

表5. G-CSF (5 μ g/kg/日) 投与後のCRP値の変化

症例 No	投与前	投与開始後								
		1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	2週間	1ヵ月
1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.2	0.2	NA	NA	0.3	0.1
2	0.1	0.1	0.1	0.2	0.3	0.2	0.3	0.8	4.2*	0.3
3	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1	0	0.1	0.1	1.3*	0.1
4	2.8	3.2	3.2	2.7	2.4	2.3	2.3	NA	16.7*	13.8**
5	0.6	0.6	0.8	0.9	0.8	0.9	0.8	NA	0.6	0.1

単位: mg/dl

NA: 未検

*手術に伴う上昇

**創感染に伴う上昇

D. 考察

今回施行した臨床試験は phase I・IIa であり、圧迫性脊髄症の急性増悪例に対する G-CSF 神経保護療法についての安全性確認を主目的としたものである。その第 1 段階として、圧迫性脊髄症の急性増悪患者 5 例に対して、G-CSF 5 μ g/kg/日 を 5 日間点滴静注投与した。その結果、G-CSF 投与期間中および投与後に有害事象の発生はなく、今回の投与量および投与方法であれば、G-CSF 神経保護療法の安全性に問題はないと考えられた。今回の G-CSF 投与量 5 μ g/kg/日 \times 5 日間は、これまでに心筋梗塞に対して行われた Valgimigli らの臨床試験と同一の投与量であり、投与開始後の血液所見の変化も彼らの報告と類似している[9]。心筋梗塞に対する他施設での臨床試験では、G-CSF 10 μ g/kg/日 を 4-6 日間皮下注で投与している[25, 26]。われわれも、今後は第 2 段階として G-CSF 投与量を 10 μ g/kg/日 \times 5 日間と増量した臨床試験を行い、これらのデータと比較検討する必要がある。

神経所見については、G-CSF 投与後に、程度の差はあるものの全例で運動および感覚麻痺の改善が得られた。今回はコントロールを設定していないため結論できないが、G-CSF が

圧迫性脊髄症の急性増悪期においても神経保護作用を持つ可能性が十分に期待される。現在、圧迫性頸髄症急性増悪例に対する有効な治療薬はない。したがって、G-CSF 神経保護療法の有効性、安全性が証明され、臨床の現場での使用が可能となれば、患者にとって大きな福音となろう。

G-CSF 神経保護療法の投与量を設定するにあたっては、台湾で行われた Shyu らの脳梗塞に対する臨床試験の報告を参考にした[27]。この報告では、G-CSF 15 μ g/kg/日 を連続 5 日間皮下注で投与しており、われわれも臨床使用の G-CSF 投与量を 15 μ g/kg/日 を念頭に計画している。臨床試験 phase I・IIa では、第 1 段階として G-CSF を 5 μ g/kg/日 \times 5 日間を 5 例に、第 2 段階として 10 μ g/kg/日 \times 5 日間を 5 例に、第 3 段階として 15 μ g/kg/日 \times 5 日間を 5 例に、そして第 4 段階で 15 μ g/kg/日 \times 10 日間を 5 例で施行する計画をたてており、今回は、その第 1 段階に相当する。今後は、各段階ごとに有害事象の有無、検査データ、神経所見を検討し、その結果を加味して、次の段階へと試験を進めていきたい。

臨床試験 phase I・IIa で G-CSF 投与の安全性が確認できれば、次の段階として、G-CSF

の治療効果の評価を主目的とする臨床試験 phase IIb に進む計画である。phase IIb では試験デザインをランダム化二重盲検プラセボ対照比較試験とする予定である。試験薬の用法、用量、投与期間として、現段階では、G-CSF 15 μ g/kg/日を連続 10 日間点滴静注する治療群と、生理食塩水を同一条件で点滴静注するコントロール群を無作為に設定する計画を立てている。そして、G-CSF 治療群およびコントロール群とも 20 例の試験を行う予定である。今回の試験では、G-CSF 投与後に全例で何らかの神経症状の改善が得られた。しかし、圧迫性脊髄症では、自然経過で神経症状の寛解、増悪がある程度得られるため、G-CSF 投与が有意に神経症状の改善をもたらしたか否かの評価は容易ではない。臨床試験 phase IIb を完遂することにより、G-CSF が圧迫性脊髄症の急性増悪例に対する治療薬としての評価に耐えるものであるかを明らかにしたい。

[参考文献]

1. Kameyama T, Hashizume Y, Ando T, Takahashi A, Yanagi T, Mizuni J. Spinal cord morphology and pathology in ossification of the posterior longitudinal ligament. *Brain* 1995; 118: 263-78.
2. Baba H, Maezawa Y, Imura S, Kawahara N, Nakahashi K, Tomita K. Quantitative analysis of the spinal cord motoneuron under chronic compression: An experimental observation. *J Neurol* 1996; 243: 109-6.
3. Katoh K, Ikata T, Katoh S, Hamada Y, Nakauchi K, Sano T, Niwa M. Induction and its spread of apoptosis in rat spinal cord after mechanical trauma. *Neurosci Lett* 1996; 216: 9-10.
4. Liu XZ, Xu XM, Hu R, Du C, Zhang SX, McDonald JW, Dong HX, Wu YJ, Fan GS, Jacquin MF, Hsu CY, Choi DW. Neuronal and glial apoptosis after traumatic spinal cord injury. *J Neurosci* 1997; 17: 5395-406.
5. Crowe MJ, Bresnahan JC, Shuman SL, Masters JN, Beattie MS. Apoptosis and delayed degeneration after spinal cord injury in rats and monkey. *Nat Med* 1997; 3: 73-6.
6. Nakahara S, Yone K, Sakou T, Wada S, Nagamine T, Niiyama T, Ichijo H. Induction of apoptosis signal regulating kinase 1 (ASK1) after spinal cord injury in rats: Possible involvement of ASK1-JNK and -p38 pathways in neuronal apoptosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 1999; 58: 442-50.
7. Wada S, Yone K, Ishidou Y, Nagamine T, Nakahara S, Niiyama T, Sakou T. Apoptosis following spinal cord injury in rats and preventative effect of N-methyl-D-aspartate receptor antagonist. *J Neurosurg* 1999; 91: 98-104.
8. Yamaura I, Yone K, Nakahara S, Nagamine T, Baba H, Uchida K, Komiya S. Mechanism of destructive pathologic changes in the spinal cord under chronic mechanical compression. *Spine* 2002; 27: 21-6.
9. Valgimigli M, Rigolin GM, Cittanti C, Malagutti P, Curello S, Percoco G, Bugli AM, Della Porta M, Bragotti LZ, Ansani L, Mauro E, Lanfranchi A, Giganti M, Feggi

