

②保存期間及び保存場所、保存責任者

保存期間：試験終了の後、5年が経過した日まで

保存場所：〔カルテ〕 千葉大学医学部附属病院

〔症例調査票〕 千葉大学大学院 医学研究院 整形外科学教室

保存責任者：山崎正志（千葉大学大学院 医学研究院 整形外科学）

21) 研究結果の公表

発表者：山崎正志

発表時期：試験終了後1年以内

発表方法：所属学会および海外雑誌への投稿

22) 研究組織

試験代表者

高橋和久 千葉大学医学部附属病院 整形外科 教授

試験責任医師、臨床試験事務局

○山崎正志 千葉大学医学部附属病院 整形外科 准教授
043-222-7171（内線：5303）

試験分担医師

大河昭彦 千葉大学医学部附属病院 整形外科 講師

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

試験協力医師

橋本光宏 千葉大学大学院医学研究院 整形外科 研究生

林 浩一 千葉大学大学院医学研究院 整形外科 大学院生

佐久間毅 千葉大学大学院医学研究院 整形外科 大学院生

高橋 宏 千葉大学大学院医学研究院 整形外科 大学院生

加藤 啓 千葉大学大学院医学研究院 整形外科 大学院生

効果安全評価委員

西尾 豊 金沢病院 整形外科 医師

23) 研究資金および利益の衝突

本試験は、厚生労働科学研究費補助金と一部患者負担（保険診療内）にて行われる。

24) 実施計画書等の変更

実施計画書や同意説明文書の変更（改訂）を行う場合は、予め治験等審査委員会に「臨床研究等変更許可願い」を提出し、承認を得る。

25) 参考資料、文献リスト

英文

Kawada H, Takizawa S, Takanashi T, et al., 2006. 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*, 113, 701-710.

Koda M, Nishio Y, Kamada T, et al., 2007. 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*, 1149:223-231.

Nishio Y, Koda M, Kamada T, et al., 2007. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) attenuates neuronal death and promotes functional recovery after spinal cord injury in mice. *J Neuropathol Exp Neurol* 66:724-731.

Schneider A, Krüger C, Steigleder T, et al., 2005. The hematopoietic factor G-CSF is a neuronal ligand that counteracts programmed cell death and drives neurogenesis. *J Clin Invest* 115, 2083-2098.

Shyu WC, Lin SZ, Lee CC, et al., 2006. Granulocyte colony-stimulating factor for acute ischemic stroke: a randomized controlled trial. *CMAJ*; 174: 927-33.

和文

國府田正雄、西尾 豊、門田 領、川辺純子、山崎正志, 2007. 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*;58:1464.

研究成果の刊行に関する一覧表

【H21. 4. 1～H22. 3. 31】

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
山崎正志	胸椎手術における三次元実体模型の有用性：術前手術シミュレーションおよび術中ナビゲーション	馬場久敏	OS NOW Instruction No. 14内視鏡・ナビゲーションを併用した脊椎手術：最新の手術手技の見逃せないポイント	メジカルビュー社	東京	2010	pp102-117
宮下智大, 山崎正志, 高橋和久	頰部脊椎症に伴う頰部痛	菊地臣一	運動器の痛みプライマリケア：頰部・肩の痛み	南江堂	東京	2010	pp175-181

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yamazaki M, Okawa A, Mannoji C, Kadota R, Miyashita T, Koda M	C1 dome-like laminotomy and posterior C1-C2 polyaxial screw-rod fixation for a patient with cervical myelopathy due to retro-odontoid pseudotumor: technical note	J Clin Neurosci	16	99-103	2009
Ataka H, Tanno T, Yamazaki M	osterior instrumented fusion without neural decompression for incomplete neurological deficits following vertebral collapse in the osteoporotic thoracolumbar spine	Euro Spine J	18	69-76	2009
Nishio Y, Koda M, Hashimoto M, Kamada T, Koshizuka S, Yoshinaga K, Onodera S, Nishihira J, Okawa A, Yamazaki M	Deletion of macrophage migration inhibitory factor attenuates neuronal death and promotes functional recovery after compression-induced spinal cord injury in mice	Acta Neuropathol	117	321-328	2009
Mochizuki M, Aiba A, Hashimoto M, Fujiyoshi T, Yamazaki M	Cervical myelopathy in patients with ossification of the posterior longitudinal ligament	J Neurosurg Spine	10	122-128	2009
Miyashita T, Koda M, Kitajo K, Yamazaki M, Takahashi K, Kikuchi A, Yamashita T	Wnt-Ryk signaling mediates axon growth inhibition and limits functional recovery after spinal cord injury	J Neurotrauma	26	955-964	2009

Yamazaki M, Okawa A, Kadota R, Mannoji C, Miyashita T, Koda M	Surgical simulation of circumferential osteotomy and correction of cervico-thoracic kyphoscoliosis for an irreducible old C6-C7 fracture dislocation	Acta Neurochir (Wien)	151	867-872	2009
Takaso M, Nakazawa T, Imura T, Takahira N, Itoman M, Takahashi K, Yamazaki M, Otori S, Akazawa T, Minami S, Kotani T	Surgical management of severe scoliosis with high-risk pulmonary dysfunction in Duchenne muscular dystrophy	Int Orthop	34	401-406	2010
Nakazawa T, Takaso M, Imura T, Adachi K, Fukushima K, Saito W, Miyajima G, Minatani A, Shinntani R, Itoman M, Takahashi K, Yamazaki M, Ohtori S, Sasaki A	Autogenous iliac crest bone graft versus banked allograft bone in scoliosis surgery in patients with Duchenne muscular dystrophy	Int Orthop		2009 Jun 16. [Epub ahead of print]	2009
Kadota R, Yamazaki M, Endo T, Okawa A, Koda M	Image fusion for preoperative evaluation of vertebral artery in a patient with atlantoaxial vertical subluxation and chronic renal failure	Eur Spine J		2009 Jul 8. [Epub ahead of print]	2009
Fujiyoshi T, Yamazaki M, Okawa A, Kawabe J, Hayashi K, Endo T, Furuya T, Koda M, Takahashi K	Analysis of static versus dynamic factors for the development of myelopathy in patients with cervical ossification of the posterior longitudinal ligament	J Clin Neurosci	17	320-324	2010
Furuya T, Hashimoto M, Koda M, Okawa A, Murata A, Takahashi K, Yamashita T, Yamazaki M	Treatment of rat spinal cord injury with a rho-kinase inhibitor and bone marrow stromal cell transplantation	Brain Res	1295	192-202	2009
Aiba A, Nakajima A, Okawa A, Koda M, Yamazaki M	Evidence of enhanced expression of osteopontin in spinal hyperostosis of the twy mouse	Spine	34	1644-1649	2009
Hagihara Y, Nakajima A, Fukuda S, Goto S, Iida H, Yamazaki M	Effects of running exercise duration on the bone mineral density (BMD) of long bones in young growing rats	Tohoku J Exp Med	219	139-143	2009
Yamazaki M, Okawa A, Fujiyoshi T, Kawabe J, Furuya T, Kon T, Koda M	Intraoperative spinal subarachnoid hematoma in a patient with cervical ossification of the posterior longitudinal ligament	Spine	35	E359-E362	2010

