

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[14]	7	脳梗塞	15	皮下注	5	42.9 $\pm$ 9.6
Valgimigliら[15]	20	心筋梗塞	5	皮下注	4	35 $\pm$ 11
Engelmannら[16]	44	心筋梗塞	10	皮下注	5	42.9 $\pm$ 25.7
Inceら[17]	30	心筋梗塞	10	皮下注	6	55 $\pm$ 8
Ripaら[18]	78	心筋梗塞	10	皮下注	6	51 $\pm$ 8
Takanoら[19]	40	心筋梗塞	2.5	皮下注	5	29.4 $\pm$ 9
Zohlhoferら[20]	114	心筋梗塞	10	皮下注	5	48 $\pm$ 15
Nefussyら[21]	39	筋萎縮性側索硬化症	5	皮下注	4	30.0 $\pm$ 7.2
佐久間ら[11]	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

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[23]。一方、第1段階で我々が行ったG-CSF 5  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \times 5$ 日間投与と、今回のG-CSF 10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \times 5$ 日間投与での白血球上昇の比較では、10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 投与で白血球数の上昇が高い傾向を認めたが、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。一方、第1段階で我々が行ったG-CSF 5  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \times 5$ 日間投与と、今回のG-CSF 10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \times 5$ 日間投与での比較では、G-CSF 5  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \times 5$ 日間投与例では、投与前に比し投与7日目のASIA scoreで統計学的に有意な改善は認めなかったが、G-CSF 10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \times 5$ 日間投与例では、投与7日目のASIA scoreの運動で有意な改善を認めた。G-CSF 10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \times 5$ 日間投与例では、投与後1ヶ月経過してから手術を施行しているのに対し、G-CSF 5  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \times 5$ 日間投与例では投与終了後早期に手術を施行しているた

め、その後の比較は困難であるが、G-CSF 10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \times 5$ 日間投与の方が、運動麻痺の改善に関して、より有効である可能性が示唆された。

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Phase I・IIa臨床試験を継続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  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \times 5$ 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  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 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 $50 \times 10^3/\mu\text{L}$ 近くまで上昇した。したがって、10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 以上の増量は計画せずG-CSF 10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \times 5$ 日間投与で、試験を継続する方針とした。

今後の予定として、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  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 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投与後に全例で運動・感覚障害の改善が得られた。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 undertaken 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. At the first stage of this trial, we confirmed the safety of administering G-CSF at 5  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ . In the present study, the second stage of this trial, we investigated the administration of G-CSF at 10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ . The trial was performed in twelve patients in whom the Japanese Orthopaedic Association score for cervical myelopathy decreased two points or more during a recent one month period. After obtaining informed consent from the patients, G-CSF (10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ ) was intravenously administered for five consecutive days. We evaluated the presence of adverse events related to G-CSF therapy. We also evaluated motor and sensory functions of the patients. In all twelve patients, neurological improvement of both motor and sensory functions was obtained, though the degree of the improvement differed among the patients. The mean American Spinal Injury Association score before G-CSF administration was  $91.0 \pm 6.5$  points for motor function,  $91.6 \pm 17.4$  for soft touch and  $86.5 \pm 15.9$  for pin prick. One month after completing administration, the mean score improved to  $98.0 \pm 3.2$  points for motor function,  $99.1 \pm 15.3$  for soft touch and  $99.8 \pm 11.0$  for pin prick. On the day following the start of G-CSF therapy, the mean white blood cell count increased to more than  $22.7 \times 10^3/\mu\text{L}$ , compared with  $6.1 \pm 1.6 \times 10^3/$

$\mu\text{L}$  before administration. It stabilized between 22.7 and  $47.3 \times 10^3/\mu\text{L}$  during 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) 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.
- 4) 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.
- 5) Roberts AW. G-CSF: a key regulator of neutrophil production, but that's no all! *Growth Factors* 2005; 23, 33-41.
- 6) 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.
- 7) 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.
- 8) 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.
- 9) 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.
- 10) 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.
- 11) 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.
- 12) 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.
  - 13) 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.
  - 14) 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.
  - 15) 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.
  - 16) 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.
  - 17) 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.
  - 18) 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.
  - 19) 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.
  - 20) Zohnhofer D, Ott I, Mehilli J, Schomig K, Michalk F, Ibrahim T, Meisetschlagler 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.
  - 21) 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. Amyotroph Lateral Scler 2009; 10: 430-1.
  - 22) Nefussy B, Artamonov I, Deutsch V, Naparstek E, Nagler A, Drory VE. Recombinant human granulocyte-colony stimulating factor administration for treating amyotrophic lateral sclerosis: A pilot study. Amyotroph Lateral Scler 2010; 11: 187-93.
  - 23) 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, 高久史磨. 健常人におけるKRN 8601 (rhG-CSF) の第1相臨床試験-単回皮下投与時の安全性及び薬物動態の検討-. 臨床医薬 1989; 5: 223-52.

