

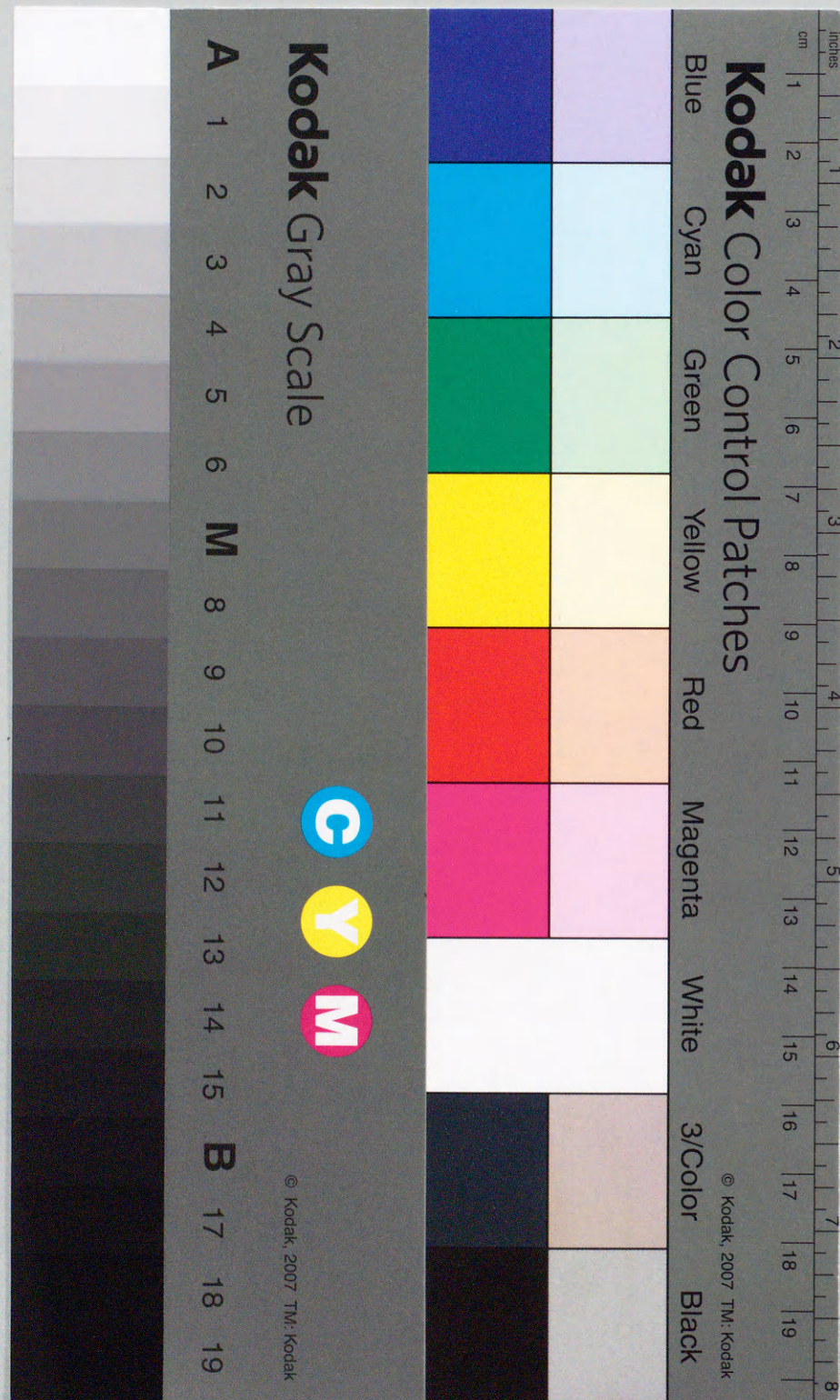
腰椎椎間板ヘルニアにおける  
脳脊髄液中の Substance P

(鹿児島大学医学部整形外科教室)

鮫 島 浩 司

[日本整形外科学会雑誌 第69巻 第4号 平成7年]

*The Journal of the Japanese Orthopaedic Association Vol. 69, No. 4, 1995*





## 腰椎椎間板ヘルニアにおける 脳脊髄液中の Substance P

(受付 平成6年8月29日)

(鹿児島大学医学部整形外科教室 主任: 酒匂崇教授)

(鹿児島大学医学部薬理学教室 指導: 福田健夫教授)

鯨 島 浩 司

Substance P-Like Immunoreactivity in Cerebrospinal Fluid  
in Lumbar Disc Herniation