Yamazaki M, Okawa A, Fujiyoshi T, Kawabe J, Yamauchi T, Furuya T, Takaso M, Koda M	Simulated surgery for a patient with NF-1 who had severe cervicothoracic kyphoscoliosis and an anomalous vertebral artery	Spine	35	E368- E373	2010
Yamazaki M, Okawa A, Fujiyoshi T, Furuya T, Koda M	Posterior decompression with instrumented fusion for thoracic myelopathy caused by ossification of the posterior longitudinal ligament	Eur Spine J	19	691-698	2010
Yamazaki M, Okawa A, Furuya T, Koda M	Cervical kyphosis with myelopathy and anomalous vertebral artery entry at C7 treated with pedicle screw and rod fixation	Acta Neurochir (Wien)		2010 Mar 6. [Epub ahead of print]	2010
Takaso M, Nakazawa T, Imura T, Okada T, Fukushima K, Ueno M, Saito W, Shintani, R, Sakagami H, Takahashi K, Yamazaki M, Ohtori S, Kotani T	Less invasive and less technically demanding decompressive procedure for lumbar spinal stenosis- appropriate for general orthopaedic surgeons?	Int Orthop		2010 Mar 14. [Epub ahead of print]	2010
Takaso M, Nakazawa T, Imura T, Ueno M, Saito W, Shintani R, Takahashi K, Yamazaki M, Ohtori S, Okamoto M, Masaki T, Okamoto H, Okutomi T, Ishii K, Ueda Y	Can the caudal extent of fusion in the surgical treatment of scoliosis in Duchenne muscular dystrophy be stopped at lumbar 5?	Eur Spine J	19	787-796	2010
Takaso M, Nakazawa T, Imura T, Okada T, Fukushima K, Ueno M, Takahira N, Takahashi K, Yamazaki M, Ohtori S, Okamoto H, Okutomi T, Okamoto M, Masaki T, Uchinuma E, Sakagami H	Surgical management of severe scoliosis with high risk pulmonary dysfunction in Duchenne muscular dystrophy: patient function, quality of life and satisfaction	Int Orthop		2010 Feb 16. [Epub ahead of print]	2010

Takaso M, Nakazawa T, Imura T, Okada T, Toyama M, Ueno M, Fukushima K, Saito W, Minatani A, Miyajima G, Fukuda M, Takahira N, Takahashi K, Yamazaki M, Ohtori S, Okamoto H, Okutomi T, Okamoto M, Masaki T	Two-year results for scoliosis secondary to Duchenne muscular dystrophy fused to lumbar 5 with segmental pedicle screw instrumentation	J Orthop Sci	15	171-177	2010
Ataka H, Tanno T, Miyashita T, Isono S, Yamazaki M	Occipitocervical fusion has potential to improve sleep apnea in patients with rheumatoid arthritis and upper cervical lesions	Spine			(in press)
Yamazaki M, Okawa A, Mannoji C, Fujiyoshi T, Furuya T, Koda M	Postoperative paralysis after posterior decompression with instrumented fusion for thoracic myelopathy due to ossification of the posterior longitudinal ligament	J Clin Neurosci			(in press)
林浩一, 橋本将行, 国府田正雄, 大河昭彦, 山崎正志	ラット脊髄損傷に対するシロスタゾール投与の有用性の検討	日脊障医誌	22	128-129	2009
川辺純子, 国府田正雄, 橋本将行, 大河昭彦, 山崎正志	ラット脊髄圧挫損傷慢性期における細胞外マトリックス分解促進によるグリア療痕抑制効果	日脊障医誌	22	130-131	2009
古矢丈雄, 橋本将行, 国府田正雄, 松瀬大, 大河昭彦, 山崎正志	ラット脊髄圧挫損傷モデルにおけるbFGF徐放ゼラチンハイドロゲル移植の検討	日脊障医誌	22	132-133	2009
古矢丈雄, 山崎正志, 大河昭彦, 国府田正雄, 高橋和久	環軸椎回旋位固定の病態と治療	千葉医学	85	61-69	2009
山崎正志	脊柱後弯症の病態と治療-胸椎後縦靭帯骨化症と後弯: 胸椎後縦靭帯骨化症に対する後方除圧固定術, 後弯矯正および脊髄症状改善の機序を中心に	脊椎脊髄	22	679-686	2009
赤澤努, 南昌平, 小谷俊明, 山崎正志	脊柱後弯症の手術支援ツール: 三次元実体モデル	脊椎脊髄	22	492-497	2009
根尾昌志, 佐野茂夫, 池永稔, 山崎正志	脊椎シンプランテーションのピットフォール	THE SPINE perspective	16	1-6	200
山崎正志	特集: 後縦靭帯骨化症(OPLL)の病態と治療「胸椎OPLLに対する手術法の成績と問題点」	CLINICAL CALCIUM	19	95-100	2009
山崎正志	特集: 脊椎外傷の治療update「上位頸椎損傷の治療, 歯突起骨折を中心に」	整災外	52	1587-1596	2009

鈴木都, 大河昭彦, 村上正純, 染谷幸男, 門田 領, 宮下智大, 萬納寺誓人, 高橋和久, 山崎正志	対麻痺が癌の初発症状となった転移性胸髄内腫瘍の1例	千葉医学	85	135-138	2009
山崎正志	整形外科医が求めるCT画像とその役割について, 脊椎を中心に	放射線分科会誌	53	25-28	2009
古矢丈雄, 山崎正志, 大河昭彦, 高橋和久	アテトーゼ型脳性麻痺に伴う頸髄症に対する治療成績	日本脊椎インストゥルメンテーション学会誌	8	7-11	2009
藤由崇之, 山崎正志, 大河昭彦, 川辺純子, 古矢丈雄, 高橋和久	頸椎後縦靱帯骨化症に対する頸椎後方除圧固定術の有用性, 無症候例から見た解析	日本脊椎インストゥルメンテーション学会誌	8	12-15	2009
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
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	日脊障医誌			(印刷中)
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法	日脊障医誌			(印刷中)
林浩一, 山崎正志, 大河昭彦, 国府田正雄, 橋本将行, 高橋和久	中心性頸髄損傷の病態と治療	千葉医学			(印刷中)
新初正明, 山崎正志	頸椎前方椎弓根スクリューを用いた多椎間頸椎前方固定術	日脊会誌	20	834-840	2009
国府田正雄, 橋本将行, 林浩一, 大河昭彦, 高橋和久, 山崎正志	脊髄再生研究の最前線	J Spine Res	1	131-136	2010