## 〔症例〕 脊柱靱帯骨化症に伴う脊髄障害性疼痛に対し 顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) が著効した 2 例

佐久間 毅 山崎 正志 国府田 正雄 高橋 宏  
加藤 啓 林 浩一 橋本 将行 橋本 光宏  
大河 昭彦 高橋 和久

(2010年6月15日受付, 2010年7月1日受理)

### 要 旨

我々は、圧迫性脊髄症急性増悪例に対して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の Phase I/IIa 臨床試験を進めている。本試験を施行中に、G-CSF 投与後に脊髄障害性疼痛が軽減した 2 例を経験した。症例 1 は 32 歳男性。T7-10 後縦靱帯骨化が脊髄を圧迫し、隣椎関節に一致した側胸部痛と索路症状としての歩行障害が出現した。G-CSF 10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$  を連続 5 日間点滴静注したところ、投与開始翌日から側胸部痛が軽減した。投与 1 ヶ月後に T4-12 後方除圧固定術を施行した。投与後 6 ヶ月経過した時点で側胸部痛の再燃はなく、運動麻痺の改善も良好である。症例 2 は 68 歳男性。T11-12 黄色靱帯骨化に起因する歩行障害と両大腿内側の疼痛を訴えていた。G-CSF 10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$  を連続 5 日間点滴静注したところ、運動麻痺の改善とともに投与開始翌日から疼痛の軽減を認めた。投与 1 ヶ月後に T10-12 椎弓切除術を施行した。大腿内側部痛は投与後 3 ヶ月頃から再燃傾向にあるが、投与後 6 ヶ月の時点においても投与前に比べて軽減した状態にある。本経験から、G-CSF が運動麻痺を改善させる作用以外に、脊髄障害性疼痛を軽減させる効力を有する可能性が示唆された。

**Key words:** 脊髄障害性疼痛, 異痛症, 顆粒球コロニー刺激因子

### I. 諸 言

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 [1]。本邦では、白血球減少症に対する治

療薬として、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を目的として、すでに臨床使用されている。白血球数を増加させる作用とは別に、G-CSF が損傷脊髄に対して神経保護作用を有することが、基礎研究で明らかにされている [2-4]。

我々は、圧迫性脊髄症急性増悪患者の運動麻痺

千葉大学大学院医学研究院整形外科

Tsuyoshi Sakuma, Masashi Yamazaki, Masao Koda, Hiroshi Takahashi, Kei Kato, Koichi Hayashi, Masayuki Hashimoto, Mitsuhiro Hashimoto, Akihiko Okawa and Kazuhisa Takahashi: Granulocyte-colony stimulating factor reduced neuropathic pain caused by ossified spinal ligaments: report of 2 cases.

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

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

Received June 15, 2010, Accepted July 1, 2010.

改善を最終的な目標とするG-CSF神経保護療法について、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)。第1段階としてG-CSF 5 $\mu$ g/kg/日を5日間投与した5例[5]、2段階としてG-CSF 10 $\mu$ g/kg/日を5日間投与した12例(投稿中)の解析を行い、全例で運動麻痺の改善が得られ、有害事象の発生もなかった。

本試験を施行中、G-CSF投与後に運動麻痺の改善とともに、脊髄障害性疼痛が軽減した2例を経験した。G-CSF投与による疼痛の軽減は、本試験の評価項目には含まれていない。しかし、G-CSFの今後の臨床使用を検討する上で大きな意味を持つことから、今回、症例提示する。

## II. 症 例

### 症例1

【患者】32歳男性

【主訴】歩行障害、腹部から両下肢の痺れ、右背部から側胸部にかけての疼痛

【現症】胸椎後縦帯骨化(Ossification of posterior longitudinal ligament: OPLL)に伴う脊髄症に対して、4年前に当科でT7-10前方除圧固定術が施行された。術後に脊髄症の改善を認めたが、右背部から側胸部にかけての疼痛が出現した。残存骨化の増大に伴い、1年前ころから歩行障害が再度出現した。症状増悪傾向を認めたため、精査加療目的に当科入院となった。

【合併症、既往歴】特記事項なし。

【入院時現症】T8髄節高位以下の感覚鈍麻を認めた。両下肢腱反射は亢進しBabinski反射も陽性であった。下肢の筋力は両側膝屈曲がMMT4と低下を認めた。歩行に支持を要し、頻尿を認めた。日本整形外科学会頸髄症治療判定基準(JOAスコア)は、上肢のスコアを除く11点中4点であった。

【画像所見】入院時X線所見ではT7-8、T9-10高位にOPLLを認めた。MRIのT2強調画像では、T7-8、T9-10で脊髄前方からの圧迫を認めた。CTミエログラムでは、T7-8およびT9-10高位で残存したOPLLの増大により脊髄は左前方からの圧迫を受けていた。T9-10高位では、新たに発生した