- L, Castoldi G, Ferrari R: Use of granulocyte-colony stimulating factor during acute myocardial infarction to enhance bone marrow stem cell mobilization in humans: clinical and angiographic safety profile. *Eur Heart J* 2005; 26: 1838-45.
10. Koda M, Nishio Y, Kamada T, Someya Y, Okawa A, Mori C, Yoshinaga K, Okada S, Moriya H, Yamazaki M. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) mobilizes bone marrow-derived cells into injured spinal cord and promotes functional recovery after compression-induced spinal cord injury in mice. *Brain Res* 2007; 1149: 223-31.
11. Fehlings MG, Skaf G. A review of the pathophysiology of cervical spondylotic myelopathy with insights for potential novel mechanisms drawn from traumatic spinal cord injury. *Spine* 1998; 23: 2730-7.
12. Schmidt MH, Quinones-Hinojosa A, Rosenberg WS. Cervical myelopathy associated with degenerative spine disease and ossification of the posterior longitudinal ligament. *Semin Neuronal* 2002; 22: 143-8.
13. Sampath P, Bendebba M, Davis JD, Ducker TB. Outcome of patients treated for cervical myelopathy. A prospective, multicenter study with independent clinical review. *Spine* 2000; 25: 670-6.
14. Wang YL, Tsau JC, Huang MH. The prognosis of patients with cervical spondylotic myelopathy. *Kaohsiung J Med Sci* 1997; 13: 425-31.
15. 北川誠一, 湯尾明. G-CSF の基礎, 作用機序. *Biotherapy* 1992; 6: 20-8.
16. Kawada H, Takizawa S, Takanashi T. Administration of hematopoietic cytokines in the subacute phase after cerebral infarction is effective for functional recovery facilitating proliferation of intrinsic neural stem/progenitor cells and transition of bone marrow-derived neuronal cells. *Circulation* 2006; 113: 701-10.
17. Schäbitz WR, Kollmar R, Schwaninger M, Juettler E, Bardutzky J, Schölzke MN, Sommer C, Schwab S. Neuroprotective effect of granulocyte colony-stimulating factor after focal cerebral ischemia. *Stroke* 2003; 34: 745-51.
18. Schneider A, Kuhn HG, Schäbitz WR. A role for G-CSF (granulocyte-colony stimulating factor) in the central nervous system. *Cell Cycle* 2005; 4: 1753-7.
19. 門田領, 国府田正雄, 西尾豊, 大河昭彦, 山崎正志. 脊髄損傷における顆粒球コロニー刺激因子の神経保護作用. *日脊障医誌* 2007; 20: 180-1.
20. 川辺純子, 国府田正雄, 門田領, 大河昭彦, 山崎正志. ラット脊髄圧挫モデルにおける顆粒球コロニー刺激因子の血管系に対する作用. *日脊障医誌* 2008; 21: 112-3.
21. 国府田正雄, 西尾豊, 門田領, 川辺純子, 山崎正志. 脊髄損傷に対する顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)の治療効果およびその作用メカニズムの解析. *整形外科* 2007; 58: 1464.
22. Nishio Y, Koda M, Kamada T, Someya Y,

- Kadota R, Mannoji C, Miyashita T, Okada S, Okawa A, Moriya H, Yamazaki M. Granulocyte colony-stimulating factor attenuates neuronal death and promotes functional recovery after spinal cord injury in mice. *J Neuropathol Exp Neurol* 2007; 66: 724-31.
23. Maynard FM Jr, Bracken MB, Creasey G, Ditunno JF Jr, Donovan WH, Ducker TB, Garber SL, Marino RJ, Stover SL, Tator CH, Waters RL, Wilberger JE, Young W. International Standards for Neurological and Functional Classification of Spinal Cord Injury. *American Spinal Injury Association. Spinal Cord*. 1997; 35 :266-74.
24. Masaki Y, Yamazaki M, Okawa A, Aramomi M, Hashimoto M, Koda M, Mochizuki M, Moriya H An analysis of factors causing poor surgical outcome in patients with cervical myelopathy due to ossification of the posterior longitudinal ligament: anterior decompression with spinal fusion versus laminoplasty. *J Spinal Disord Tech* 2007; 20: 7-13.
25. Ince H, MD, Petzsch M MD, Kleine H D MD, Schmidt H MD, Rehders T MD, Körber T MD, Schümichen C MD, Freund M MD, Nienaber C A MD. Preservation from left ventricular remodeling by front-integrated revascularization and stem cell liberation in evolving acute myocardial infarction by use of granulocyte-colony-stimulating factor (FIRSTLINE-AMI) *Circulation* 2005; 112: 3097-106.
26. Kang HJ, Kim HS, Zhang SY, Park KW, Cho HJ, Koo BK, Kim YJ, Soo Lee D, Sohn DW, Hans KS, Oh BH, Lee MM, Park YB. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilised with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomised clinical trial. *Lancet* 2004; 363: 751-6.
27. Shyu WC, Lin SZ, Lee CC, Liu DD, Li H. Granulocyte colony-stimulating factor for acute ischemic stroke: a randomized controlled trial. *CMAJ* 2006; 174: 927-33.

E. 結論

G-CSF 5 μ g/kg/日を連続 5 日間点滴静注する臨床試験を行った。全例で運動・感覚麻痺の改善が得られた。また、G-CSF 投与期間中および投与後に有害事象の発生はなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. 佐久間毅, 山崎正志, 国府田正雄, 橋本将行, 高橋宏, 林浩一, 川辺純子, 藤由崇之, 古矢丈雄, 山内友規, 門田領, 宮下智大, 萬納寺誓人, 染谷幸男, 西尾豊, 鎌田尊人, 腰塚周平, 池田修, 喜多恒次, 安宅洋美, 吉永勝訓, 村田淳, 橋本光宏, 大河昭彦, 高橋和久: 圧迫性脊髄症の急性増悪期に顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) 投与による神経保護療法を施行

した5症例. 千葉医学 86: 11-18, 2010.

学会発表

1. Kawabe J, Koda M, Hashimoto M, Fujiyoshi T, Furuya T, Endo T, Hayashi K, Okawa A, Yamazaki M. Neuroprotective effects of Granulocyte colony stimulating factor on acute spinal cord injury: experimental study and clinical experience. 25th Annual Meeting, Cervical Spine Research Society-European Section, Abstract p111
2. Yamazaki M, Koda M, Kawabe J, Hayashi K, Sakuma T, Takahashi H, Okawa A. Neuroprotective effects of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) on the injured spinal cord: experimental studies and its early clinical trial. 37th Annual Meeting, Cervical Spine Research Society, Abstract p229.
3. 川辺純子, 国府田正雄, 門田領, 西尾豊, 橋本将行, 藤由崇之, 古矢丈雄, 遠藤友規, 大河昭彦, 高橋和久, 山崎正志. パネルディスカッション「脊髄修復の促進技術」脊髄損傷に対する顆粒球コロニー刺激因子の治療効果. 第24回日本整形外

科学会基礎学術集会, 日整会誌 83(8):S1015, 2009.

4. 高橋宏, 佐久間毅, 林浩一, 大河昭彦, 国府田正雄, 山崎正志. 急性期脊髄損傷に対して顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)投与を施行した臨床試験例の検討. 第44回日本脊髄障害医学会, 抄録集 p84.
5. 佐久間毅, 高橋宏, 林浩一, 大河昭彦, 国府田正雄, 山崎正志. 圧迫性脊髄症急性増悪例に対する顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)投与による神経保護療法. 第44回日本脊髄障害医学会, 抄録集 p84.
6. 高橋宏, 山崎正志, 大河昭彦, 国府田正雄, 橋本将行, 林浩一, 佐久間毅, 高橋和久. 急性脊髄損傷に対する顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)を用いた神経保護療法:Phase I・IIa 臨床試験. 第9回日本再生医療学会総会, 再生医療 9 suppl: 220, 2010.