第3種郵便物認可

科学

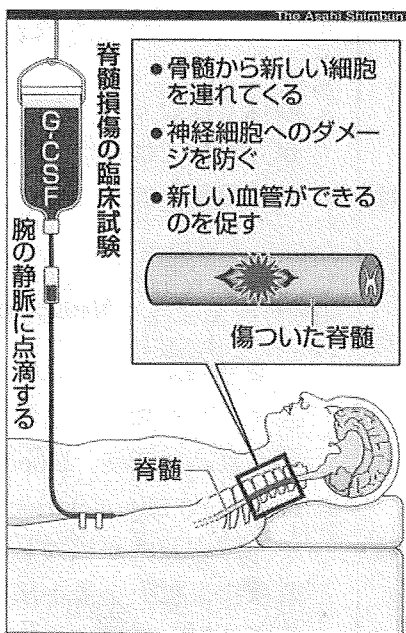
✉ kagaku@asahi.com

脊髄損傷に新治療法

千葉大で臨床試験へ

脊髄損傷にともなう手足のまひなどの神経症状について、千葉大の山崎正志講師

(整形外科)らが新たな治療法の臨床試験をまもなく始め



る。交通事故やスポーツで脊髄を傷めた直後、細胞を活性化させる既存の薬剤を使う。使う薬はG-CSF(顆粒球コロニー刺激因子)。がん化学療法で、白血球を増やすのに使われることが多い。神

経細胞の損傷を抑え、脊髄で新しく神経細胞ができるのを促すはたらしめられることがわかってきたため、脊髄損傷の治療にも使えろと考えた。臨床試験の対象は10人。けがをしてから8時間以内で、合併症のない16〜70歳の患者に参加してもらう。5日かけてG-CSFを点滴し、1年にわたって経過をみる。

千葉大・脊髄損傷研究グループの国府田正雄医師らの動物実験では効果が確かめられている。生理食塩水を与えたマウスは受傷して6週間後に両足をわずかし動かせなかったのに、G-CSFを与え

たマウスは両足を規則正しく動かせたという。

山崎講師は「神経症状の完治はできないが、ある程度の改善は期待できる。(がん治療などでは)G-CSFに重大な副作用はない」と話す。(竹石涼子)

脊髄再生研究の最前線

Recent Progress in Spinal Cord Regeneration Research

國府田正雄*¹ 橋本将行*² 林 浩一*³,
 大河昭彦*³ 高橋和久*³ 山崎正志*³
 Masao Koda*¹, Masayuki Hashimoto*², Koichi Hayashi*³,
 Akihiko Okawa*³, Kazuhisa Takahashi*³, Masashi Yamazaki*³

Key words : 脊髄損傷 (spinal cord injury), 再生医療 (regenerative medicine)

脊髄損傷の病態と治療法

脊髄損傷は、損傷後時間経過とともに損傷に対する生体反応により病態が複雑に変化するため、それぞれに応じた多様な治療が必要になってくる。

Schwab らは、脊髄損傷に対する治療法を5つのカテゴリーに分類した³¹⁾。

- 1) neuroprotection : 急性期の脊髄組織破壊を抑制し、機能温存・機能回復促進を図る
 - 2) neurorestoration : 薬剤や再髄鞘化により軸索伝導性の回復を図る
 - 3a) neuroregeneration/plasticity : antagonization of inhibitory factors : 軸索伸展阻害因子をブロックし再生を促す
 - 3b) neuroregeneration/plasticity : axonal growth factors (neurotrophic) : 神経栄養因子などの軸索伸展促進因子を用いる
 - 4) axon guidance towards site of deafferentation (specific regeneration) : 軸索ガイダンス因子を用いて、標的に軸索を誘導
 - 5) neuro-reconstruction (cell and tissue transplantation) 組織または細胞移植により失われた脊髄組織を再建
- 必ずしもすべてのカテゴリーが明確に分かれる

わけではなく、それぞれが密接につながっているが、本稿では便宜上この分類に沿って脊髄再生研究の現状を概説したい。

Neuroprotection

脊髄損傷は外力による一次損傷と、引き続き起こる生化学的・生物学的反応である二次損傷に分類される。炎症、blood spinal cord barrier の破綻、neuron や oligodendrocyte の細胞死などを經由して、障害範囲が拡大していく。二次損傷を軽減すれば損傷拡大を最小限にとどめられる。現在脊髄損傷に対してはメチルプレドニゾロン多量投与療法が唯一の保険適応で、主要な作用機序は二次損傷軽減とされているが、臨床的には効果が不確実・副作用の問題があり近年その使用が疑問視されつつある。メチルプレドニゾロンの代替となりうる薬剤が多数検討されている。

顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)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の造血幹細胞動員などの適応を有している。中枢神経系においては脳卒中モデルに対する神経保護作用が報告されていることから脊髄損傷に対しても G-

*¹ 千葉市立青葉病院整形外科 [〒260-0852 千葉市中央区青葉町1273-2] Department of Orthopedic Surgery, Chiba Aoba Municipal Hospital

*² 千葉市立海浜病院整形外科

*³ 千葉大学大学院医学研究院整形外科

CSFが有効である可能性が想定され、我々はG-CSFの脊髄損傷に対する効果につき解析してきた。現在までに得られたデータから想定される作用機序は、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²²⁾、②直接的に神経細胞死を抑制²⁷⁾、③oligodendrocyteの細胞死を抑制し、髄鞘を保護、④炎症性サイトカイン(TNF- α , IL-1 β)発現を抑制、⑤血管新生促進、などである。これらデータを基に2008年3月千葉大学医学部附属病院治験審査委員会にて承認を受け、安全性確認目的のphase I・IIa臨床試験を施行中である。本稿執筆中の2009年12月現在までにG-CSF投与による有害事象の発生はほとんどなく、投与した全例になんらかの神経学的改善を認めた。今後さらに容量を漸増し安全性を確かめたうえで、phase IIbへと進めるべく準備中である。

Neurorestoration

髄鞘の障害により軸索の持続的脱分極が起こり、伝導能が低下する。脱分極を抑制すれば残存する軸索の機能が改善される。脊髄損傷患者では神経学的に完全麻痺であっても軸索が部分的には残存していることが多いため、わずかな伝導能改善でも機能回復を促進できる可能性がある。4-アミノピリジンはfast・voltage-dependentカリウムチャンネル阻害により脱分極を防いで伝導能の低下を改善させる作用を持つ薬剤であり脊髄損傷モデル動物において歩行能力を改善させた¹⁶⁾。Acorda Therapeutics社にて脊髄損傷慢性期に対してphase IIIまで臨床試験が行われたが、有意な改善は得られなかった。

脊髄損傷後oligodendrocyteの細胞死による脱髄が起こり、軸索の伝導能低下の一因となっている⁹⁾。脱髄に陥った軸索の再髄鞘化は脊髄損傷では不十分であり³⁴⁾、治療介入の余地がある。内在性グリア前駆細胞の細胞死抑制や脱髄部への遊走促進、oligodendrocyteへの分化誘導などにより再髄鞘化を促進する。細胞移植による再髄鞘化としてはグリア前駆細胞、Schwann細胞³⁾、ES細胞由来oligodendrocyte前駆細胞²⁰⁾などの報告がある。なかでもES細胞由来oligodendrocyte前駆細