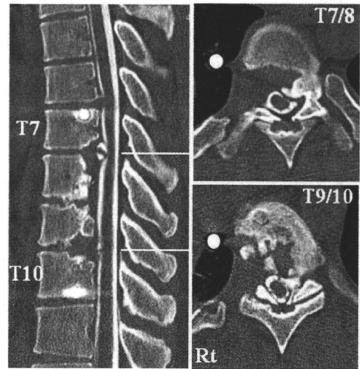


図1 症例1の術前CTミエログラム像

正中矢状断像(左)、T7-8高位水平断像(右上)、T9-10高位水平断像(右下)。

T7-8およびT9-10高位では、前回の手術で残存した後縦帯骨化の増大により、脊髄は左前方からの圧迫を受けている。T9-10高位では、新たに発生した黄色靭帯骨化により、後方からの脊髄圧迫も加わっている。

黄色靭帯骨化(Ossification of yellow ligament: OYL)により、後方からの脊髄圧迫も加わっていた(図1)。

【経過】入院当日よりG-CSF 10 $\mu$ g/kg/日を連続5日間点滴静注した。投与開始翌日から右側胸部痛はVisual Analog Scale (VAS)で投与前80mmから、投与後50mmと軽減し、投与終了1週目には、0mmとなり疼痛はほぼ消失した。運動・感覚麻痺、膀胱直腸障害ともに改善を認め、投与終了1ヵ月の時点でJOAスコアは6/11点に改善した。投与終了後1ヵ月の時点で手術を行った。T4-12後方固定術、T7-10椎弓切除術を行い、T7-8、T9-10については左後方進入により脊髄前方の骨化巣の切除を行った。

術後X線所見では良好な固定位が確認できた。投与終了6ヵ月の時点で右側胸部痛の再燃はなく、JOAスコアは6/11点と運動麻痺の改善も良好である。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。

## 症例2

【患者】68歳男性

【主訴】歩行障害、腹部から両下肢の痺れ、両大腿内側部の疼痛

【現症】15年前から階段昇降時に両下肢のつっぱり感を自覚、10年前から平地歩行でも転倒しやすくなり、1ヵ月前から独歩困難となった。近医で胸椎OYLに伴う脊髄症の診断を受け、精査加療目的で当科に入院した。

【既往歴】急性心筋梗塞（15年前）

【入院時現症】下肢筋力は、股関節および膝関節屈曲がMMT4と低下していた。T12髄節高位以下に感覚鈍麻と両鼠径部から大腿内側にかけての激しい疼痛を認めた。歩行に支持を要し、頻尿を認めた。JOAスコアは4/11点であった。

【画像所見】入院時X線所見でT11-12高位にOYLを認めた。CTではT9-10高位に小さなOYLとT11-12高位に脊柱管占拠率71.5%の巨大なOYLを認めた（図2）。MRIのT2強調画像では、T11-12で脊髄後方からの著しい圧迫を認め、髄内に高輝度領域が存在した。

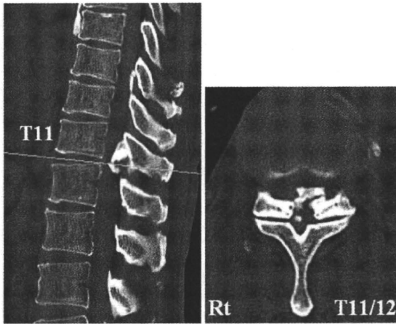


図2 症例2の術前CT像

正中矢状断像（左）、T11-12高位水平断像（右）。

T9-10高位の小さな黄色靱帯骨化とT11-12高位の脊柱管占拠率71.5%の巨大な黄色靱帯骨化を認める。

【経過】入院当日よりG-CSF 10  $\mu$ g/kg/日を連続5日間点滴静注した。投与翌日より両大腿内側部痛はVASで投与前90mmに比し、40mmと改善した。運動・感覚麻痺、膀胱直腸障害とも改善を認め、投与終了1ヵ月目のJOAスコアは6.5/11点で

あった。

投与終了1ヵ月の時点で、T10-12椎弓切除術を行った。骨化巣と硬膜の癒着はなく、硬膜を切除することなく骨化を全摘出できた。

術後CTおよびMRIでは、良好な脊髄の除圧が確認できた。両大腿内側部の疼痛は投与終了3ヵ月目頃からVASが60mmと再燃した。しかし、その後は更なる悪化は認めず、投与終了6ヵ月の時点でもVASは60mmを維持しており、投与前に比べて疼痛は軽減した状態にある。JOAスコアは6.5/11点であり、運動麻痺の改善も良好である。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。

## III. 考 察

脊髄障害性疼痛症候群では脊髄障害に起因すると考えられる多彩な痛みが生じる。痛みの種類としては、通常では痛みを起こさない程度の触覚刺激が痛みを引き起こすアロデニアや障害脊髄高位以下の締め付けられるような自発痛など様々である[6]。本症候群は、後縦靱帯骨化症などの圧迫性脊髄障害、脊髄空洞症などの脊髄疾患、あるいは脊髄損傷などの外傷に伴って発症し、脊髄障害が疼痛発生の原因と考えられている。しかし、その神経生理学的あるいは薬理的なメカニズムについては未だ不明な部分が多い。一部の薬剤が奏功する症例も存在するが、ほとんどの場合は治療抵抗性であり、患者の日常生活を極めて悪化させる要因となっている。現在、脊髄障害性疼痛の実態の把握と病態の解明を目的として、厚生労働省の脊髄障害性疼痛症候群研究班が組織されている。