H. 知的財産権の出願・登録状況

本研究について、本年度は特許取得や実用新案登録はない。

圧迫性脊髄症急性増悪期例に対する顆粒球コロニー刺激因子を用いた神経保護療法：G-CSF 10 μ g/kg/日投与例の検討

佐久間毅 高橋宏 国府田正雄 林浩一 川辺純子 藤由崇之 古矢丈雄 山内友規 加藤啓 橋本将行 橋本光宏 村田淳 大河昭彦 高橋和久 山崎正志

主任研究者：山崎正志 千葉大学大学院医学研究院整形外科学准教授

分担研究者：大河昭彦 千葉大学医学部附属病院整形外科講師

分担研究者：村田淳 千葉大学医学部附属病院リハビリテーション部准教授

分担研究者：国府田正雄 千葉市立青葉病院整形外科副部長

研究要旨：我々は、圧迫性脊髄症急性増悪期例に対する顆粒球コロニー刺激因子（Granulocyte-colony stimulating factor: G-CSF）を用いた神経保護療法について、安全性確認を主目的とした Phase I/IIa 臨床試験を進めている。本試験の第1段階で G-CSF 5 μ g/kg/日投与の安全性が確認されたのに引き続き、今回は、第2段階として G-CSF 10 μ g/kg/日の投与を行った。直近1ヵ月間に日本整形外科学会頸髄症治療判定基準にて2点以上の悪化を認めた12例に対して本試験を施行した。本人の自由意思による文書同意を得た後、G-CSF 10 μ g/kg/日を連続5日間点滴静注投与した。投与後に有害事象の有無を確認し、運動・感覚麻痺の推移の評価を行った。神経所見については、G-CSF 投与後に、程度の差はあるものの全例で運動・感覚麻痺の改善が得られた。American Spinal Injury Association score は投与直前の平均が運動91点、触覚92点、痛覚88点であったのに対し、投与後1ヵ月後は運動98点、触覚99点、痛覚100点に改善した。白血球数は投与開始の翌日には $22.7 \times 10^3/\mu\text{L}$ 以上に上昇し、投与期間中は $22.7 \sim 47.3 \times 10^3/\mu\text{L}$ の値が維持され、最終投与の3日後には、ほぼ投与前の値に戻った。G-CSF 投与期間中および投与後に有害事象の発生はなかった。

A. 研究目的

圧迫性脊髄症はヘルニア、骨棘、靭帯骨化などによる慢性的な脊髄圧迫により緩徐進行性の脊髄障害を来す疾患群である[1, 2]。その病態形成の詳細については不明な点が多いが、慢性的な圧迫によっても急性脊髄損傷と同様に神経細胞・グリア細胞の細胞死が惹起され、これによって脊髄の機能障害が起こると考えられている[3-9]。

圧迫性脊髄症の患者において、時に比較的軽い外傷を契機に、または誘因無く急速な症状の増悪をみる事がある。こうした脊髄症の急性増悪は脊髄内部での神経細胞・グリア細胞

の細胞死が関与していると考えられており[1, 2, 7, 10]、放置すると難治性となりうる。圧迫性脊髄症例の約5%に急激な症状増悪が生じるとの報告がある[11]。また、早期に手術が行われた例では良好な症状改善が期待できるのに対し、保存療法が行われた例では悪化傾向を認めることが多い[12, 13]。

顆粒球コロニー刺激因子

（Granulocyte-colony stimulating factor: G-CSF、一般名：フィルグラスチム）は血球系に作用する増殖因子であり、顆粒球系細胞の分化・増殖・生存促進などの作用を有する[14, 15]。白血球減少症に対して、また末梢血幹細胞移植

ドナーに対して、造血幹細胞の末梢血への動員のための投与が保険適当となっている。中枢神経系においては、骨髄細胞を脳・脊髄中へ動員する作用や[16]、脳卒中モデルに対する神経保護作用[17]などが報告されており、海外では脳梗塞に対する臨床研究が報告されている[18]。これらの報告から、脊髄損傷に対しても G-CSF が治療効果を発揮しうる可能性が想定されたため、われわれは G-CSF の脊髄損傷に対する有効性およびその作用メカニズムについて検討を進めてきた。現在までに得られたデータから、①G-CSF により動員された骨髄由来細胞が脊髄損傷部に生着する、②直接的に神経細胞死を抑制する、③ Oligodendrocyte の細胞死を抑制し髄鞘を保護する、④炎症性サイトカイン(TNF- α 、IL-1 β)発現を抑制する、⑤血管新生を促進する、などが G-CSF の脊髄損傷に対する作用機序として想定される[9, 19-22]。これらのデータから、G-CSF が圧迫性脊髄症の急性増悪期においても神経保護作用を持つ可能性が示唆される。

以上より、圧迫性脊髄症の急性増悪例に対する治療薬としての G-CSF の安全性・有効性を証明するため臨床研究を計画するに至った。われわれは G-CSF 神経保護療法の安全性確認を主目的とする Phase I・IIa 臨床試験を計画し、2008 年 3 月に千葉大学医学部附属病院治験審査委員会の承認を得た(承認番号 G19040)。本試験は 2008 年 6 月に開始となり、第 1 段階の G-CSF 5 μ g/kg/日の投与例 5 例については、既に安全性を確認した[23]。今回は、第 2 段階の G-CSF 10 μ g/kg/日を投与した 12 症例について、試験結果を報告する。なお、Phase I/IIa 臨床試験は探索的試験であり、安全性の確認が主目的のためコントロールは

設定しなかった。

B. 研究方法

対象は 20 歳から 75 歳の圧迫性脊髄症急性増悪患者(直近の 1 ヶ月間に日本整形外科学会頸髄症治療判定基準にて 2 点以上の悪化を認めたもの)とした。但し安全性の配慮のため、①本剤の成分に過敏症の患者、②白血病などの造血系悪性疾患の既往をもつ患者、③過去 5 年以内の悪性疾患の既往をもつ患者、④心筋梗塞・狭心症の既往をもつ患者、⑤血栓・塞栓症の既往またはその傾向をもつ患者、⑥脾腫のある患者、⑦意識障害を有する患者、⑧妊婦、⑨脳梗塞などの神経症状評価に影響を及ぼしうる神経疾患を併発している・既往をもつ患者については除外した。以上の条件を満たす患者に十分な説明を行った後に、本人の自由意志による文書同意が得られた患者を試験の対象とした。

G-CSF は 10 μ g/kg/日を連続 5 日間点滴静注とした。試験デザインはオープンラベル用量漸増試験とし、コントロールは設定しなかった。全例 G-CSF 投与後 1 ヶ月間は手術や他の神経学的所見に影響を及ぼす治療は行わなかった。