胞移植は米国カリフォルニア州のバイオベンチャーGeron社にて臨床試験開始目前となっており、全世界から注目を集めている。

Neuroregeneration/plasticity : antagonization of inhibitory factors

脊髄損傷後の軸索伸展阻害因子の主体は中枢神経系ミエリンに存在する阻害物質群(ミエリン関連阻害因子)と損傷後の瘢痕組織で発現上昇する阻害因子群に大別される。

ミエリン関連阻害因子にはNogo A, myelin associated glycoprotein(MAG)やoligodendrocyte myelin glycoprotein(OMgp)などがある。これら阻害因子の共通する受容体としてNogo-66受容体(NgR)が、シグナルを細胞内に伝える機構としてp75NTR(低親和性神経成長因子受容体)がある。現在Novartis pharma社が海外で抗NgR抗体治療の臨床試験phase I・IIaを施行中である。

一方、脊髄損傷部にはastrocyteが増殖肥大してグリア瘢痕を形成し軸索再生を阻害している。グリア瘢痕中の阻害因子としてコンドロイチン硫酸プロテオグリカン(chondroitin sulfate proteoglycan; CSPG)やケラタン硫酸プロテオグリカンなどがある。CSPGの糖鎖をchondroitinase-ABCにより分解することで軸索再生が促進され、脊髄損傷後の機能回復が得られた¹⁾。

Chondroitinase-ABCは以前より椎間板ヘルニアに対するchemonucleolysisに用いられてきたことから脊椎外科医にもなじみが深く²⁾、比較的安全な薬剤であり臨床応用に期待が持てる。ほかに、脊髄損傷の損傷部に形成される線維芽細胞による線維性瘢痕で発現上昇するsemaphorin 3Aには強力な軸索伸展阻害作用があり、semaphorin 3A阻害剤により脊髄切断モデルの軸索再生・機能回復がみられた¹⁹⁾。

このように脊髄内では多種のミエリン関連阻害因子、瘢痕由来阻害因子が協調して軸索再生を阻害しており、治療効果を得るためには阻害因子群が脊髄損傷後のどの時期にどの部位でいかなる調節を受け、どの線維を阻害しているのかなどの詳細な把握および、どのような阻害因子を組み合わせ

せでブロックするのかを検討していくことが今後の課題となろう。

もう一つのアプローチとして、複数の阻害因子に反応する軸索内の共通シグナル分子をブロックする方法がある。Rho-ROCK系は軸索内でアクチン細胞骨格の制御にかかわっており、活性化されると軸索退縮を促進する²⁴⁾。NgR-p75NTR複合体の下流、または CSPG などによる刺激でも Rho-ROCK系が活性化され、各種阻害因子に共通したエフェクターとして認識されるようになった。Rho 阻害剤 C3 transferase¹¹⁾や ROCK 阻害剤 Y-27632¹³⁾にて脊髄損傷ラットの軸索再生および麻痺回復が促進された。Neuron 内の cyclic AMP (cAMP)濃度を上昇させると protein kinase A が活性化され、結果的に Rho が不活化され軸索伸展阻害因子の効果をブロックできる。cAMP 分解酵素 phosphodiesterase (PDE)の阻害剤投与により細胞内 cAMP 濃度を上昇させ、軸索再生を促進できる。PDE 阻害剤 rolipram 投与により脊髄損傷ラットの軸索再生・麻痺回復が促進された²⁶⁾。Rolipram は抗うつ剤として臨床試験が行われており、脊髄損傷治療薬としても期待しうる。Rho 阻害剤 C3 transferase を細胞膜透過型に modify した合成蛋白製剤 Cethrin は米国のバイオベンチャー Alseres pharma 社により臨床試験が施行されている。除圧術の際にフィブリン糊と混和して硬膜外腔に留置する方法で米国やカナダなどにおいて phase I・IIa 臨床試験をほぼ終了し安全性が確認されたため、近日中の phase IIb 入りに向けた準備段階とのことである。一方の ROCK 阻害剤 Y-27632は投与量によっては astrocyte における CSPG の発現上昇を引き起こす⁵⁾。このように、多種の細胞において作用しうるシグナル分子の阻害は時として思わぬ副作用をもたらすことがあるので注意を要する。

Neuroregeneration/plasticity : axonal growth factors (neurotrophic)

1950年代 Levi-Montalcini らが神経成長因子 (nerve growth factor ; NGF)⁷⁾を発見し、その後、brain-derived neurotrophic factor (BDNF),

neurotrophin-3 (NT-3), さらに neurotrophin-4/5が相次いで発見され、NGF ファミリーと総称されるようになった。このうちでも BDNF・NT-3は脊髄損傷に対する治療効果の報告が数多くされている。アデノウイルスベクターを用いた脊髄切断部への BDNF 遺伝子導入²³⁾により赤核脊髄路軸索の再生が促進され麻痺の回復が得られた、NT-3を分泌するように遺伝子導入された線維芽細胞の移植で皮質脊髄路軸索の再生が得られた¹⁵⁾などである。ほかに glial cell line-derived neurotrophic factor, Insulin like growth factor-1, basic fibroblast growth factor, hepatocyte growth factor²¹⁾など数多くの神経栄養因子・成長因子が有効である。臨床応用に向けた最大の問題点は安全性と drug delivery である。全身投与では脊髄内に必要な濃度が得られない場合がある。さらに、これら神経栄養因子・成長因子は神経系以外の細胞にもさまざまな作用を有しており全身投与では予想外の副作用が起りうるため、十分な注意を要する。

Axon guidance towards site of deafferentation (specific regeneration)

発生段階で各種索路を誘引性または反発性にガイドするガイダンス因子群を用いて軸索再生を図る方法である。Netrin, semaphorin, slit, ephrin それぞれのファミリーがよく知られている。細胞外マトリックス中のガイダンス活性を持つ物質として神経接着因子 L1が知られている。神経接着因子 L1の脊髄への遺伝子導入にて、軸索再生と機能回復が促進された⁶⁾。

成体脊髄においてもこれらガイダンス因子の多くは発現が維持されているが、発生段階における発現とは異なることもままある。その調節や生理的意義、そして脊髄損傷時における作用など、不明な点が多い。究極的にはこれらガイダンス因子を適切に発現させ、neuron への投射を正しく再現させることができれば真の脊髄再生・機能再建が図れるであろうが、かなりハードルが高く、これからの研究課題である。

Neuro-reconstruction (cell and tissue transplantation)