現在我々は、急性脊髄損傷患者、圧迫性脊髄症急性増悪患者の運動麻痺改善を最終的な目標としてG-CSF神経保護療法の臨床試験を進めている。今回我々は、圧迫性脊髄症急性増悪例に対するG-CSF神経保護療法の臨床試験を進めている過程で、運動麻痺の改善とともに脊髄障害性疼痛が軽減した2例を経験した。本経験から、G-CSFが運動麻痺を改善させる作用以外に、脊髄障害性疼痛を軽減させる効力を有する可能性が示唆された。しかしながら、今回の結果だけでは、プラセ

ポ効果の関与も否定できないため、G-CSF投与が有意に脊髄障害性疼痛の改善をもたらしたか否かの評価は容易ではない。今回の経験から、我々は脊髄障害性疼痛症候群の疼痛軽減を目的とするG-CSF療法について、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自主臨床試験を計画したいと考えている。この臨床試験を完遂することにより、G-CSFが脊髄障害性疼痛症候群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。

また、G-CSF投与後の疼痛軽減の機序についても不明である。現時点では、G-CSFが①炎症性サイトカインの発現を抑制する[7]、②オピオイドを含有する多型核白血球を動員し疼痛を抑制する[7,8]、③G-CSF受容体を介して直接的に障害神経細胞に作用する[7,9,10]、などが推測されるが、今後の研究課題である。

現在、脊髄障害性疼痛症候群に対する有効な治療薬はない。したがって、脊髄障害性疼痛に対するG-CSF療法の安全性、有効性が証明され、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と信じている。

#### SUMMARY

We have undertaken phase I and IIa clinical trials that evaluate the safety of neuroprotective therapy using granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) for patients with rapidly aggravating compression myelopathy. During these trials, we found that neuropathic pain caused by ossified spinal ligaments was reduced after G-CSF administration in two cases. In Case 1 (32-year-old man), ossified posterior longitudinal ligaments compressed the spinal cord at T7-T10 levels, and he complained of intercostal neuralgia and spastic gait. G-CSF at 10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  was administered for five consecutive days, and his intercostal neuralgia was reduced one day after the initial G-CSF administration. One month after the administration, he underwent a surgery for T4-T12 posterior decompression with spinal fusion. At six months after the administration, he showed an excellent recovery from myelopathy and no recurrence of intercostal neuralgia. In Case 2 (68-year-old man), bilateral thigh pain and spastic gait developed due to ossified yellow ligaments at T11-T12. He was treated with G-CSF administration at 10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  for five consecutive days, and his bilateral thigh

pain reduced one day after the initial administration. One month after the administration, he underwent a T10-T12 laminectomy. From three months after the administration, his thigh pain began to attenuate. However, at six months after the administration, his pain was still improved compared with that before administration. The findings in these present two cases indicate that G-CSF has a therapeutic effect for neuralgic pain in patients with compression myelopathy.

#### 文 献

- 1) Roberts AW. G-CSF: a key regulator of neutrophil production, but that's not all Growth Factors 2005; 23, 33-41.
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) 柴田政彦. 臨床痛の要因分析: 神経障害性疼痛の発生機序. *理学療法* 2009; 26: 890-4.
- 7) Ro LS, Chen SR, Chao PK, Lee YL, Lu KT. The potential application of granulocyte colony stimulating factor therapy on neuropathic pain. *Chang Gung Med J* 2009; 32: 235-46.
- 8) Brack A, Rittner HL, Machelska H, Beschmann K, Sitte N, Schäfer M, Stein C. Mobilization of opioid-containing polymorphonuclear cells by hematopoietic growth factors and influence on inflammatory pain. *Anesthesiology* 2004; 100: 149-57.

- 9) Schneider A, Krüger C, Steigleder T, Weber D, Pitzer C, Laage R, Aronowski J, Maurer MH, Gassler N, Mier W, Hasselblatt M, Kollmar R, Schwab S, Sommer C, Bach A, Kuhn HG, Schäbitz WR. The hematopoietic factor G-CSF is a neuronal ligand that counteracts programmed cell death and drives neurogenesis. *J Clin Invest* 2005; 115: 2083-98.
- 10) Zhao LR, Navalitloha Y, Singhal S, Mehta J, Piao CS, Guo WP, Kessler JA, Groothuis DR. Hematopoietic growth factors pass through the blood-brain barrier in intact rats. *Exp Neurol* 2007; 204: 569-73.
-



〔総説〕

中心性頸髄損傷の病態と治療

林 浩 一 山 崎 正 志 大 河 昭 彦  
国府田 正 雄 橋 本 将 行 高 橋 和 久

(2010年4月1日受付, 2010年4月21日受理)