KOUJI SAMESHIMA

*Department of Orthopaedic Surgery, Kagoshima University, Faculty of Medicine, Kagoshima*

(Received for Publication, Aug. 29, 1994)

**Key words:** Lumbar disc herniation, Cerebrospinal fluid, Substance P

Substance P-like immunoreactivity (SP-LI) of the cerebrospinal fluid was measured by radioimmunoassay in 40 patients with lumbar disc herniation (hernia group), and in 10 patients with no low back pain and no leg symptoms (control group). The SP-LI was significantly higher in the hernia group ( $5.49 \pm 3.01$  pg/ml) than in the control group ( $2.05 \pm 0.52$  pg/ml) ( $p < 0.01$ ). In the hernia group, the SP-LI was significantly higher in patients with severe pain in the lower extremities than in those with only mild pain. As the SP-LI was found to be correlated with the severity of pain, it was considered to be a useful index of pain. As for the correlation of SP-LI with the hernia type, the SP-LI was significantly higher in patients with transligamentous extrusion type hernia than in those with protrusion type hernia. This result suggested that the release of substance P was increased with marked compression on the dorsal root.

**要 旨** 腰椎椎間板ヘルニア患者 40 例と腰痛や下肢症状を有さない対照者 10 例について、脳脊髄液の substance P 様免疫活性(SP-LI)を radioimmunoassay により測定した。腰椎椎間板ヘルニア患者では脳脊髄液中の SP-LI 濃度は  $5.49 \pm 3.01$  pg/ml と対照者の  $2.05 \pm 0.52$  pg/ml に比べ、有意に高かった( $p < 0.01$ )。また腰椎椎間板ヘルニア患者において、下肢痛が重篤なほど、SP-LI 濃度は有意に高かった。これより脳脊髄液中の SP-LI 濃度は疼痛の重症度と相関をもち、疼痛の客観的評価の指標になり得ると考えられた。ヘルニアのタイプと SP-LI 濃度との関係は、trans-



ligamentous extrusion type のヘルニアを有するものの SP-LI 濃度が protrusion type に比べて有意に高かった。これよりヘルニアによる後根の強い圧迫で substance P の放出が増加し、下肢痛が増悪していると考えられた。

## I. 結 言

腰椎椎間板ヘルニアや腰部脊柱管狭窄症における神経根症状の発現機序には未だ不明な点が多い。近年、免疫組織化学の発達により substance P やカルシトニン遺伝子関連ペプチドなどのニューロペプチドが疼痛発現に関与することが明らかになった<sup>3),12),21)</sup>。このことは、ラットなどの動物を用いた、神経根刺激実験において、後根神経節や脊髄後角の substance P 含有細胞が増加していることなどから証明されている<sup>1)</sup>。しかし、臨床症状としての腰痛、下肢痛との関連を明確にするには、動物実験からだけでは困難なことが少なくない。最近、ヒトの脊椎脊髄疾患患者において、脳脊髄液中の substance P などの分泌動態を検討し、疼痛発現のメカニズムを解明しようという試みが散見される<sup>2),15)</sup>。脊椎脊髄疾患において脳脊髄液中の substance P が増加しているという報告<sup>15)</sup>もあるが、substance P の増加と臨床症状との相関性について検討した報告はほとんどない。著者は、腰椎椎間板ヘルニア患者における、脳脊髄液中の substance P 様免疫活性(以下 SP-LI)を測定し、得られた値と腰痛、下肢痛などの臨床症状とを比較することにより本症における SP-LI 測定の有用性について検討した。

## II. 対象および方法

対象は、腰椎椎間板ヘルニア患者 40 例と対照者 10 例の計 50 例である。対照者の内訳は抜釘手術患者 9 例、良性軟部腫瘍手術患者 1 例であり、いずれも術前に腰痛あるいは下肢痛の訴えはなかった。腰椎椎間板ヘルニア患者の性別は男性 30 例、女性 10 例で 16-67 歳(平均 33.3 歳)、罹病期間は 1 カ月より 10 年(平均 1 年 2 カ月)であった。対照者の性別は男性 8 例、女性 2 例で、年齢は 17-70 歳(平均 36.8 歳)であった。脳脊髄液中の SP-LI 濃度は、加齢および性差による変動はないとの報告<sup>4)</sup>があるが、腰椎椎間板ヘルニア患者と対照者との間の年齢、男女比に有意の差はなかった。脳脊髄液中の substance P は、清水ら<sup>18)</sup>の方法により substance P 様免疫活性濃度として測定した。これは合成 substance P および substance P 抗体を用