脊髄損傷により失われた神経組織を組織または細胞移植により補充しようという方法である。古くは胎児由来脊髄組織を移植することで脊髄完全切断モデルにおいても著明な機能回復をみたという報告¹⁸⁾がなされたが、倫理的な側面・移植ドナー確保の問題から臨床応用はとうてい不可能であった。ここに大きな光を投げかけたのが幹細胞研究の進歩である。神経幹細胞は neuron, グリア細胞へ分化する能力(多分化能)を持ち、かつ未分化状態・多分化能を維持したまま分裂増殖できる(自己複製能)細胞である。神経幹細胞移植にて損傷脊髄内に適切な環境を導入し、脊髄再生を促進する可能性が示されてきた。脊髄損傷ラットにラット胎仔由来神経幹細胞を移植したところ機能回復が得られた²⁸⁾。ヒト胎児由来神経幹細胞移植のサル¹⁷⁾脊髄損傷モデルに対する有効性も報告されている。米国 Stemcells 社により先天性神経難病の一種 Batten 病に対する胎児由来神経幹細胞移植の臨床試験が開始されている。

ES 細胞は受精後間もない初期胚の特定領域の細胞を培養して得られる、人体すべての細胞に分化する能力を持つ細胞である。ES 細胞を神経幹細胞に分化させて脊髄損傷モデルマウスに移植したところ機能回復が促進された²⁵⁾。さらに、ヒト ES 細胞を oligodendrocyte 前駆細胞にまで分化させてから脊髄損傷モデルに移植すると、再髄鞘化が起こり機能も有意に回復した²⁰⁾。この知見を基に米国カリフォルニア州のバイオベンチャー Geron 社がヒト ES 細胞由来 oligodendrocyte 前駆細胞(GRNOPC1)移植の臨床試験を米国食品医薬品局(FDA)に申請し、受理された。このように ES 細胞はありとあらゆる細胞に分化する能力を持つため、脊髄損傷に対する治療においても試験管内で必要とされる細胞種を必要量作製することが理論上可能であり、その有用性は計り知れない。しかし Geron 社のヒト ES 細胞由来 oligodendrocyte 前駆細胞を用いた臨床試験は、前臨床試験の段階で合併症が出現したため一時停止中である。ES 細胞はあらゆる細胞に分化できるというその特性

から、腫瘍化や予期しない分化などの危険性があるため、臨床試験に進むにあたり安全性の確認を十分すぎるほどに行っていく必要がある。

このように、神経幹細胞・ES 細胞とも脊髄損傷に対する治療効果には疑いがないが、わが国においては中絶胎児組織由来細胞を利用することや胚の破壊に対し生命倫理問題の議論が不可避であり、臨床応用への見込みが立ち難い。この状況を打破しうるのが京都大学山中らの開発した人工多能性幹細胞(iPS 細胞)³⁵⁾である。体細胞に4つないし3つの初期化遺伝子を組み込むことにより、ES 細胞同様の多能性を有する iPS 細胞を作製できる。iPS 細胞は適切な培養条件下で神経幹細胞さらに neuron, グリア細胞へ分化可能である。しかし iPS 細胞はそもそもの成り立ちがすでに成熟した体細胞を人工的にリプログラミングして未分化状態にもっていった細胞であり、安全性に問題がある。幸い iPS 細胞研究は全世界で驚くべき進歩をみせているので、将来的には腫瘍化などの心配がない安全な iPS 細胞が作られるものと楽観視している。

ほかにも幹細胞の性質を持ち、かつ採取が容易・安全性などの条件を満たしうる細胞として、骨髄中の造血幹細胞・骨髄間質細胞がある。すでにインド、チェコなどでヒト脊髄損傷患者に骨髄間質細胞移植が行われている。わが国でも関西医科大学で脊髄損傷患者に経静脈的に骨髄間質細胞を移植する臨床試験が行われた(2009年12月現在、中断されている)。

Aguayo らは1980年代に末梢神経移植により損傷脊髄の軸索再生、機能回復が促進されることを報告した¹⁰⁾。比較的再生しやすい末梢神経の環境を損傷脊髄に導入することで再生を促すという発想である。末梢神経移植は実際に台湾、ブラジルなどで脊髄損傷患者に対して施行されている。中枢神経と末梢神経の再性能の差はグリア細胞の差に起因すると考えられたため、末梢神経系の Schwann 細胞を移植することで治療効果が期待された³⁾。しかし実際の臨床応用を考えると Schwann 細胞を採取するには末梢神経を犠牲にする必要があり、合併症のリスクなどが危惧される。そこで代替として、骨髄間質細胞を Schwann 細胞

に分化させた細胞を損傷脊髄へ移植したところ、有効であった³²⁾。骨髄間質細胞は骨髄穿刺で採取した骨髄液から多量に培養可能なので、ドナーとしてはもってこいである。

脊髄内に存在する内在性の細胞を増殖・活性化・分化させることで機能修復を図るアプローチもこの neuro-reconstruction のカテゴリーに入る。成体脊髄にも神経幹細胞が存在し、損傷などに対応して増殖することが明らかにされた³⁶⁾。損傷脊髄内で増殖した神経幹細胞は通常、周辺の微小環境によりそのほとんどが astrocyte にしか分化できない⁴⁾が、環境因子や神経幹細胞そのものの manipulation により分化を制御しうる。適切な転写因子の遺伝子導入により損傷脊髄内で神経幹細胞を neuron, oligodendrocyte へ分化させることができた²⁹⁾。今後さらに詳細なメカニズムを明らかにして、損傷脊髄内での分化を適切にコントロールできるようになれば、内在性細胞による neuro-reconstruction が可能になるであろう。

脊髄再生研究の今後の展望

近年、脊髄損傷の病態に関する新たな知見が次々に報告され、従来の脊髄損傷病態生理のドグマが変容しつつある。例えば、損傷後脊髄に侵入してくる好中球は炎症を惹起し組織損傷を増悪させると考えられてきたが、最近、脊髄損傷後に好中球を除去したマウスでは麻痺の増悪を認めた³³⁾ことから、脊髄損傷後の組織修復に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。また従来は瘢痕を形成して再生を阻害する悪役とされていた反応性アストロサイトも、最近では組織損傷拡大を抑制する作用を持つことが示され^{12,30)}、損傷脊髄修復における重要性が示唆された。軸索再生と機能回復の関係も認識が変化しつつある。近年、損傷脊髄内の固有脊髄路 neuron がリレーして代償性に回路の再構築が起こることが明らかにされ⁸⁾、必ずしも長距離の軸索再生でなくても機能回復に寄与しうるようになってきた。このように脊髄損傷の病態生理の認識の変化とともに治療のストラテジーも変容していく可能性がある。

また、脊髄損傷の評価法開発も必要である。

MRI では、diffusion tensor tractography により脊髄内の軸索を詳細に描出・評価することが可能になった¹⁴⁾。損傷脊髄内の軸索残存程度を可視化することで予後予測や治療効果判定などに応用しうる。末梢血液など容易に採取できるサンプル中のバイオマーカーを開発することも有用であろう。これにより早期に予後のある程度予測できるようになれば、急性期の治療介入の適応決定や効果判定などに役立つ。

考えてみればごく当然のことであるが、脊髄再生研究は脊髄損傷病態生理のより詳細かつ正確な把握なくしては進歩しえない。いつか脊髄損傷を治せる日が来ることを信じて、今後さらに研究を進めていきたい。