要 旨

1954年Schneiderらによって提唱された急性中心性頸髄損傷は、外傷性頸髄不全損傷のなかで、神経症候学的に下肢よりも上肢に強い運動障害、感覚障害をきたす症候群であり、脱臼や骨折を伴わない非骨傷性頸髄損傷の多くを占める。病理学的には、頸髄横断面での中心部の損傷、すなわち灰白質および白質の内層が主に損傷された病態として捉えられている。近年の分子生物学的研究手法の進歩に伴い、脊髄損傷後の1次損傷、2次損傷および瘢痕形成にいたる局所での組織反応が明らかにされつつある。受傷後早期のMRI診断で、麻痺の子後予測がある程度可能になっており、T1等信号/T2等信号が良好で、T1低信号/T2高信号が一般に不良である。薬物療法として、メチルプレドニゾロン大量療法が行われてきたが、近年、その効果を疑問視する報告が相次ぎ、呼吸器・消化器合併症などの副作用の報告も多い。新たな薬物療法の開発を目的として、顆粒球コロニー刺激因子投与の臨床試験も開始された。脊髄圧迫がない例では、一般に保存治療が選択されるが、脊柱管狭窄を伴う脊髄圧迫例で麻痺が重度、あるいは麻痺の増悪を認める場合は除圧術が考慮される。しかし、保存療法と手術療法を比較した質の高い研究は少なく、手術適応については議論の余地が多い。保存療法と手術療法の多施設前向き無作為共同研究が本邦で開始されており、今後のさらなる検討が期待される。

**Key words:** 中心性頸髄損傷, 保存療法, 手術療法

はじめに

中心性頸髄損傷は脊髄中心部の損傷であり、頸髄横断面での伝導路の位置から、下肢に比して上肢の麻痺が重度である(図1)[1]。中心性頸髄損傷例の多くは、脱臼・骨折を伴わない非外傷性頸髄損傷として発症する。発症の基盤に、頸椎症や頸椎後縦靭帯骨化症(OPLL)などに伴う脊柱管狭窄が存在していることが多い。神経症状の程度

が様々であり、多くの例では保存療法にてある程度の神経症状の改善が得られるが、手術療法が行われることもある。しかし、手術適応についての明確な基準が確立されておらず、治療法が施設・医師により大きく異なっているのが実情である。本稿では、中心性頸髄損傷の病態と治療について、文献的考察を中心に検討を行った。

千葉大学大学院医学研究院整形外科

Koichi Hayashi, Masashi Yamazaki, Akihiko Okawa, Masao Koda, Masayuki Hashimoto and Kazuhisa Takahashi: Pathogenesis and prognosis of cervical central cord injury.

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

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

Received April 1, 2010, Accepted April 21, 2010.

要旨は第12回ちば脊椎カンファレンスで研究発表として講演した。

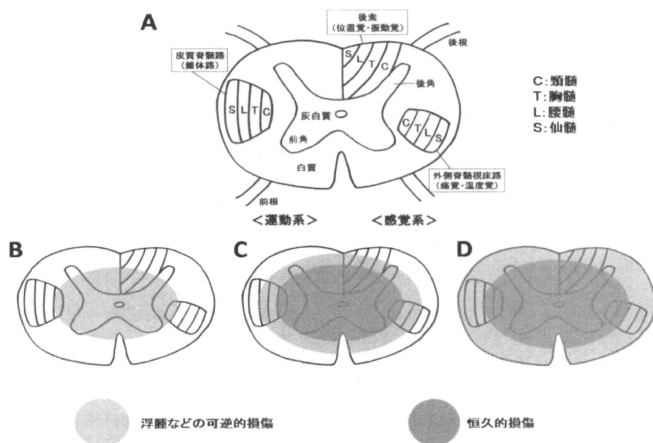


図1 頸髄の伝導路と中心性頸髄損傷の分類

A: 頸髄横断面での伝導路の配列。白質の皮質脊髄路、外側脊髄視床路、後索などでは、外側より仙髄・腰髄・胸髄・頸髄の順で中心に向かい配列している (Foresterのラミネーション仮説)。

麻痺重症度に基づく中心性頸髄損傷の分類 (B, C, D)。B: I型 (上肢型)。受傷当初から下肢症状がまったくないか、または極めて軽い。病変の主体が脊髄の中心部、すなわち灰白質に限局。病変は浮腫などによる一時的損傷。C: II型 (典型的なSchneider型)。受傷当初は上下肢の症状とも著しいが、下肢は日常生活に重大な支障を与えぬ程度に回復し、上肢の症状も遅れて改善する。病変が灰白質のみならず白質の内層まで及ぶ。中心部では恒久的損傷。C: III型 (横断型不全損傷との移行型)。下肢症状は上肢症状に比して良好な回復を示すが、なお痙性歩行などが著しく、日常生活に支障を及ぼす。病変が白質の外層まで及ぶ。中心部の恒久的損傷の領域も広がる。