主要評価項目は G-CSF 投与開始後 1 ヶ月の時点での安全性評価とし、有害事象(副作用)の有無を評価した。有害事象の程度は副作用評価基準グレード 1-4 にて評価した。副次的評価項目として、G-CSF 投与後の機能障害の推移を評価した。運動・感覚麻痺の推移を理学所見にて確認、American Spinal Injury Association (ASIA) score (運動:0~100 点、触覚:0~112 点、痛覚:0~112 点)[24]、日本整形外科学会頸髄症治療判定基準 (JOA score) (0~17 点、胸髄症では 0~11 点)[25]

で評価した。加えて、血液所見およびMRI所見の評価を行った。これらの値に対する統計学的処理にはマン・ホイットニ検定を用い $p < 0.05$ を有意差ありとした。

C. 研究結果

12例に対してG-CSF投与が行なわれた。症例は7例が脊柱靭帯骨化症、4例が頸椎症、1例が脊髄ヘルニアに伴う脊髄症患者であった(表1)。全例で、投与前の1ヵ月間にJOA scoreで2点以上の低下を認めていた(表2)。G-CSF投与後に、程度の差はあるものの全例で運動・感覚麻痺の改善が得られ、ASIA scoreの運動と痛覚については投与前と投与1ヵ月及び3ヵ月の間に有意差を認めた(表3)。10例に対し、G-CSFを投与して1ヶ月以上

経過した後に手術を施行した。末梢血中の白血球数は投与開始後1日目(投与翌日)には $22.7 \times 10^3/\mu\text{L}$ 以上に上昇し、投与翌日から投与5日目(最終投与翌日)までは $22.7 \sim 47.3 \times 10^3/\mu\text{L}$ の値が維持され、投与直前の値に比べて有意に高かった(表4)。最終投与の3日後には、ほぼ投与前の値に戻った。白血球分画では顆粒球の選択的な増加であり、白血球同様に投与翌日から投与5日目までは投与前の値に比べて有意に高かった。CRPは投与前に比べて有意な上昇は認めなかった。その他の血液検査項目でも、明らかな異常所見は認めなかった。G-CSF投与期間中および投与後に、G-CSF投与に伴う有害事象の発生はなかった。

表1. G-CSF 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 投与症例

症例 No.	年齢(歳) / 性別	身長 (cm)	体重 (kg)	原疾患	脊髄最大 圧迫高位	手術術式	G-CSF投与 ~手術の期 間(日)	G-CSF投 与後観察 期間(月)
1	46/男	172	79	胸椎後縦靭帯骨化症	T7/8	後方除圧固定術	59	6
2	67/男	159	66	頸椎後縦靭帯骨化症	C5/6	未手術	未手術	6
3	75/男	160	55	頸椎後縦靭帯骨化症	C3/4	後方除圧固定術	49	6
4	64/男	166	75	頸椎後縦靭帯骨化症	C3/4	後方除圧固定術	41	6
5	32/男	178	85	胸椎後縦靭帯骨化症	T7/8	後方除圧固定術	29	6
6	67/男	167	69	胸椎黄色靭帯骨化症	T11/12	椎弓切除術	33	6
7	46/男	173	50	頸椎症性脊髄症	C5/6	椎弓形成術	94	3
8	43/男	179	75	胸髄ヘルニア	T9/10	脊髄ヘルニア手術	36	3
9	66/男	164	67	頸椎症性脊髄症	C4/5	椎弓形成術	73	3
10	71/男	170	54	頸椎後縦靭帯骨化症	C3/4	未手術	未手術	3
11	67/男	180	87	頸椎症性脊髄症	C4/5	後方除圧固定術	67	3
12	74/男	154	50	頸椎症性脊髄症	C7/T1	椎弓形成術	30	3

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）
分担研究報告書

表2. G-CSF 10 µg/kg/日投与前後のJOA scoreの変化

症例 No.	投与1ヵ月前	投与直前	投与1ヵ月後	投与3ヵ月後
1	7.5/11	5.5/11	6.5/11	7/11
2	14.5/17	11.5/17	12.5/17	14/17
3	16/17	8.5/17	14.5/17	14.5/17
4	14/17	9.5/17	14.5/17	14.5/17
5	6/11	4/11	6/11	6/11
6	6/11	4/11	6.5/11	6.5/11
7	14/17	11.5/17	14/17	14/17
8	6/11	3/11	7.5/11	7.5/11
9	12/17	7.5/17	13/17	14/17
10	7/17	4.5/17	8/17	8/17
11	6/17	0/17	4.5/17	4.5/17
12	13.5/17	11/17	14.5/17	14.5/17

JOA score: 日本整形外科学会頸髄症治療判定基準（頸髄症: 0-17, 胸髄症: 0-11）

表3. G-CSF 10µg/kg/日投与後のASIA scoreの変化

症例 No.	ASIA score											
	運動				触覚				痛覚			
	投与直前	7日後	1ヵ月後	3ヵ月後	投与直前	7日後	1ヵ月後	3ヵ月後	投与直前	7日後	1ヵ月後	3ヵ月後
1	92	94	94	97	85	85	85	100	84	85	85	98
2	93	98	99	97	106	109	111	110	107	109	109	108
3	96	100	100	100	112	112	112	112	69	112	112	112
4	89	96	100	100	106	108	112	110	106	110	110	110
5	100	100	100	100	82	84	84	97	82	84	84	97
6	96	100	100	100	88	100	94	94	90	97	101	94
7	95	99	100	100	89	108	110	112	95	99	111	96
8	89	95	94	96	112	112	112	112	86	88	94	98
9	89	97	98	99	105	108	109	109	105	108	108	108
10	88	97	100	100	62	96	94	99	62	96	99	104
11	74	84	91	94	62	63	64	63	62	62	83	82
12	91	97	100	100	90	96	102	102	90	101	102	102
	91.0	96.4*	98.0*	98.6*	91.6	98.4	99.1	101.7	86.5	95.9	99.8*	100.8*
	±6.5	±4.4	±3.2	±2.1	±17.4	±14.8	±15.3	±13.8	±15.9	±14.4	±11.0	±8.4

ASIA score: American Spinal Injury Association score (運動: 0-100, 触覚・痛覚: 0-112)

*: 投与直前と比し有意に改善 (p<0.05)