文献

- 1) Bradbury EJ, Moon LD, Popat RJ et al : Chondroitinase ABC promotes functional recovery after spinal cord injury. *Nature* 416 : 636-640, 2002
- 2) Brown MD : Update on chemonucleolysis. *Spine* 21 : 62S-68S, 1996
- 3) Bunge MB : Bridging areas of injury in the spinal cord. *Neuroscientist* 7 : 325-339, 2001
- 4) Cao QL, Howard RM, Dennison JB et al : Differentiation of engrafted neuronal-restricted precursor cells is inhibited in the traumatically injured spinal cord. *Exp Neurol* 177 : 349-359, 2002
- 5) Chan CC, Wong AK, Liu J et al : ROCK inhibition with Y27632 activates astrocytes and increases their expression of neurite growth-inhibitory chondroitin sulfate proteoglycans. *Glia* 55 : 369-384, 2007
- 6) Chen J, Wu J, Apostolova I et al : Adeno-associated virus vector-mediated L1 expression promotes functional recovery after spinal cord injury. *Brain* 130 : 954-969, 2007
- 7) Cohen S, Levi-Montalcini R : Purification and properties of a nerve growth-promoting factor isolated from mouse sarcoma 180. *Cancer Res* 17 : 15-20, 1957
- 8) Courtine G, Song B, Roy RR et al : Recovery of supraspinal control of stepping via indirect propriospinal relay connections after spinal cord injury. *Nature Med* 14 : 69-74, 2008
- 9) Crowe MJ, Bresnahan JC, Shuman SL et al : Apoptosis and delayed degeneration after spinal cord injury in rats and monkeys. *Nat Med* 3 : 73-76, 1997
- 10) David S, Aguayo AJ : Axonal elongation into peripheral nervous system "bridges" after central nervous system injury in adult rats. *Science* 214 : 931-933, 1981
- 11) Dergham P, Ellezam B, Essagian C et al : Rho signaling pathway targeted to promote spinal cord repair. *J Neurosci* 22 : 6570-6577, 2002

- 12) Faulkner JR, Herrmann JE, Woo MJ : Reactive astrocytes protect tissue and preserve function after spinal cord injury. *J Neurosci* 24 : 2143-2155, 2004
- 13) Fournier AE, Takizawa BT, Strittmatter SM : Rho kinase inhibition enhances axonal regeneration in the injured CNS. *J Neurosci* 23 : 1416-1423, 2003
- 14) Fujiyoshi K, Yamada M, Nakamura M et al : In vivo tracking of neural tracts in intact and injured spinal cord of marmosets by diffusion tensor tractography. *J Neurosci* 27 : 11991-11998, 2007
- 15) Grill R, Murai K, Blesch A et al : Cellular delivery of neurotrophin-3 promotes cortico spinal axonal growth and partial functional recovery after spinal cord injury. *J Neurosci* 17 : 5560-5572, 1997
- 16) Hayes KC : Fampridine-SR for multiple sclerosis and spinal cord injury *Expert Rev Neurother* 7 : 453-461, 2007
- 17) Iwanami A, Kaneko S, Nakamura M et al : Transplantation of human neural stem cells for spinal cord injury in primates. *J Neurosci Res* 80 : 182-190, 2005
- 18) Iwashita Y, Kawaguchi S, Murata M : Restoration of function by replacement of spinal cord segments in the rat. *Nature* 367 : 167-170, 1994
- 19) Kaneko S, Iwanami A, Nakamura M et al : A selective Sema3A inhibitor enhances regenerative responses and functional recovery of the injured spinal cord. *Nat Med* 12 : 1380-1389, 2006
- 20) Keirstead HS, Nistor G, Bernal G et al : Human embryonic stem cell-derived oligodendrocyte progenitor cell transplants remyelinate and restore locomotion after spinal cord injury. *J Neurosci* 25 : 4694-4705, 2005
- 21) Kitamura K, Iwanami A, Nakamura M et al : Hepatocyte growth factor promotes endogenous repair and functional recovery after spinal cord injury. *J Neurosci Res* 85 : 2332-2342, 2007
- 22) Koda M, Nishio Y, Kamada T et al : 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* 1149 : 223-231, 2007
- 23) Koda M, Hashimoto M, Murakami M et al : Adenovirus vector-mediated in vivo gene transfer of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) promotes rubrospinal axonal regeneration and functional recovery after complete transection of the adult rat spinal cord. *J Neurotrauma* 21 : 329-337, 2004
- 24) Koh CG : Rho GTPases and their regulators in neuronal functions and development. *Neurosignals* 15 : 228-237, 2007
- 25) Kumagai G, Okada Y, Yamane J et al : Roles of ES cell-derived gliogenic neural stem/progenitor cells in functional recovery after spinal cord injury. *PLoS One* 4 : e7706, 2009
- 26) Nikulina E, Tidwell JL, Dai HN et al : The phosphodiesterase inhibitor rolipram delivered after a spinal cord lesion promotes axonal regeneration and functional recovery. *Proc Natl Acad Sci USA* 101 : 8786-8790, 2004
- 27) Nishio Y, Koda M, Kamada T et al : Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) attenuates neuronal death and promotes functional recovery after spinal cord injury in mice. *J Neuropathol Exp Neurol* 66 : 724-731, 2007
- 28) Ogawa Y, Sawamoto K, Miyata T et al : Transplantation of in vitro-expanded fetal neural progenitor cells results in neurogenesis and functional recovery after spinal cord contusion injury in adult rats. *J Neurosci Res* 69 : 925-933, 2002
- 29) Otori Y, Yamamoto S, Nagao M et al : Growth factor treatment and genetic manipulation stimulate neurogenesis and oligodendrogenesis by endogenous neural progenitors in the injured adult spinal cord. *J Neurosci* 26 : 11948-11960, 2006
- 30) Okada S, Nakamura M, Katoh H et al : Conditional ablation of Stat3 or Socs3 discloses a dual role for reactive astrocytes after spinal cord injury. *Nat Med* 12 : 829-834, 2006
- 31) Schwab JM, Bregtzel K, Mueller C et al : Experimental strategies to promote spinal cord regeneration-an integrative perspective. *Prog in Neurobiol* 78 : 91-116, 2006
- 32) Someya Y, Koda M, Dezawa M et al : Reduction of cystic cavity, promotion of axonal regeneration and sparing, and functional recovery with transplanted bone marrow stromal cell-derived Schwann cells after contusion injury to the adult rat spinal cord. *J Neurosurg Spine* 9 : 600-610, 2008
- 33) Stirling DP, Liu S, Kubek P et al : Depletion of Ly6G/Gr-1 leukocytes after spinal cord injury in mice alters wound healing and worsens neurological outcome. *J Neurosci* 29 : 753-764, 2009
- 34) Suyama K, Watanabe M, Sakai D et al : Nkx2.2 expression in differentiation of oligodendrocyte precursor cells and inhibitory factors for differentiation of oligodendrocytes after traumatic spinal cord injury. *J Neurotrauma* 24 : 1013-1025, 2007
- 35) Takahashi K, Yamanaka S : Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 131 : 1-12, 2007
- 36) Yamamoto S, Yamamoto N, Kitamura T et al : Proliferation of parenchymal neural progenitors in response to injury in the adult rat spinal cord. *Exp Neurol* 172 : 115-127, 2001