## 定義

1954年Schneiderは文献例6例と自験例9例の臨床経過と剖検所見から、外傷性中心性頸髄損傷を「損傷レベル以下の上肢の機能が下肢機能に比べて不釣り合いに優位に障害されている症候群」と定義した[2]。その臨床的特徴として、①下肢より上肢に強い運動麻痺、②多くは過伸展位損傷、③多くは非骨傷性損傷、④急激な四肢麻痺、⑤多彩な感覚障害、⑥膀胱機能障害、⑦麻痺の回復は下肢、膀胱機能、上肢の順で手指巧緻運動障害が最後に残り、歩行機能は回復するもの手指機能の回復は良好ではない、⑧感覚障害の回復順序は不明、⑨比較的子後良好、などを挙げた[2]。

白井らは、頸髄不全損傷のうち、受傷時当初から、またはその回復過程において、上肢の運動障害が下肢のそれに比べてより著明なものを急性中

心性頸髄損傷症候群と定義した。四肢運動機能障害の基準としては、日整会頸部脊髄症治療判定基準の上肢運動機能の点数が下肢のそれより低いことを条件とした。麻痺の重症度に基づき、I型 (上肢型)、II型 (典型的なSchneider型)、III型 (横断型不全損傷との移行型) に分類した (図1) [3,4]。

中心性頸髄損傷と非骨傷性頸髄損傷とは共通項が多いが、同義語ではないので、文献解釈に際しては注意を要する。

## 疫学

本邦における疫学調査では、1年間に約5,000名が新規脊髄損傷を受傷していたが、うち約2,100名 (42%) が非骨傷性頸髄損傷であった[5,6]。しかし、それらのどの程度が中心性頸髄損傷であるか

は明記されていない。

5 年間に労災病院関連の28施設において登録された脊髄損傷1,366名中、中心性頸髄損傷と診断されたのは261例 (19.1%) であった[7]。

MRIで脊髄内がT2で高信号になっている高位を損傷レベルとすると、損傷高位はC3-4高位が最多となっている[8,9]。高頻度に見られる手指筋の委縮や拘縮は、C3-4高位での索路障害に基づく廃用症候群と考えられている[8]。

### 病 態

中心性頸髄損傷の病態は、頸髄横断面の解剖から説明されることが多い。すなわち、頸髄横断面では白質の錐体側索路、脊髄視床路、後索などでは、外側より仙髄・腰髄・胸髄・頸髄の順で中心に向かい配列されているとするForesterのラミネーション仮説に基づいている (図1)[10]。Schneiderもそれを支持し、脊髄中心部の灰白質と周辺白質の障害 (圧挫・出血・血腫) のため、中心性頸髄損傷では上肢の障害が強いとし、これが古典的理解となっている。

しかしながら、ヒトの脊髄での錐体路に層状構造が存在することに関しては、解剖組織学での実証が得られていない[11]。むしろ、上下肢への下行線維はまばらに局在しているという報告もある[12]。また、Bungeは病理学的所見から、中心性頸髄損傷は側索・後索の障害が主で、灰白質の障害は認めないと報告している[13]。

受傷のメカニズムは、脊柱管の狭小化 (椎体後方骨棘、OPLL、膨隆した椎間板) がもともと存在していたところに外力が加わり生じるとされている。すなわち、上位椎体下縁と下位椎弓上縁との間での脊髄狭撃によるpincer's mechanismにて発生する[14]、あるいは頸椎過伸展で黄色靭帯のたくれ込みがおり、硬膜管を最大30%まで狭窄するために発生すると説明されている[15]。

市原はコンピューターシミュレーションで、まず後方からの圧迫で側索・後索が障害されてBunge型の損傷が起こり、次に灰白質の障害が起こりSchneider型の損傷が生じるとしている[16]。

近年の分子生物学的研究手法の進歩に伴い、脊

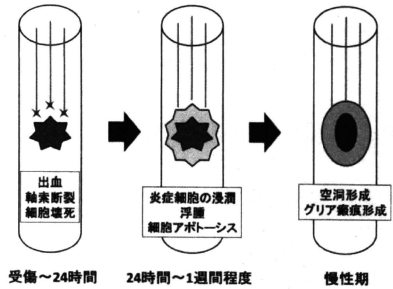


図2 脊髄損傷後の組織反応の推移

受傷直後、損傷部に出血が生じ、神経細胞の軸索が断裂し、神経細胞・アストロサイト・オリゴデンドロサイトなどの脊髄細胞が直接外力により壊死する (受傷～24時間)。

続いて、白血球・マクロファージ・ミクログリアなどの炎症細胞・食食細胞が浸潤し、サイトカインを放出し、浮腫が起こり炎症が周囲に波及する。その結果、損傷部周囲の細胞までもがアポトーシスに陥る (24時間～1週間程度)。

