますが、本研究において、タイプ別の腰痛評価法により、椎間板性腰痛に関して有用な都県を得ることが出来ました。

その他群においては NGF 発現量による手術成績、遺残性腰痛の相違は認められませんでした(表 2)。

この点に関しては、その他群はヘルニア群とは病態が異なり、NGF の増加は椎間板断裂と関連していないこと、術式は椎間固定術を施行しており病態にかかわらず腰痛の原因となる病態は解決する可能性があることより妥当な結果であると考えられました。

表 2. その他群の手術前後における腰痛 VAS 値

		Low-level NGF 群 (n=6)	High-level NGF 群 (n=6)	p 値
年齢	(歳)	65.7 ± 6.1	72.2 ± 14.8	NS
性別	(男/女)	4 / 2	3 / 3	NS
椎間板変性度	Pfirmann Grade 2/3/4	2 / 4 / 0	1 / 3 / 2	NS
動作時腰痛	術前	41.7 ± 28.3	42.8 ± 20.4	NS
	術後	17.2 ± 27.8	29.2 ± 33.5	
立位時腰痛	術前	62.2 ± 30.5	58.0 ± 24.7	NS
	術後	8.0 ± 6.9	23.3 ± 22.5	
座位時腰痛	術前	33.7 ± 20.0	30.7 ± 19.0	NS
	術後	4.0 ± 6.3	16.7 ± 27.3	

HE 染色標本においてはヘルニア群で炎症性細

胞の浸潤がみられる傾向がありました。また、免疫染色法では BDNF は椎間板細胞(軟骨細胞)に発現していることがわかりました。本研究では椎間板内で NGF の発現を明らかにすることは出来ませんでした。

これらの研究結果より、手術検体中の NGF、BDNF 発現量はヘルニア群においては有意に増加しており、腰痛発症の病態に關与している可能性が示唆されました。さらに術後残存腰痛(特に動作時腰痛)は椎間板内の NGF 発現量と相関していることが判明しました。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

{ 雑誌論文 } (計 3 件)

1, Aoki Y, Nakajima A, Ohtori S, Takahashi H, Watanabe F, Sonobe M, Terajima F, Saito M, Takahashi K, Toyone T, Watanabe A, Nakajima T, Takazawa M, Nakagawa K. Increase of nerve growth factor levels in the human herniated intervertebral disc: can annular rupture trigger discogenic back pain? (査読有) *Arthritis Res Ther* 2014;16-4:R159. doi: 10.1186/ar4674.

2, Aoki Y, Sugiura S, Nakagawa K, Nakajima A, Takahashi H, Ohtori S, Takahashi K, Nishikawa S.

Evaluation of nonspecific low back pain using a new detailed visual analogue scale for patients in motion, standing, and sitting: characterizing nonspecific low back pain in elderly patients. (査読有)

Pain Res Treat 2012;2012:680496. doi: 10.1155/2012/680496.

3, 青木保親、中川晃一、中島新、柴田孝史、園部正人、大島精司、古府照男、高橋和久 腰椎変性疾患における詳細な腰痛評価の試み～動作開始時、立位時、座位時の腰痛 VAS 評価 (査読有)

Journal of Spine Research (J Spine Res) 2012;3(6), 863-866.

<https://jsr-journal-xsrv.jp.ssl-xserver.jp/jsr/index.php/jsr/article/viewFile/785/765>

{ 学会発表 } (計 3 件)

1, 41st International Society for the study of the Lumbar Spine, Seoul, Korea, 2014 (June 3-7).

Aoki Y, Nakajima A, Watanabe F, Sonobe M, Terajima F, Takahashi H, Taniguchi S, Yamada M, Takahashi K, Ohtori S, Nakagawa K.

Increased levels of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor in human herniated intervertebral discs.

2, 第 21 回日本腰痛学会、平成 25 年 11 月 1

- 2 日、JP タワー・ホールアンドカンファレンス(東京都千代田区)
青木保親、中川晃一、中島新、園部正人、寺島史明、高橋宏、齊藤雅彦、高橋和久
椎間板内 NGF 発現は線維輪断裂を起こした椎間板で増加する：椎間板性腰痛発生メカニズムの考察

3, 第 28 回日本整形外科学会基礎学術集会
平成 25 年 10 月 17 - 18 日 幕張メッセ(千葉市美浜区)

青木保親、中川晃一、中島新、園部正人、柴田孝史、高橋宏、谷口慎治、大島精司、高橋和久

腰椎変性疾患患者の椎間板内 NGF、BDNF 発現量は症候性椎間板断裂、椎間板変性度、腰痛強度と関連しているか？

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

青木 保親 (AOKI, Yasuchika)
千葉大学・大学院医学研究院・特任教授
研究者番号：70584001

(2) 研究分担者

大島 精司 (OHTORI, Seiji)
千葉大学・大学院医学研究院・准教授
研究者番号：40361430

中川 晃一 (NAKAGAWA, Koichi)
東邦大学・医学部・教授
研究者番号：30400823

中島 新 (NAKAJIMA, Arata)
東邦大学・医学部・准教授
研究者番号：60583995

(3) 連携研究者

()

研究者番号：