[症例] 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

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¹⁾ 喜多 恒次²⁾ 安宅 洋美³⁾
吉永 勝訓⁴⁾ 村田 淳⁵⁾ 橋本 光宏 大河 昭彦
高橋 和久

(2009年10月2日受付, 2009年11月16日受理)

要 旨

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 (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 臨床試験を開始した。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られた5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 5 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、MRI所見の評価を行った。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は投与前の平均が運動79点、触覚72点、痛覚72点であり、投与後は運動89点、触覚94点、痛覚93点となった。白血球数は投与開始の翌日には15,200以上に上昇し、投与期間中は15,200~43,200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。

Key words: 脊髄症, 顆粒球コロニー刺激因子, 神経保護療法

千葉大学大学院医学研究院整形外科学, ¹⁾ 上都賀総合病院, ²⁾ 成田赤十字病院, ³⁾ 松戸市立病院, ⁴⁾ 千葉リハビリテーションセンター, ⁵⁾ 千葉大学医学部附属病院リハビリテーション部

Tsuyoshi Sakuma, Masashi Yamazaki, Masao Koda, Masayuki Hashimoto, Hiroshi Takahashi, Koichi Hayashi, Junko Kawabe, Takayuki Fujiyoshi, Takeo Furuya, Tomonori Yamauchi, Ryo Kadota, Tomohiro Miyashita, Chikato Mannoji, Yukio Someya, Yutaka Nishio, Takahito Kamada, Shuhei Koshizuka, Osamu Ikeda¹⁾, Tsuneji Kita²⁾, Hiromi Ataka³⁾, Katsunori Yoshinaga⁴⁾, Atsushi Murata⁵⁾, Mitsuhiro Hashimoto, Akihiko Okawa and Kazuhisa Takahashi: Europrotective therapy using granulocyte-colony stimulating factor for five patients with rapidly aggravating compression myelopathy.

Department of Orthopaedic Surgery, Graduate School of Medicine, Chiba University, Chiba 260-8670.

¹⁾ Kamitsuga General Hospital, Tochigi 322-8550.

²⁾ Narita Red Cross Hospital, Chiba 286-8523.

³⁾ Matsudo City hospital, Chiba 271-8511.

⁴⁾ Chiba Rehabilitation Center, Chiba 266-0005.

⁵⁾ Division of Rehabilitation, Chiba University Hospital, Chiba 260-8677.

Tel. 043-226-2117. Fax. 043-226-2116. E-mail: masashiy@faculty.chiba-u.jp

Received October 2, 2009, Accepted November 16, 2009.

I. 緒 言

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なメカニズムは現在のところ不明であるが、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[3-10]。

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[1,2,7,11]、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[12]。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[13,14]。

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[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、③Oligodendrocyte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[10,19-22]。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。本試験は2008年6月に開始となったが、今回は、第1段階のG-CSF 5 μ g/kg/日の投与例5例について、その臨床経過を報告する。なお、第1段階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。

II. 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5 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。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。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)[23]、ASIA impairment scale (AIS) (A: 完全麻痺, B: 感覚のみ残存, C: 運動不全麻痺 MMT3 未満, D: 運動不全麻痺 MMT3 以上, E: 正常)[23]、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)

[24]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。

Ⅲ. 結 果

5例に対してG-CSFの投与が行われた。全例が脊柱靱帯骨化症に伴う脊髄症患者であった(表1)。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(表2)。末梢血中の白血球数は投与開始後1日目(投与翌日)には15,200以上に上昇し、投与期間中は15,200~43,200の値が維持され、投与開始後7日目(最終投与の3日後)には、ほ

ぼ投与前の値に戻った(表3)。白血球数が最高値に達したのは、症例2および4で投与開始後1日目、症例3で2日目、症例1で3日目、症例5で4日目であった(表3)。白血球分画では顆粒球の選択的な増加であり、単核球やリンパ球の増加は認めなかった(表4)。赤血球および血小板数の増加は認めなかった。CRPは術後および創感染に伴う上昇はあったが、G-CSF投与に伴う上昇は認めなかった(表5)。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 顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)投与症例

症例 No	年齢 (歳)	性別	原疾患	脊髄最大 圧迫高位	身長 (cm)	体重 (kg)	G-CSF投与後 観察期間
1	61	男	胸椎黄色靱帯骨化症	T10/11	168	85.5	6ヵ月
2	68	男	胸椎後縦靱帯骨化症	T4/5	166	60.8	6ヵ月
3	51	男	胸椎後縦靱帯骨化症	T1/2	161	86	3ヵ月
4	37	男	胸椎後縦靱帯骨化症	T3/4	195	150	3ヵ月
5	35	男	頸胸椎後縦靱帯骨化症	C6/7	173	110	3ヵ月

表2 G-CSF投与後の神経症状の変化

症例 No	JOA score		AIS		ASIA score								
	投与前	最終 観察時	投与前	最終 観察時	運動			触覚			痛覚		
					投与前	投与 終了後	最終 観察時	投与前	投与 終了後	最終 観察時	投与前	投与 終了後	最終 観察時
1	1/11	4/11	C	C	70	80	80	66	78	78	66	78	78
2	3/11	8/11	C	E	94	98	100	63	64	108	63	64	102
3	3.5/11	11/11	C	E	91	98	100	78	86	112	78	96	112
4	2/11	6.5/11	C	C	76	87	92	86	86	100	86	86	100
5	2.5/17	4.5/17	C	C	64	74	75	68	72	72	68	72	72

表3 G-CSF投与後の末梢血中白血球数の変化

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	5.8	19.4	26.5	26.9	20.6	20.9	NA	8.1	6.7	5.6	
2	7.1	27.5	26.2	27.4	24.4	17.1	10.5	10.1	9.9	6.4	
3	5.7	15.2	15.5	14.5	10.5	9	6	4.2	7.4	5.4	
4	8	43.2	29.3	23.6	24.6	21.6	10.3	9.1	11.5*	12.2**	
5	9.5	28.1	27.7	32.2	36.5	35.4	15.1	9.7	5.7	7.1	

単位: ×103/mm³

NA: 未検

*手術に伴う上昇

**創感染に伴う上昇

表4 G-CSF投与後の顆粒球分画の変化

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	55.7	79.2	NA	NA	82.5	81.5	NA	58.8	57.4	50.3
2	70.9	87.5	NA	NA	84.5	78	63.5	66	84.5	69.3
3	46.4	76.9	71.7	NA	NA	57.3	43	40.9	82.9	51.1
4	63.8	82	89.5	NA	NA	81.5	69	NA	NA	68.5
5	67.6	84.9	83.4	83	79	74.5	69.8	NA	54.1	72.4