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）
分担研究報告書

表4. G-CSF 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 投与後の血液データの変化

	投与直前	投与開始後									
		1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	14日	1ヵ月	3ヵ月
白血球 ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	6.1 ± 1.6	29.3* ± 4.8	31.5* ± 5.6	35.2* ± 7.2	27.8* ± 9.3	25.1* ± 8.0	10.5 ± 2.8	6.7 ± 1.6	4.8 ± 1.9	6.0 ± 1.9	5.8 ± 1.8
顆粒球 ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	3.5 ± 1.1	25.4* ± 4.2	25.1* ± 8.8	29.8* ± 6.2	22.4* ± 7.7	20.0* ± 6.5	6.6 ± 2.2	3.9 ± 1.2	2.8 ± 1.4	3.4 ± 1.2	3.1 ± 1.3
リンパ球 ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	2.1 ± 0.7	2.0 ± 0.9	2.0 ± 0.6	2.5 ± 0.8	2.5 ± 1.1	2.4 ± 0.9	2.4 ± 0.9	2.0 ± 0.6	1.7 ± 0.5	1.9 ± 0.8	2.1 ± 0.9
単球 ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	0.4 ± 0.1	0.9 ± 0.4	1.0 ± 0.5	1.4 ± 0.9	1.5 ± 0.7	1.6 ± 0.7	1.0 ± 0.4	0.5 ± 0.2	0.3 ± 0.2	0.4 ± 0.2	0.4 ± 0.1
Hb (g/dl)	14.7 ± 1.4	14.1 ± 1.4	13.9 ± 1.5	14.1 ± 1.2	14.0 ± 1.7	14.1 ± 1.4	14.9 ± 1.2	14.7 ± 1.9	13.6 ± 1.8	13.6 ± 1.7	13.6 ± 2.1
血小板 ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	210.8 ± 53.7	187.1 ± 41.3	178.9 ± 38.5	192.6 ± 31.5	171.6 ± 41.5	160.8 ± 38.5	157.2 ± 40.1	159.7 ± 49.6	243.0 ± 94.2	241.4 ± 70.5	214.2 ± 49.7
CRP (mg/dl)	0.3 ± 0.8	0.6 ± 1.3	1.1 ± 2.6	1.6 ± 3.4	1.4 ± 2.4	1.8 ± 2.9	2.0 ± 4.3	1.7 ± 3.3	0.7 ± 1.2	0.4 ± 0.5	0.2 ± 0.2

*: 投与直前と比し有意に上昇 ($p < 0.05$)

表5. 諸家によるG-CSF臨床試験のデータ

報告者 [文献]	症例数	対象疾患	G-CSF投与量 ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$)	投与方法	投与期間 (日)	白血球数の 最高値 ($\times 10^3/\mu\text{l}$)
Shyu ら [18]	7	脳梗塞	15	皮下注	5	42.9 \pm 9.6
Valgimigli ら [26]	20	心筋梗塞	5	皮下注	4	35 \pm 11
Engelmann ら [27]	44	心筋梗塞	10	皮下注	5	42.9 \pm 25.7
Ince ら [28]	30	心筋梗塞	10	皮下注	6	55 \pm 8
Ripa ら [29]	78	心筋梗塞	10	皮下注	6	51 \pm 8
Takano ら [30]	40	心筋梗塞	2.5	皮下注	5	29.4 \pm 9
Zohlhofer ら [31]	114	心筋梗塞	10	皮下注	5	48 \pm 15
Nefussy ら [33]	39	筋萎縮性側索硬化症	5	皮下注	4	30.0 \pm 7.2
佐久間 ら [23]	5	圧迫性脊髄症	5	静注	5	26.7 \pm 10.7
自験例	12	圧迫性脊髄症	10	静注	5	29.8 \pm 6.2

D. 考察

今回施行した臨床試験は Phase I/IIa であり、圧迫性脊髄症の急性増悪例に対する G-CSF 神経保護療法についての安全性確認を主目的としたものである。その第 1 段階として、我々は圧迫性脊髄症の急性増悪患者 5 例に対して、G-CSF 5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ を 5 日間点滴静注投与する試験をすでに行った。その結果として、有害事象の発生を認めず、全例で何らかの神経症状の改善をみた[23]。他の領域における G-CSF 投与の臨床試験としては、脳梗塞、心筋梗塞、筋萎縮性側索硬化症を対象とした試

験の報告がある [26-33]。それらの試験での G-CSF 投与量は、2.5~15 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ と試験によって異なるが、10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ を投与する報告が多い(表 5)。以上より我々は、今回、第 2 段階として G-CSF 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ を 5 日間点滴静注する試験を行った。結果として、有害事象の発生を認めず、全例で何らかの神経症状の改善をみた。以上より、今回の投与量および投与方法であれば、G-CSF 神経保護療法の安全性に問題はないと考えられた。

今回、G-CSF 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \times 5$ 日間投与を行ったが、諸家の報告と比べて白血球数の上昇

は低い傾向にあった。このことは、諸家の報告が脳梗塞や心筋梗塞といった疾患の急性期に投与したのに対し、我々の対象が圧迫性脊髄症という慢性疾患に対する投与であったためと考える。また、諸家の投与方法が皮下注であったのに対し、自験例では静注であり、投与方法の違いも一因と考えられた[34]。一方、第1段階で我々が行ったG-CSF 5 μ g/kg/日 \times 5日間投与と、今回のG-CSF 10 μ g/kg/日 \times 5日間投与での白血球上昇の比較では、10 μ g/kg/日投与で白血球数の上昇が高い傾向を認めたと、両群間に統計学的有意差は検出できなかった。

神経所見については、G-CSF投与後に、投与直前に比して有意な運動及び痛覚の改善が得られ、触覚についても改善傾向が得られた。今回はコントロール群を設定していないため結論できないが、G-CSFが圧迫性脊髄症の急性増悪期においても神経保護作用を持つ可能性が十分に期待される。現在、圧迫性頸髄症急性増悪例に対する有効な治療薬はない。したがって、G-CSF神経保護療法の有効性、安全性が証明され、臨床の現場での使用が可能となれば、患者にとって大きな福音となる。

次の段階として、選択基準および除外基準を一部変更して試験を施行する計画である。すなわち、対象患者の年齢を20～75歳から20～85歳に変更し、高齢者に対しての試験を可能にする。また、除外基準を緩和し、心筋梗塞・狭心症の「既往をもつ患者」を「治療を受けている患者」に変更する。さらに、脳梗塞などの神経症状評価に影響を及ぼしうる神経疾患を「併発している・既往をもつ患者」を「併発している患者」に変更する。この変更により、対象患者選択の規制を緩め、より多くの患者を

対象にG-CSF療法の臨床試験を行う予定である。

当初は第3段階として、G-CSF 15 μ g/kg/日 \times 5日間投与の安全性試験を予定していた。しかし、今回の試験でG-CSFの投与量が10 μ g/kg/日でも神経所見の良好な回復が認められ、一方で、症例によっては白血球数が50 \times 10³/ μ L近くまで上昇した。したがって、10 μ g/kg/日以上の上昇は計画せずG-CSF 10 μ g/kg/日 \times 5日間投与で、試験を継続する方針とした。

臨床試験Phase I/IIaでG-CSF投与の安全性が確認できれば、次の段階として、G-CSFの治療効果の評価を主目的とする臨床試験Phase IIbに進む計画である。Phase IIbでは試験デザインをランダム化二重盲検プラセボ対照比較試験とする予定である。試験薬の用法、用量、投与期間として、現段階では、G-CSF 10 μ g/kg/日を連続5日間点滴静注する治療群と、生理食塩水を同一条件で点滴静注するコントロール群を無作為に設定する予定である。今回の試験では、G-CSF投与後に全例で何らかの神経症状の改善が得られた。しかし、圧迫性脊髄症では、自然経過で神経症状の寛解、増悪がある程度得られるため、G-CSF投与が有意に神経症状の改善をもたらしたか否かの評価は容易ではない。臨床試験Phase IIbを完遂することにより、G-CSFが圧迫性脊髄症の急性増悪例に対する治療薬としての評価に耐えうるものであるかを明らかにしたい。