いた Powell ら<sup>17)</sup>の radioimmunoassay による方法に Lee ら<sup>13)</sup>の方法を加えたものである。

### 1. 検体の作成

腰椎椎間板ヘルニア患者は、脊髄造影の際に、また対照者は手術時の脊椎麻酔の際に、患者の同意のもとに腰椎穿刺により髄液を採取した。

採取した髄液 1 ml に 99.7% acetic acid 130  $\mu$ l を加え 2 N 溶液とし安定化させ、15 分煮沸後、16000 rpm で 20 分間遠沈し、得られた上清を凍結乾燥した。これを 50mM sodium barbital buffer 0.5 ml で溶解し、2000 rpm にて 10 分間遠沈したものの上清を 0.3 ml 採取し、検体とした。

### 2. 標準曲線の作成および SP-LI の測定

標準曲線を描くための標準 substance P は、ペプチド研究所より得た合成 substance P を 7.5% bovine serum albumin (BSA) を含む sodium barbital buffer にて濃度を変えて溶解し作製した。

substance P 抗体は guinea pig より精製したものを使用した。これは、neurotensin, somatostatin, luteinizing hormone-releasing hormone および  $\alpha$ -melanocyte stimulating hormone に交差性を示さず substance P に特異性の高いものである<sup>5)</sup>。

この substance P 抗体(抗血清希釈率 1:25000)0.1 ml と標準 substance P 0.3 ml、あるいは検体 0.3 ml を混ぜ、4°C にて 4 時間保温した。これに、約 12000 cpm になるように 0.2% BSA で希釈した <sup>125</sup>I-Tyr<sup>8</sup>-substance P 0.1 ml を加え、4°C にて 18 時間保温した。free-<sup>125</sup>I-substance P と bound-<sup>125</sup>I-substance P との分離は、dextrane coated charcoal 法にて行った。すなわち、charcoal 溶液(2% charcoal, 0.2% dextran T-70 IN 50 mM sodium barbital buffer)0.5 ml を加え、30 分保温の後、3000 rpm にて 15 分間遠沈した。この沈査を gamma counter にて測定し、得られた標準曲線により、1-100 pg の範囲の髄液中の SP-LI の測定が可能であった。

得られた SP-LI 濃度について、腰椎椎間板ヘルニア群と対照群とを比較した。さらに腰椎椎間板ヘルニア患者について、日本整形外科学会腰痛疾患治療成績判定基準を用い、自覚症状の 3 項目、腰痛(3 点)、下

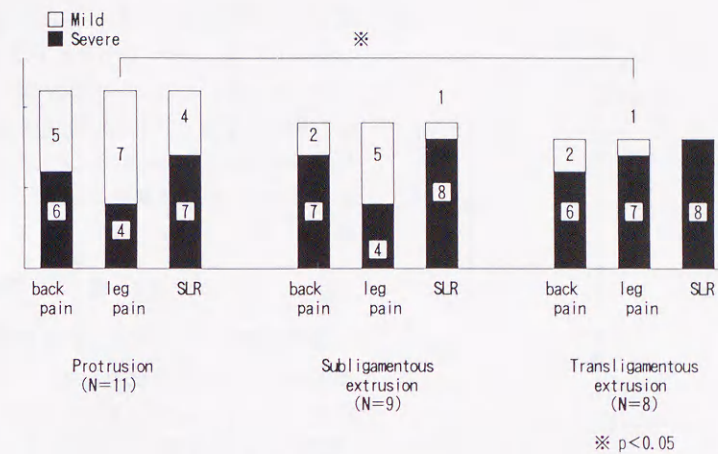


Fig. 1 Correlation of the severity of the low back pain, leg pain and the SLR test result, with the hernia type in lumbar disc herniation. Evaluation of the association between the hernia type and the severity of pain-associated symptoms such as low back pain, leg pain, and the results of the SLR test showed a significantly higher frequency of severe leg pain ( $p < 0.05$ ) and a slightly higher frequency of strongly positive SLR result in the transligamentous type than in the protrusion type.