単位: %

NA: 未検

*手術に伴う上昇

表5 G-CSF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

症例 1

61歳, 男, 胸椎黄色靱帯骨化症。後縦靱帯骨化および黄色靱帯骨化に伴う脊柱管狭窄に対し, 44歳時にT11-L5椎弓切除術, 46歳時にC4-7前方除圧固定術, 58歳時にC3-T1椎弓形成術およびT9-12椎弓切除術を受けていた。3回目の手術後, 下肢しびれは残るも, ロフトランド2本杖で歩行可能であった。3週間前から両下肢脱力を自覚, その後, 両下肢のしびれが増悪, 歩行困難となり, 当院緊急入院となった。入院時は重度の両下肢麻痺を呈し, 起立不能であった。

入院時, T6以下の感覚鈍麻があり, 筋力は下肢が両側でMMT0~2であった。深部腱反射は両下肢で亢進し, バビンスキー反射は両側で陽性であった。膀胱直腸障害として頻尿を認めた。胸椎CTおよびMRIでは, T2/3およびT10/11高位で黄色靱帯骨化による後方からの脊髄圧迫が顕著であった。特にT10/11高位では1年前の画像所見と比較して, 黄色靱帯骨化が著明に増大していた。

G-CSF投与開始後4日目に, 両下肢筋力の回復を自覚した。神経症状の改善は投与開始後1ヵ月目でピークとなり, その後も改善は維持されていた。投与開始後2ヵ月の時点でT2-3椎弓切除術およびT9-11椎弓切除術を施行した。術後は位置覚の改善を認めた。投与後6ヵ月目には, つまみ歩きが可能となっていた。

症例 2

68歳, 男, 胸椎後縦靱帯骨化症。特に誘因なく歩行障害が出現し, 当院へ紹介受診となった。その後, 歩行障害が急激に進行し起立歩行困難となったため, 手術目的に入院となった。

入院時, T6以下の感覚鈍麻があり, 筋力は下肢が両側でMMT2~4であった。深部腱反射は両下肢で亢進し, バビンスキー反射は両側で陽性であった。膀胱直腸障害として尿失禁を認めた。胸椎CTではT4/5に限局型の後縦靱帯骨化と黄色靱帯骨化を認め, 骨化占拠率は83%であった。

G-CSF投与開始後7日目に, 両下肢筋力の回

復としびれの範囲の縮小を自覚した。投与開始後10日目にT1-7後方除圧固定術を施行した。術後は運動、感覚ともに右肩あがりに改善した。神経症状の改善は投与開始後3ヵ月目でピークとなり、その後も改善は維持されていた。投与後6ヵ月の時点で、独歩可能である。

症例 3

51歳、男、胸椎後縦靭帯骨化症。48歳時に頸椎後縦靭帯骨化症の診断にてC3-6椎弓形成術を他院にて受けていた。術後経過は良好でJOA scoreは16/17であった。しかし、術後3年経過した時点から背部痛、歩行障害が出現し、当院へ紹介受診となった。その後、歩行障害が急激に進行したため手術目的に入院となった。

入院時、T5以下の感覚鈍麻があり筋力は下肢が両側でMMT3～5であった。深部腱反射は両下肢で軽度亢進し、バビンスキー反射は両側で陽性であった。膀胱直腸障害は認めなかった。胸椎CTではT1-3に後縦靭帯骨化と黄色靭帯骨化を認めた。T1/2での骨化占拠率は61%であった。

G-CSF投与開始後6日目に、両下肢筋力の回復としびれの範囲の縮小を自覚した。投与開始後10日目にC7-T5後方除圧固定術を施行した。術後は運動、感覚ともに右肩あがりに改善した。投与後3ヵ月の時点で、歩行障害は完全に回復していた。

症例 4

37歳、男、胸椎後縦靭帯骨化症。高度肥満の体型であり、糖尿病、拡張型心筋症の治療を他科で受けていた。誘因なく両下肢しびれが出現し、半年間で急速に歩行障害が進行し起立困難となったため、手術目的に当院に紹介入院となった。

入院時、T8以下の感覚鈍麻があり、筋力は下肢が両側でMMT1～3であった。深部腱反射は両下肢で亢進し、バビンスキー反射は両側で陽性であった。膀胱直腸障害として残尿感を認めた。胸椎CTではT3-6に後縦靭帯骨化と黄色靭帯骨化、T7/8に黄色靭帯骨化を認め、T3/4での骨化占拠率は80%であった。

G-CSF投与開始後5日目に、両下肢筋力の回復を自覚した。投与開始後9日目にT1-10後方除圧

固定術を施行した。術後17日目に創感染に対し洗浄・デブリードマンを施行し、感染は治癒した。術後は運動、感覚ともに徐々に改善した。投与後3ヵ月の時点で、つかまり立ちが可能であった。

症例 5

35歳、男、頸胸椎後縦靭帯骨化症。高度肥満の体型であった。頸胸腰椎に多発する後縦靭帯骨化および黄色靭帯骨化に対し、他院で4度の手術を受けていた。前回の手術後は支持歩行可能であったが、急速に歩行障害が増悪し起立困難となったため当院へ紹介入院となった。

入院時、C8以下の感覚鈍麻があり筋力は手指の筋力が両側でMMT3～4、下肢の筋力が両側でMMT1～4であった。深部腱反射の亢進は認めなかった。膀胱直腸障害としては残尿感を認めた。頸胸椎MRIおよびCTではC6/7高位で後縦靭帯骨化による脊髄圧迫が著しかった。

G-CSF投与開始後3日目に、両上下肢筋力の回復を自覚した。神経症状は徐々に改善し、投与開始後3ヵ月目で、つかまり歩きが可能となった。

IV. 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 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 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 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 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 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \times 5$ 日間を5例に、第2段階として10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \times 5$ 日間を5例に、第3段階として15 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \times 5$ 日間を5例に、そして第4段階で15 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \times 10$ 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行きたい。

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 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 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うるものであるかを明らかにしたい。

謝 辞

本研究は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、課題「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：エビデンスの確立をめざした臨床試験（H20-臨床研究-一般-013）」からの補助を受けて行われた。

SUMMARY

We have started a phase I and IIa clinical trial that evaluates the safety of neuroprotective therapy using granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) for patients with rapidly aggravating compression myelopathy. The trial was performed in five patients, in whom the Japanese Orthopaedic Association score for cervical myelopathy decreased 2 points or more during a recent one-month period. After obtaining informed consent from the patients, G-CSF (5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$) was intravenously administered for five consecutive days. We evaluated the presence of diverse events that related to the G-CSF therapy. We also evaluated motor and sensory functions of the patients and their damaged spinal cord magnetic resonance imaging findings. In all of the five patients, neurological improvement of both motor and sensory functions was obtained, though the degree of the improvement differed depending on the patient. On the day following the start of G-CSF therapy, white blood cell count increased more than 15,200. It was maintained from 15,200 to 43,200 during the administration, and returned to preadministration levels by the third day after the final administration. No adverse event occurred during or after the administration.

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.