今回施行した臨床試験はPhase I・IIaであり、急性脊髄損傷に対するG-CSFを用いた神経保護療法についての安全性確認を主目的としたものである。試験デザインとしては、オープンラベル用量漸増試験で、コントロールは設定していない。試験薬の用法、用量、投与期間

については、第1段階としてG-CSFを5 μ g/kg/日 \times 5日間を5例に、第2段階として10 μ g/kg/日 \times 5日間を5例に、第3段階として15 μ g/kg/日 \times 5日間を5例に、第4段階として15 μ g/kg/日 \times 10日間を5例に施行する計画であり、今回は、その第1段階に相当する。最終段階での投与量を設定するにあたっては、台湾で行われた脳梗塞に対する臨床試験の投与量を参考とした[14]。しかし、白血球数の上昇等の今後の試験の結果を解析した上で、最終段階での投与量を変更する可能性は否定できない。

臨床試験 phase I・IIa で G-CSF 投与の安全性が確認できれば、次の段階として、G-CSF の治療効果の評価を主目的とする臨床試験 phase IIb に進む計画である。急性脊髄損傷では、自然経過で神経症状の改善がある程度得られるため、G-CSF 投与が有意に神経症状の改善をもたらしたか否かの評価は容易ではない。臨床試験 phase IIb を完遂することにより、G-CSF が脊髄損傷治療薬としての評価に耐えるものであるかを明らかにしたい。

[参考文献]

1. Kameyama T, Hashizume Y, Ando T, Takahashi A, Yanagi T, Mizuni J. Spinal cord morphology and pathology in ossification of the posterior longitudinal ligament. *Brain* 1995; 118: 263-78.
2. Baba H, Maezawa Y, Imura S, Kawahara N, Nakahashi K, Tomita K. Quantitative analysis of the spinal cord motoneuron under chronic compression: an experimental observation. *J Neurol* 1996; 243: 109-6.
3. Katoh K, Ikata T, Katoh S, Hamada Y, Nakauchi K, Sano T, Niwa M. Induction and its spread of apoptosis in rat spinal cord after mechanical trauma. *Neurosci Lett* 1996; 216: 9-10.
4. Liu XZ, Xu XM, Hu R, Du C, Zhang SX, McDonald JW, Dong HX, Wu YJ, Fan GS, Jacquin MF, Hsu CY, Choi DW. Neuronal and glial apoptosis after traumatic spinal cord injury. *J Neurosci* 1997; 17: 5395-406.
5. Crowe MJ, Bresnahan JC, Shuman SL, Masters JN, Beattie MS. Apoptosis and delayed degeneration after spinal cord injury in rats and monkey. *Nat Med* 1997; 3: 73-6.
6. Nakahara S, Yone K, Sakou T, Wada S, Nagamine T, Niiyama T, Ichijo H. Induction of apoptosis signal regulating kinase 1 (ASK1) after spinal cord injury in rats: Possible involvement of ASK1-JNK and -p38 pathways in neuronal apoptosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 1999; 58: 442-50.
7. Wada S, Yone K, Ishidou Y, Nagamine T, Nakahara S, Niiyama T, Sakou T. Apoptosis following spinal cord injury in rats and preventative effect of N-methyl-D-aspartate receptor antagonist. *J Neurosurg* 1999; 91: 98-104.
8. Yamaura I, Yone K, Nakahara S, Nagamine T, Baba H, Uchida K, Komiya S. Mechanism of destructive pathologic changes in the spinal cord under chronic mechanical compression. *Spine* 2002; 27: 21-6.
9. Koda M, Nishio Y, Kamada T, Someya Y,

- Okawa A, Mori C, Yoshinaga K, Okada S, Moriya H, Yamazaki M. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) mobilizes bone marrow-derived cells into injured spinal cord and promotes functional recovery after compression-induced spinal cord injury in mice. *Brain Res* 2007; 1149: 223-31.
10. Fehlings MG, Skaf G. A review of the pathophysiology of cervical spondylotic myelopathy with insights for potential novel mechanisms drawn from traumatic spinal cord injury. *Spine* 1998; 23: 2730-7.
11. Schmidt MH, Quinones-Hinojosa A, Rosenberg WS. Cervical myelopathy associated with degenerative spine disease and ossification of the posterior longitudinal ligament. *Semin Neuronal* 2002; 22: 143-8.
12. Sampath P, Bendebba M, Davis JD, Ducker TB. Outcome of patients treated for cervical myelopathy: a prospective, multicenter study with independent clinical review. *Spine* 2000; 25: 670-6.
13. Wang YL, Tsau JC, Huang MH. The prognosis of patients with cervical spondylotic myelopathy. *Kaohsiung J Med Sci* 1997; 13: 425-31.
14. Nicola NA, Metcalf D, Matsumoto M, et al. Purification of a factor inducing differentiation in murine myelomonocytic leukemia cells. Identification as granulocyte colony-stimulating factor. *J Biol Chem* 1983; 258: 9017-23.
15. Roberts AW. G-CSF: a key regulator of neutrophil production, but that's no all! *Growth Factors* 2005; 23, 33-41.
16. Kawada H, Takizawa S, Takanashi T. Administration of hematopoietic cytokines in the subacute phase after cerebral infarction is effective for functional recovery facilitating proliferation of intrinsic neural stem/progenitor cells and transition of bone marrow-derived neuronal cells. *Circulation* 2006; 113: 701-10.
17. Schäbitz WR, Kollmar R, Schwaninger M, Juettler E, Bardutzky J, Schölzke MN, Sommer C, Schwab S. Neuroprotective effect of granulocyte colony-stimulating factor after focal cerebral ischemia. *Stroke* 2003; 34: 745-51.
18. Shyu WC, Lin SZ, Lee CC, Liu DD, Li H. Granulocyte colony-stimulating factor for acute ischemic stroke: a randomized controlled trial. *CMAJ* 2006; 174: 927-33.
19. 門田領, 国府田正雄, 西尾豊, 大河昭彦, 山崎正志. 脊髄損傷における顆粒球コロニー刺激因子の神経保護作用. *日脊障医誌* 2007; 20: 180-1.
20. 川辺純子, 国府田正雄, 門田領, 大河昭彦, 山崎正志. ラット脊髄圧挫モデルにおける顆粒球コロニー刺激因子の血管系に対する作用. *日脊障医誌* 2008; 21: 112-3.
21. 国府田正雄, 西尾豊, 門田領, 川辺純子, 山崎正志. 脊髄損傷に対する顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)の治療効果およびその作用メカニズムの解析. *整形外科* 2007; 58: 1464.
22. Nishio Y, Koda M, Kamada T, Someya Y, Kadota R, Mannoji C, Miyashita T, Okada