肢痛(3 点)、歩行能力(3 点)のそれぞれについて、2 点以上の軽症群と 1 点以下の重症群に分け、SP-LI 濃度を比較した。また、他覚所見の 3 項目、SLR テスト(2 点)、知覚障害(2 点)、筋力障害(2 点)についても、2 点の軽度群と 1 点以下の重症群に分け、SP-LI 濃度を比較した。

また、腰椎椎間板ヘルニア患者 28 例についてヘルニア型を CT-discography 所見、手術所見および MRI 所見より Macnab の分類に従い<sup>14)</sup>、髄核が線維輪を破っていない protrusion type、髄核が線維輪を破り後縦靱帯の下に達している subligamentous extrusion type、髄核が後縦靱帯を破り脊柱管内に達している transligamentous extrusion type に分類した。ヘルニアタイプと腰痛、下肢痛および SLR テストといった疼痛と関連した症状の重症度との関連をみると transligamentous extrusion では、protrusion と比べ下肢痛の重症の患者が有意に多く( $p < 0.05$ )、また SLR テストの重症の患者も多い傾向にあった(Fig. 1)。これをふまえて、それぞれのヘルニアタイプの SP-LI 濃度を比較した。

統計処理の方法は、Mann-Whitney 検定を用いた。

## III. 結 果

### 1. 腰椎椎間板ヘルニア患者と対照者の SP-LI 濃度の比較

腰椎椎間板ヘルニアの患者の脳脊髄液中の SP-LI 濃度は、 $5.49 \pm 3.01$  pg/ml であり、対照の  $2.05 \pm 0.52$  pg/ml に比べ、有意に高値を示した( $p < 0.01$ ) (Fig. 2)。

### 2. 腰椎椎間板ヘルニアにおける自覚症状重症度と SP-LI 濃度の比較

腰椎椎間板ヘルニアにおける自覚症状の重症度と SP-LI 濃度との比較では、腰痛については、重症群の SP-LI 濃度は  $5.94 \pm 3.32$  pg/ml であり、軽症群の  $4.29 \pm 1.54$  pg/ml に比べ高い傾向にあったが有意の差は認めなかった(Fig. 3-A)。下肢痛については、重症群の SP-LI 濃度は  $6.59 \pm 3.39$  pg/ml であり、軽症群( $4.27 \pm 1.98$  pg/ml)に比べ有意に高値を示した( $p < 0.01$ )が(Fig. 3-B)、歩行能力については、軽症群と重症群との間に有意の差を認めなかった(Fig. 3-C)。

### 3. 腰椎椎間板ヘルニアにおける他覚所見と SP-LI 濃度の比較

他覚所見の重症度と SP-LI 濃度との関係では、



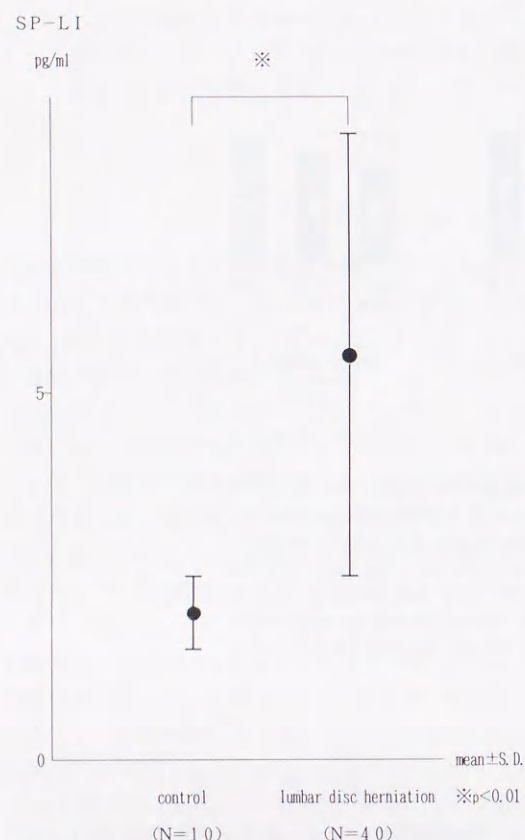


Fig. 2 SP-LI concentration in the cerebrospinal fluid. The SP-LI concentration in the cerebrospinal fluid was significantly higher in the hernia group ( $5.49 \pm 3.01$  pg/ml) than in the control group ( $2.05 \pm 0.52$  pg/ml) ( $p < 0.01$ ).

SLRテストについては、重症群のSP-LI濃度( $5.88 \pm 3.08$  pg/ml)は、軽症群( $3.93 \pm 2.20$  pg/ml)に比べ有意に高かった( $p < 0.05$ ) (Fig. 4-A). しかし、知覚障害、筋力低下については、軽症群と重症群との間に有意の差を認めなかった (Fig. 4-B, C).

#### 4. 腰椎椎間板ヘルニアにおける罹病期間とSP-LI濃度の関係

罹病期間とSP-LI濃度との関係については、発症より1年以上の群のSP-LI濃度( $3.84 \pm 1.25$  pg/ml)が、1年未満の群( $6.19 \pm 3.28$  pg/ml)に比べ有意に低値であった( $p < 0.05$ ) (Fig. 5).