その後、損傷中心部は空洞化し、その周囲にはグリア瘢痕が形成される。神経細胞の軸索はグリア瘢痕に阻まれて伸展しない (慢性期)。

髄損傷後の局所での組織反応の推移が明らかにされつつある。すなわち、受傷部位の細胞壊死などの1次損傷、引き続いて起こる炎症細胞の浸潤・細胞のアポトーシスなどの2次損傷、受傷部位の空洞化・周囲のグリア瘢痕形成について、解析が進んでいる (図2)[17]。

### 自然経過・予後予測

中心性頸髄損傷例の多くで、時間の経過とともに神経症状が改善していくのは周知の事実である。中心性頸髄損傷の予後良好因子として、40歳以下・広い脊柱管・上肢型損傷などがあげられている[18,19]。画像診断では、早期MRIにてのT1等信号/T2等信号が挙げられている[4,20]。

中心性頸髄損傷の成績不良因子としては、高齢 (70歳以上) および脊柱管の狭小化が挙げられている[21]。OPLL例は改善の悪い例が多く、Frankel分類のEまで改善した例はなかったとの報告がある[22]。早期 (急性期から亜急性期) MRIでのT1低信号/T2高信号は予後不良因子とされている (図3)[4,23,24]。

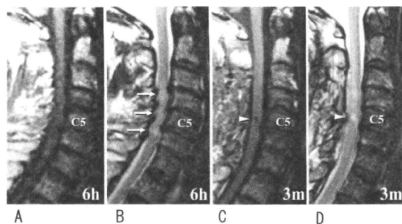


図3 MRI診断でT1低信号/T2高信号の改善不良例

60歳代の男性。自転車走行中に転倒し受傷。過伸屈損傷。初診時Frankel C。頸椎X線側面像では多椎間に頸椎症性変化を認める。

受傷後6時間のMRIでは、C3/4、C4/5、C5/6高位で脊髄は前方後方から圧排をうけている。T1強調像では髄内の信号変化は明らかでない(A)。T2強調像では、C3/4、C4/5、C5/6高位に髄内高信号の領域が存在するが、脊髄が圧迫のため変形しており、輝度変化およびその境界は明瞭でない(B矢印)。受傷後3週後にC3-7椎弓形成術施行。

受傷後3カ月のMRI画像では、脊髄の前方後方からの圧排は解除され、脊髄の形態は復元している。T1強調矢状断像でC5/6高位で髄内に低信号領域が観察される(C矢頭)。T2強調矢状断像ではC5/6高位での髄内高信号がより明瞭になっている(D矢頭)。

受傷後1年2カ月の最終調査時、移動には車椅子が必要である。

手術例を含まない純粋な自然経過に関しては、非骨傷性頸髄損傷例を対象とした研究ではあるが、入院時Frankel分類BまたはCで脊髄圧迫が20%以下の例20例のうち、1年後にFrankel分類で1段階以上改善した例が75%、D以上へ改善した例が65%であった。同様に、脊髄圧迫が20%以上の例17例のうち、1年後にFrankel分類で1段階以上改善した例が94.1%、D以上へ改善した例が64.7%であった[25]。

### 保存治療

保存治療としては、通常、安静臥床や頸椎カラー固定が行われるが、安静期間や固定期間はさまざまである。骨傷例には牽引(Glisson・Crutchfield)やHalo器具固定が行われることもある。最近の傾向としては、合併症予防のために早期離床が推奨されている。

積極的保存療法として、受傷当日からの座位・リハビリテーションを行う施設もある[25]。しか

し、損傷靭帯の回復には12週間の安静を要するとの報告もあり[26]、ある程度の固定は必要と考えられる。

薬物療法としてはメチルプレドニゾン(MPSS)大量療法があり、本邦においては1997年、厚生省の認可のもとに臨床使用が開始された。現在のところ、脊髄損傷に対して治療的に使用できる唯一の薬剤である。Pollardらは412名の頸髄不全損傷患者にMPSS大量療法を行い、若年者や中心性損傷例において良好であったと報告している[27]。本邦でも、Frankel分類C以上の中心性頸髄損傷患者22名に1,000mg以下のMPSS投与が有効であったとの報告がある[28]。

しかしながら、近年、MPSS大量療法の有効性を疑問視する報告が相次ぎ、副作用の報告も多い。Pointillartらは、手術を施行していない106例のランダム化臨床試験(RCT)にて神経学的に改善がみられなかったと報告している[29]。本邦においても、手術を試行していない46例のRCTにて、MPSS群にて呼吸器合併症が有意に増加し、消化器合併症も増加したと報告されている[30]。また、銃などによる穿通性外傷では治癒が遅延したとの報告もある[31]。

新たな薬物療法の開発を目的として、筆者らは顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)を用いた神経保護療法の臨床試験を開始した[32-34]。急性期脊髄損傷例および圧迫性頸髄症急性増悪例を対象に、安全性確認を主目的とするPhase I/IIa臨床試験が行われ、G-CSF投与に伴う有害事象の発生はなかった。また、G-CSF投与が行われた全例で、運動および感覚の改善を認めた。引き続き、G-CSF療法の有効性を評価することを主目的とするPhase IIb臨床試験を施行する予定である。