- S, Okawa A, Moriya H, Yamazaki M.
Granulocyte colony-stimulating factor attenuates neuronal death and promotes functional recovery after spinal cord injury in mice. *J Neuropathol Exp Neurol* 2007; 66: 724-31.
23. 佐久間毅, 山崎正志, 国府田正雄, 橋本将行, 高橋 宏, 林 浩一, 川辺純子, 藤由崇之, 古矢丈雄, 山内友規, 門田 領, 宮下智大, 萬納寺誓人, 染谷幸男, 西尾豊, 鎌田尊人, 腰塚周平, 池田 修, 喜多恒次, 安宅洋美, 吉永勝訓, 村田 淳, 橋本光宏, 大河昭彦, 高橋和久: 圧迫性脊髄症の急性増悪期に顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)投与による神経保護療法を施行した5症例. *千葉医学*2010; 86: 11-8.
24. Maynard FM Jr, Bracken MB, Creasey G, Ditunno JF Jr, Donovan WH, Ducker TB, Garber SL, Marino RJ, Stover SL, Tator CH, Waters RL, Wilberger JE, Young W. International Standards for Neurological and Functional Classification of Spinal Cord Injury. *American Spinal Injury Association. Spinal Cord.* 1997; 35 :266-74.
25. Masaki Y, Yamazaki M, Okawa A, Aramomi M, Hashimoto M, Koda M, Mochizuki M, Moriya H An analysis of factors causing poor surgical outcome in patients with cervical myelopathy due to ossification of the posterior longitudinal ligament: anterior decompression with spinal fusion versus laminoplasty. *J Spinal Disord Tech* 2007; 20: 7-13.
26. Valgimigli M, Rigolin GM, Cittanti C, Malagutti P, Curello S, Percoco G, Bugli AM, Della Porta M, Bragotti LZ, Ansani L, Mauro E, Lanfranchi A, Giganti M, Feggi L, Castoldi G: Ferrari R. Use of granulocyte-colony stimulating factor during acute myocardial infarction to enhance bone marrow stem cell mobilization in humans: clinical and angiographic safety profile. *Eur Heart J* 2005; 26: 1838-45.
27. Engelmann MG, Theiss HD, Hennig-Theiss C, Huber A, Wintersperger BJ, Werle-Ruedinger AE, Schoenberg SO, Steinbeck G, Franz WN. Autologous bone marrow stem cell mobilization induced by granulocyte colony-stimulating factor after subacute ST-segment elevation myocardial infarction undergoing late revascularization: final results from the G-CSF-STMI (Granulocyte Colony-Stimulating Factor ST-Segment Elevation Myocardial Infarction) trial. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 1712-21.
28. Ince H, Petzsch M, Kleine HD, Eckard H, Rehders T, Burska D, Kische S, Freund M, Nienaber CA. Prevention of left ventricular remodeling with granulocyte colony-stimulating factor after acute myocardial infarction: final 1-year results of the Front-integrated Revascularization and Stem Cell Liberation in Evolving Acute Myocardial Infarction by Granulocyte Colony-Stimulating Factor (FIRSTLINE-AMI) Trial. *Circulation* 2005; 112: 173-80.
29. Ripa RS, Jorgensen E, Wang Y, Thune JJ,

- Nilsson JC, Sondergaard L, Johnsen HE, Kober L, Grande P, Kastrup J. Stem cell mobilization induced by subcutaneous granulocyte colony-stimulating factor to improve cardiac regeneration after acute ST-elevation myocardial infarction: result of the double-blind, randomized, placebo-controlled stem cells in myocardial infarction (STEMMI) trial. *Circulation* 2006; 113: 1983-92.
30. Takano H, Hasegawa H, Kuwabara Y, Nakayama T, Matsuno K, Miyazaki Y, Yamamoto M, Fujimoto Y, Okada H, Okubo S, Fujita M, Shindo S, Kobayashi Y, Komiyama N, Takekoshi N, Imai K, Himi T, Ishibashi I, Komuro I. Feasibility and safety of granulocyte colony-stimulating factor treatment in patients with acute myocardial infarction. *Int J Cardiol* 2007; 122: 41-7.
31. Zohnhofer D, Ott I, Mehilli J, Schomig K, Michalk F, Ibrahim T, Meisetschlager G, von Wedel J, Bollwein H, Seyfaith M, Dirschinger J, Schmitt C, Schwaiger M, Kastrati A, Schomig A; REVIVAL-2 Investigators. Stem cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor in patients with acute myocardial infarction: a randomized controlled trial. *JAMA* 2006; 295: 1003-10.
32. Zhang Y, Wang L, Fu Y, Song H, Zhao H, Deng M, Zhang J, Fan D. Preliminary investigation of effect of granulocyte colony stimulating factor on amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotrophic Lateral Sclerosis* 2009; 10: 430-1.
33. Martinez HR, Gonzalez-Garza MT, Moreno-Cuevas JE, Caro E, Gutierrez-Jimenez E, Segura JJ. Stem-cell transplantation into the frontal motor cortex in amyotrophic lateral sclerosis patients. *Cytotherapy* 2009; 11: 26-34.
34. 東純一, 栗本哲哉, 淡田修久, 澤村昭彦, 吉田弘之, 瀬戸米蔵, 望月則子, 金子龍彦, 下坂皓洋, 伊藤久男, 赤堀弘典, 参川和伸, 笹原邦宏, 高久史麿. 健常人におけるKRN8601(rhG-CSF)の第一相臨床試験: 単回皮下投与時の安全性および薬物動態の検討. *臨床医薬* 1989; 5: 2223-52.

E. 結論

G-CSF 10 μ g/kg/日を連続5日間点滴静注する臨床試験を行った。全例で運動・感覚麻痺の改善が得られた。また、G-CSF投与期間中および投与後に有害事象の発生はなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. 佐久間毅, 山崎正志, 国府田正雄, 橋本将行, 高橋宏, 林浩一, 川辺純子, 藤由崇之, 古矢丈雄, 山内友規, 門田領, 宮下智大, 萬納寺誓人, 染谷幸男, 西尾豊, 鎌田尊人, 腰塚周平, 池田修, 喜多恒次, 安宅洋美, 吉永勝訓, 村田淳, 橋本光宏, 大河昭彦, 高橋和久: 圧迫性脊髄症の急性増悪期に顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)投与による神経保護療法を施行した5症例. *千葉医学* 86: 11-18, 2010.

学会発表

1. Kawabe J, Koda M, Hashimoto M, Fujiyoshi T, Furuya T, Endo T, Hayashi K, Okawa A, Yamazaki M. Neuroprotective effects of Granulocyte colony stimulating factor on acute spinal cord injury: experimental study and clinical experience. 25th Annual Meeting, Cervical Spine Research Society-European Section, Abstract p111
2. Yamazaki M, Koda M, Kawabe J, Hayashi K, Sakuma T, Takahashi H, Okawa A. Neuroprotective effects of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) on the injured spinal cord: experimental studies and its early clinical trial. 37th Annual Meeting, Cervical Spine Research Society, Abstract p229.
3. 川辺純子, 国府田正雄, 門田領, 西尾豊, 橋本将行, 藤由崇之, 古矢丈雄, 遠藤友規, 大河昭彦, 高橋和久, 山崎正志. パネルディスカッション「脊髄修復の促進技術」脊髄損傷に対する顆粒球コロニー刺激因子の治療効果. 第24回日本整形外科学会基礎学術集会, 日整会誌 83(8):S1015, 2009.
4. 高橋宏, 佐久間毅, 林浩一, 大河昭彦, 国府田正雄, 山崎正志. 急性期脊髄損傷に対して顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)投与を施行した臨床試験例の検討. 第44回日本脊髄障害医学会, 抄録集 p84.
5. 佐久間毅, 高橋宏, 林浩一, 大河昭彦, 国府田正雄, 山崎正志. 圧迫性脊髄症急性増悪例に対する顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)投与による神経保護療法. 第44回日本脊髄障害医学会, 抄録集 p84.
6. 高橋宏, 山崎正志, 大河昭彦, 国府田正雄, 橋本将行, 林浩一, 佐久間毅, 高橋和久. 急性脊髄損傷に対する顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)を用いた神経保護療法:Phase I・IIa 臨床試験. 第9回日本再生医療学会総会, 再生医療 9 suppl: 220, 2010.