#### 5. 腰椎椎間板ヘルニアにおけるヘルニア型とSP-LI濃度の関係

手術所見や画像所見よりヘルニアのタイプ分類が可

能であった28例を対象とした。SP-LI濃度は、protrusionでは $3.66 \pm 1.10$  pg/ml, subligamentous extrusionでは $4.71 \pm 1.30$  pg/ml, transligamentous extrusionでは $6.09 \pm 2.05$  pg/mlであり、transligamentous extrusion typeのSP-LI濃度がprotrusion typeに比べ有意に高値を示した( $p < 0.05$ ) (Fig. 6).

#### IV. 考 察

腰椎椎間板ヘルニアにおける疼痛の原因は突出した椎間板による後根の圧迫と考えられているが、疼痛発現のメカニズムについてはなお不明の点が多い。脊髄神経節(一次性知覚ニューロン)においては各種ニューロペプチドが介在している。なかでも substance P やカルシトニン遺伝子関連ペプチドは、痛覚を伝える径の小さい神経線維内に存在する<sup>7,10</sup>。これらの物質は軸索の中を流れ、一次性求心性線維の終末部に貯えられ、インパルスにより放出される。これらのニューロペプチドが疼痛の伝達物質としての役割を担っていると考えられている<sup>9,11,16,19</sup>。Badalamenteら<sup>11</sup>は、後根に対する機械的刺激により、神経節および脊髄後角における substance P 含有細胞が増加していることを報告し、このことより、腰部神経根への機械的刺激時に substance P が侵害受容の調節に関与しているとしている。また、正木ら<sup>15</sup>は疼痛の強い腰部疾患、特に腰椎椎間板ヘルニアや腰部脊柱管狭窄症において、脳脊髄液中のSP-LI濃度が上昇していることより、substance P が腰部疾患の疼痛発現機序に対する修飾作用を示すことを報告している。

本研究においても、腰椎椎間板ヘルニア患者において、対照に比べ脳脊髄液中のSP-LI濃度の高値が認められた。また、SP-LI濃度と腰椎椎間板ヘルニアの臨床症状との関連性を検討したところ、強い下肢痛を訴える患者のSP-LI濃度は、下肢痛の軽い患者に比べ有意に高値を示した。さらに、SLRテストのように疼痛に関連した臨床症状についても、重症な患者ほどSP-LI濃度は有意に高かった。しかし、知覚障害、筋力低下といった、疼痛と関係のない他覚所見とSP-LI濃度との間には相関はなかった。これらの結果より、substance P は腰椎椎間板ヘルニアにおける疼痛発現機序へ深く関与していると考えられた。

ヘルニアタイプとSP-LI濃度との関連は、下肢痛の重症度が高いtransligamentous extrusionでSP-LI濃度が高値であった。つまり、ヘルニアが後縦靱

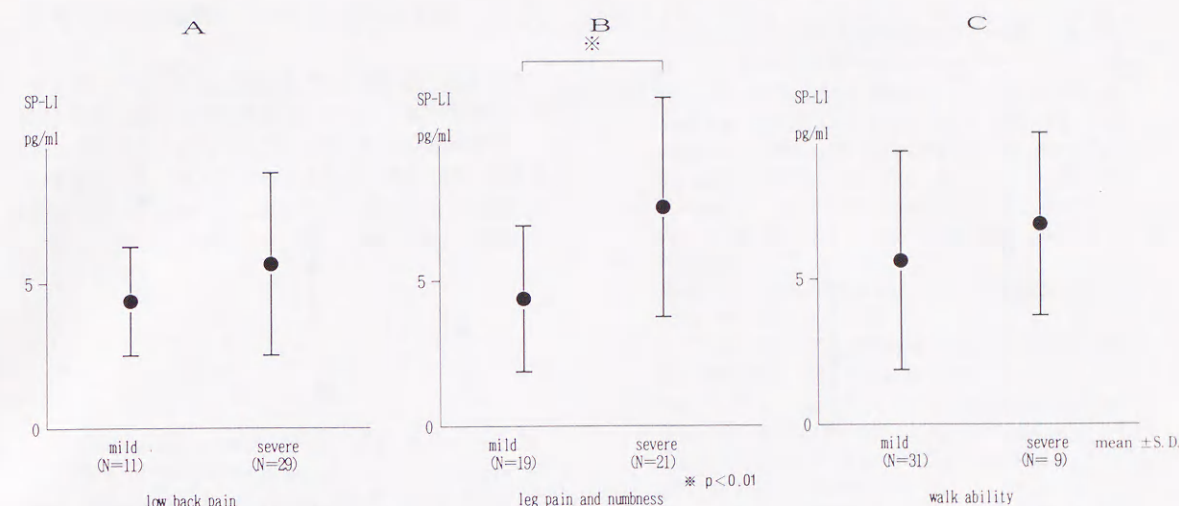


Fig. 3 Severity of the symptoms and the SP-LI level in patients with lumbar disc herniation. With respect to low back pain (scored 0 points for severe pain and 3 points for no pain), leg pain (0-3 points), and walking ability (0-3 points), the patients were divided into those in whom the separate JOA score was 2 or higher (mild group) and those in whom it was 1 or less (severe group), and the SP-LI level was then compared between the mild group and the severe group. As for low back pain, the SP-LI level tended to be higher in the severe group ( $5.49 \pm 3.32$  pg/ml) than in the mild group ( $4.29 \pm 1.54$  pg/ml), but the difference was not significant. As for leg pain, the SP-LI level was significantly higher in the severe group ( $6.59 \pm 3.39$  pg/ml) than in the mild group ( $4.27 \pm 1.98$  pg/ml) ( $p < 0.01$ ), but no significant difference was observed between the severe group and mild group concerning the walking ability.

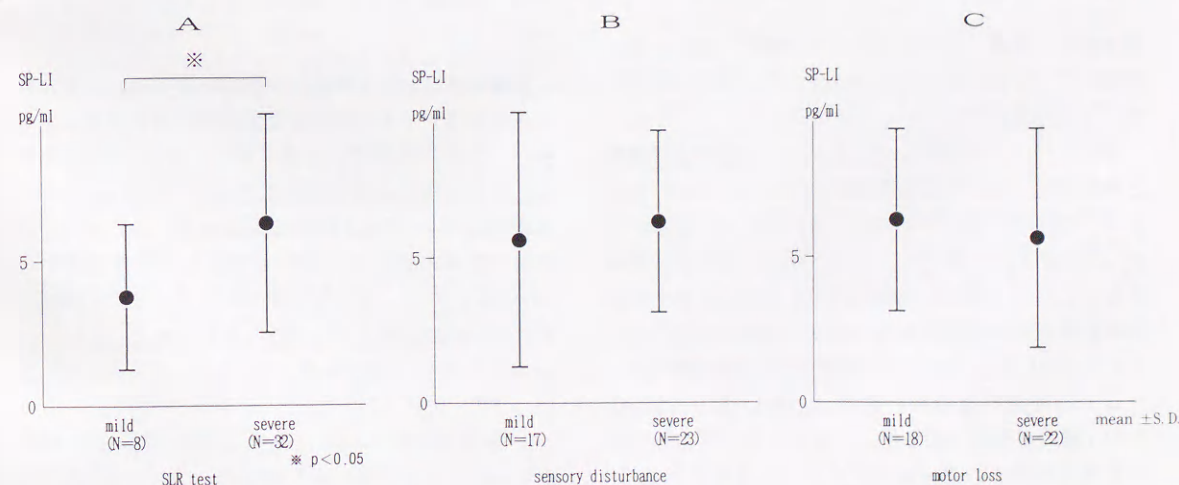


Fig. 4 Severity of signs and the SP-LI level in lumbar disc herniation. Concerning of the SLR test result (0-2 points), sensory disturbances (0-2 points), and motor loss (0-2 points), the patients were divided into those in whom the separate JOA score was 2 or higher (mild group) and those in whom it was 1 or less (severe group), and the SP-LI level was compared between the mild group and the severe group. As for the SLR test, the SP-LI level was significantly higher in the severe group ( $5.88 \pm 3.08$  pg/ml) than in the mild group ( $3.93 \pm 2.20$  pg/ml) ( $p < 0.05$ ). However, no significant difference was observed between the severe group and the mild group concerning either sensory disturbances or motor loss.