H. 知的財産権の出願・登録状況

本研究について、本年度は特許取得や実用新案登録はない。

急性脊髄損傷に対する顆粒球コロニー刺激因子を用いた神経保護療法

実施計画書

臨床試験代表者

千葉大学医学部附属病院整形外科 教授 高橋 和久

臨床試験責任医師

千葉大学医学部附属病院整形外科 准教授 山崎 正志

臨床試験分担医師

千葉大学医学部附属病院整形外科 講師 大河 昭彦

千葉大学医学部附属病院リハビリテーション部 准教授 村田 淳

平成 22 年 2 月 7 日

目 次

1) 試験の背景	4
2) 試験の目的と必要性	4
3) 試験薬の概要	4
4) 対象患者	4
4.1 選択基準	4
4.2 除外基準	4
5) 被験者に説明し同意を得る方法	5
6) 試験の方法	5
6.1 試験の種類・デザイン	5
6.2 試験のアウトライン	5
6.3 被験者の試験参加予定期間	5
6.4 試験薬の用法・用量、投与期間	5
6.5 試験薬の剤形・含有量、性状、包装、表示、貯法	6
6.6 併用薬（療法）に関する規定	6
6.7 休薬の方法	6
6.8 試験薬の管理・交付手順	6
6.9 服薬指導情報	6
6.10 症例登録、割付方法	6
7) 試験の評価項目	7
7.1 主要評価項目	7
7.2 副次的評価項目	7
8) 観察および検査項目	7
8.1 患者背景	7
8.2 試験薬投与	7
8.3 試験薬および併用薬の服薬状況の確認	7
8.4 自他覚症状の確認	7
8.5 有害事象と副作用の確認	7
8.6 血圧・脈拍数	7
8.7 血液検査	7
8.8 血液生化学検査	7
8.9 尿検査	7
8.10 その他の特殊検査	7
9) 中止基準	7
10) 有害事象発生時の取り扱い	8
10.1 有害事象発生時の被験者への対応	8
10.2 重篤な有害事象の報告	8
10.3 重要な有害事象の報告	9

10.4	その他の有害事象	9
11)	実施計画書からの逸脱の報告	9
12)	試験の終了、中止、中断	9
12.1	試験の終了	9
12.2	試験の中止、中断	9
13)	試験実施期間	9
14)	データの集計および統計解析方法	10
14.1	主要評価項目	10
14.2	副次的評価項目	10
15)	目標症例数	10
16)	被験者の人権および安全性・不利益に対する配慮ならびに個人情報保護	10
16.1	人権への配慮（プライバシーの保護）	10
16.2	安全性・不利益への配慮	10
16.3	個人情報保護	10
17)	患者の費用負担	10
18)	健康被害の補償および保険への加入	10
18.1	健康被害の補償	10
18.2	賠償保険への加入	11
19)	GCPおよびヘルシンキ宣言への対応	11
20)	記録の保存	11
21)	研究結果の公表	11
22)	研究組織	11
23)	研究資金および利益の衝突	11
24)	実施計画書等の変更	11
25)	参考資料、文献リスト	11

1) 試験の背景

外傷により脊髄が損傷されると、四肢の運動・感覚麻痺および膀胱・直腸機能障害など種々の症状を呈する。現在の医学では損傷した脊髄そのものを治すことは不可能であり、治療法は脱臼・骨折した脊椎を除圧・固定して安定化させる手術と、残存した機能を最大限に活用するためのリハビリテーションのみである。したがって、脊髄損傷後の機能予後は受傷後早期の組織損傷の程度によりほぼ決定されてしまっているといえる。

一方、過去の実験的研究から脊髄損傷急性期の病態には一次損傷と二次損傷があることが知られている。一次損傷とは外力による機械的な損傷であり、その程度は受傷の機転・外力の大きさにより規定されている。これに対して二次損傷とは一次損傷により惹起される生体の反応によって組織障害が拡大するプロセスをさし、各種治療の主たるターゲットとなりうる病態である。すなわち治療により二次損傷を抑制して組織障害を最小限に食い止めることで、機能予後を得られうる最大限に改善することが可能と思われる。

現在臨床に用いることのできる脊髄損傷治療薬はメチルプレドニゾン（大量投与法）のみであり、作用機序は膜安定化などにより二次損傷を抑制することによると考えられている。しかし近年になりその治療効果を疑問とする報告が相次ぎ、また症例によっては重篤な副作用をきたすこともあるため、メチルプレドニゾン大量投与法が必ずしも標準的治療法とはいえない状況になってきており新たな脊髄損傷治療薬の開発が切望されている。

顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF；フィルグラスチム)は血球系に作用する増殖因子であり、顆粒球系細胞の分化・増殖・生存促進などの作用を有する。白血球減少症に対して、また末梢血幹細胞移植ドナーに対して造血幹細胞の末梢血への動員のためなどの適応を有している。中枢神経系においては、骨髄細胞を脳・脊髄中へ動員することや(Kawada, 2006)、脳卒中モデルに対する神経保護作用(Schneider, 2005)などが報告されており、海外では脳梗塞に対する臨床研究が報告されている(Shyu, 2006)。これらより脊髄損傷に対してもG-CSFが治療効果を発揮しうる可能性が想定されたため、われわれはG-CSFの脊髄損傷に対する有効性およびその作用メカニズムにつき報告してきた。現在までに得られたデータから(1)G-CSFにより動員された骨髄由来細胞が脊髄損傷部に生着する(Koda, 2007)、(2)直接的に神経細胞死を抑制する(Nishio, 2007)、(3)Oligodendrocyteの細胞死を抑制し、髄鞘を保護する、(4)炎症性サイトカイン(TNF- α 、IL-1 β)発現を抑制する、(5)血管新生を促進する、などがG-CSFの脊髄損傷に対する作用機序として想定される(國府田, 2007)。

これらの基礎データに基づき、脊髄損傷急性期に対するG-CSFを用いた神経保護療法の確立に向け、その安全性を証明するため本臨床研究を計画するに至った。

2) 試験の目的と必要性

脊髄損傷に対するG-CSF(フィルグラスチム)による神経保護療法の安全性につき検討することが本試験の主目的である。現在のところ脊髄損傷に対する有効な治療薬はなく、神経保護作用を持つ薬剤の開発が急務であることから、本試験の意義は大きいといえる。

3) 試験薬の概要

添付文書を参照