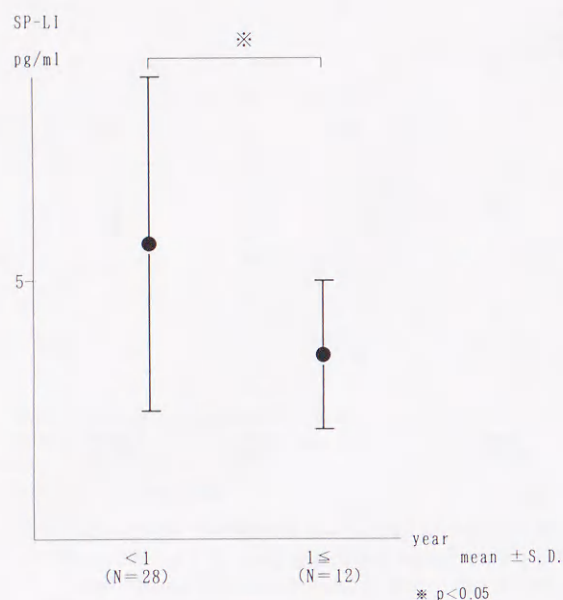


Fig. 5 Duration of illness and the SP-LI level in lumbar disc herniation. The SP-LI level was significantly lower in those at 1 year or more from the onset ( $3.84 \pm 1.25$  pg/ml) than in those at less than 1 year from the onset ( $6.19 \pm 3.28$  pg/ml) ( $p < 0.05$ ).

帯を破り、直接、硬膜管あるいは神経根に接し、強く圧迫している症例では、substance Pの放出がより増し下肢痛が増悪していると考えられた。

横田ら<sup>20)</sup>は、椎間板ヘルニアによる放散痛は急性期と慢性期で、その発現機序が異なるとしている。すなわち、急性期の痛みは後根への圧迫症状とみなされるが、慢性期では、慢性的に圧迫された後根神経線維の性質が変わり、機械的刺激に対する反応の変化や脊髄神経節細胞の自発的興奮も、痛みの発現に関与するようになる<sup>9)</sup>と述べている。本研究では、腰椎椎間板ヘルニアの罹病期間の長い患者は、短い患者に比べ、SP-LI濃度が低値であった。これは、急性期と慢性期の疼痛発現機序の違いを反映している可能性がある。疼痛刺激は脊髄後角において、substance Pなどのニューロペプチドの放出と同時に、神経に抑制的に働くエンドルフィン等のオピオイドにより、複雑に抑制されていると考えられている<sup>8),9)</sup>。罹病期間の長いヘルニア患者のSP-LI濃度の低下は、慢性期に疼痛発現に関与するsubstance Pの放出を抑制するような制御機構の発達のためとも考えられた。

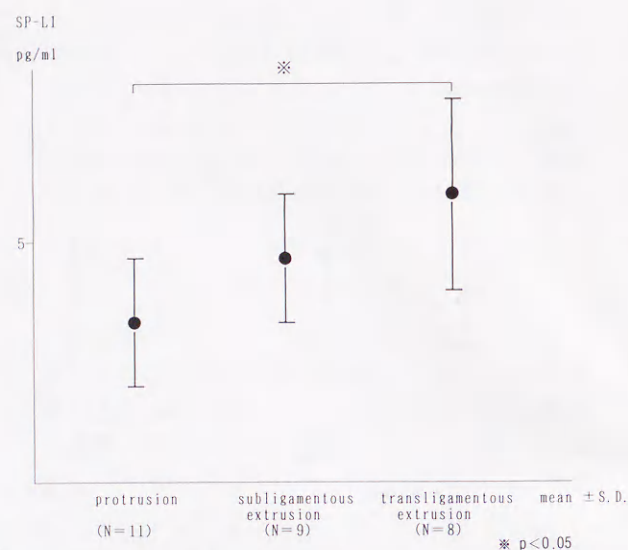


Fig. 6 Relation of the SP-LI level with the hernia type in lumbar disc herniation. Twenty-eight patients in whom the hernia type was determined by intraoperative findings and imaging findings were evaluated. The SP-LI level was  $3.66 \pm 1.10$  pg/ml in protrusion type,  $4.71 \pm 1.30$  pg/ml in the subligamentous extrusion type, and  $6.09 \pm 2.05$  pg/ml in the transligamentous extrusion type. The SP-LI level was significantly higher in the transligamentous extrusion type than in the protrusion type ( $p < 0.05$ ).

腰椎疾患における腰痛や下肢痛の評価は、主観に頼らざるを得ず、その判定や原因診断に苦渋することも多い。今回の検討で下肢痛の強い、あるいはSLRテストの重度陽性の腰椎椎間板ヘルニア患者において、脳脊髄液中のSP-LI濃度は高値を示した。SP-LI濃度は下肢痛の重症度を反映しており、脳脊髄液中のsubstance Pが、腰椎椎間板ヘルニアにおける疼痛の客観的評価の指標となり得ると考えられた。

## V. ま と め

1. 腰椎椎間板ヘルニア患者40例と対照者10例の脳脊髄液中のsubstance P様免疫活性(SP-LI)濃度を測定した。
2. 腰椎椎間板ヘルニア患者のSP-LI濃度は対照者に比べ有意に高かった。
3. 下肢痛が重症なほどSP-LI濃度は高値を示した。
4. 腰椎椎間板ヘルニアにおける脳脊髄液中のsubstance Pは臨床症状の重症度と相関しており、疼痛

の客観的評価の指標となり得ると考えられた。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました鹿児島大学医学部整形外科教室酒匂崇教授、米和徳講師に感謝いたします。本研究を行うにあたり懇切なる御指導をいただきました鹿児島大学薬理学教室福田健夫教授、清水隆雄講師に心より感謝いたします。また研究に際して鹿児島大学医学部整形外科教室今村健志助手、井尻幸成氏にお礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Badalamente, M. A., et al.: Mechanical stimulation of dorsal root ganglia induces increased production of substance P: A mechanism for pain following nerve root compromise? *Spine*, **12**: 552-555, 1987.
- 2) Cramer, H., et al.: Cerebrospinal fluid immunoreactive substance P and somatostatin in neurological patients with peripheral and spinal cord disease. *Neuropeptides*, **12**: 119-124, 1988.
- 3) Grönbald, M., et al.: Silver impregnation and immunohistochemical study of nerves in lumbar facet joint plical tissue. *Spine*, **16**: 34-38, 1991.
- 4) 針谷康夫他: 各種神経疾患における髄液 somatostatin, substance P の検討. *臨床神経*, **28**: 891-895, 1988.
- 5) Hatanaka, H. and Amano, T.: A mouse neuroblastoma × rat glioma hybrid cell produces immunoreactive substance P-like material. *Brain Res.*, **215**: 305-316, 1981.
- 6) Howe, J. F., Loeser, J. D. and Calvin, W. H.: Mechanosensitivity of dorsal root ganglia and chronically injured axons: A physiological basis for the radicular pain of nerve root compression. *Pain*, **3**: 25-41, 1977.
- 7) Hökfelt, T., et al.: Substance P: Localization in the central nervous system and in some primary neurons. *Science*, **190**: 889-890, 1975.
- 8) 市岡正道, 佐藤公道: 痛み情報のシナプス伝達とその抑制. 痛みとはなんだろう, 丸善, 東京, 57-58, 1989.
- 9) 猪木令三: オピオイドペプチドと鎮痛作用. 代謝, **22**: 33-44, 1985.
- 10) Ju, G., et al.: primary sensory neurons of the rat showing calcitonin generelated peptide immunoreactivity and their relation to substance P-, somatostatin-, galanin-, vasoactive intestinal polypeptide- and cholecystokinin-immunoreactive ganglion cells. *Cell Tissue Res.*, **247**: 417-431, 1987.
- 11) 金澤一郎: 神経伝達物質としての substance P. 代謝, **15**: 341-351, 1978.
- 12) 川上守他: 脊椎周辺神経線維の免疫組織化学的検索. 整形外科, **40**: 419-423, 1989.
- 13) Lee, C. M., Emson, P. C. and Iverson, L. L.: The development and application of a novel N-terminal directed substance P antiserum. *Life Sci.*, **27**: 535-543, 1980.
- 14) Macnab, I. and McCulloch, J.: Backache, ed. by T. H. Grayson, Williams and Wilkins, Baltimore, 130-134, 1990.
- 15) 正木国弘他: 腰部疾患に起因する疼痛の発現機序—神経伝達物質の立場より—. 臨整外, **22**: 379-385, 1987.
- 16) Otsuka, M., et al.: Role of substance P as a sensory transmitter in spinal cord and sympathetic ganglia. In: Substance P in the Nervous System, ed. by R. Porter and M. O'Connor, Pitman Books Ltd., London, 13-30, 1982.
- 17) Powell, D., et al.: Radioimmunoassay for substance P. *Nature New Biology*, **241**: 252-254, 1973.
- 18) Shimizu, T., et al.: Capsaicin-induced corneal lesions in mice and the effects of chemical sympathectomy. *J. Pharmacol. Exp. Therapeutics*, **243**: 690-695, 1987.
- 19) 高木博司, 倉石泰: サブスタンス P およびソマトスタチンと痛覚情報伝達. 代謝, **23**: 33-37, 1986.
- 20) 横田敏勝: 脊髄神経系における痛みの伝達. 臨床医のための痛みのメカニズム, 南江堂, 東京, 20-22, 1990.
- 21) Weinstein, J., Claverie, W. and Gibson, S.: The pain of discography. *Spine*, **13**: 1344-1348, 1988.