動物実験の段階ではあるが、脊髄損傷への有効性が示されたものとして、抗IL-6レセプター抗体[35]、肝細胞増殖因子(HGF)[36]がある。

### 手術治療

中心性頸髄損傷に対する保存療法と手術療法を比較した質の高い研究は少なく、手術適応については議論の余地が多い。かつて除圧術は禁忌とされていたが[2]、手術が有効な症例が存在するこ

とは確かである。

麻痺が軽度の例、脊髄圧迫がない例は、一般に保存治療が選択されるが、OPLLをはじめとする高度脊髄圧迫例で麻痺が重度、あるいは麻痺の増悪が認められれば除圧術が考慮される。

齊鹿らは、頸椎症例の第5頸椎における脊柱管前後径を保存治療群32例と手術治療群18例と比較し、前者で平均14.1mm、後者で12.1mmであったと報告している。またOPLL例で脊柱管占拠率を比較すると、保存治療群3例で平均25%、手術治療群20例で43%であったとしている[37]。

Chenらは、保存治療を行った多椎間脊柱管狭窄症例は機能予後不良のことが多く、後に脊髄症を発症する可能性が高いとしている[38]。

手術を選択すべき症例として、「受傷早期に症状が悪化する例」「症状の改善が早期に認められない例」を挙げている報告もある[39]。麻痺増悪は、受傷後も脊髄にとって劣悪な環境が残存している証拠であり、脊髄浮腫、炎症性物質の発現、脊髄血流循環動態の悪化から、障害部位より上行性に神経症状の悪化を呈するためと説明されている[39]。

急性期手術の目的として、①神経経圧迫因子の除去、②脊髄2次損傷の予防、③脊柱安定性の獲得が挙げられている[40]。急性期に手術を行うことで、脊髄圧迫病変の残存による脊髄循環障害・静脈環流障害などで惹起される2次損傷を防止し、リハビリテーションを早期に開始することで、早期離床・早期社会復帰が可能となる。

保存療法と手術療法の多施設前向き無作為共同研究が本邦で開始されており、注目されている[25]。非骨傷性頸髄損傷を対象とした研究では、入院時Frankel分類BあるいはC、MRIにて損傷部の脊髄圧迫率20%以上の症例を対象に行った多施設前向き無作為共同研究（手術治療17例：受傷後平均9.5日で手術、保存治療17例）の結果で、1年後にFrankel分類で1段階以上改善したものが手術群で70.6%、保存群で94.1%、D以上へ改善したものが手術群で58.8%、保存群で64.7%であり、両群に統計学的有意差はなく、急性期除圧術は麻痺回復に有効ではなかったと報告されている[25]。今後のさらなる検討が期待される。

脱臼・骨折例が含まれ非骨傷性頸髄損傷例の

みを対象とした解析ではないが、4,982例の脊髄損傷例のメタ解析において、「72時間以内の手術が安全である」、「麻痺悪化傾向のある症例では緊急手術を要する」については賛同が得られている（evidence level: class 2）[41]。ただし早期の手術では、自然経過の中での改善が治療成績に含まれている可能性があるため評価が難しい。

画像での判断としては、不安定性のある破裂骨折・脱臼骨折は手術が必要である。しかしAllen分類のDistractive-Flexion: stage 1（自然回復されるとレントゲンで評価できない）、Compressive Flexion: stage 1-2、Vertical-Compression: stage 1は神経症状がなければ手術不要であると報告されている[40]。

最も頻度の高い過伸展型損傷例のうち、脊髄圧迫も脊柱不安定性もない安定型に対しては、手術適応はないとされている。不安定性を示すものはAllen分類のDistractive Extension (DE)に相当し、椎間板や前縦靭帯断裂を伴えばDE-1（軽度不安定型）、これに椎間関節包の破裂が加わると極端に不安定性が増し、高度不安定型のDE-2となる。DE-1では保存治療にて麻痺悪化の場合は手術適応、高度脊髄圧迫があれば手術適応、DE-2では脊髄圧迫の有無にかかわらず固定術を要し、また、外傷性椎間板ヘルニアはDE-1と同様の適応で前方除圧固定術を行うべきとされている[40]。

手術時期に関する報告としては、症状改善がブラトーに達し、脊髄圧迫があるものは手術すべきとの報告がある[42]。また、中心性頸髄損傷手術例62例の検討から、受傷から手術まで30日以内の症例では、手術時期にかかわらず改善度に差がなかったとの報告がある[43]。また受傷後3～9ヵ月（10例：平均3.5ヵ月）の時期に手術療法を行い、良好な改善を得たとの報告もある[44]。

Fehlingsらによる重症度を問わない全ての脊髄損傷例を対象とする文献的考察によると、受傷後4週以降に行われた除圧術例では、いずれの報告でも改善が認められていた。特に、受傷後3ヵ月以降に除圧術を受けた例の46.5%で感覚または運動機能の改善があった。同様に、12ヵ月以降の除圧術例の79%、24ヵ月以降の除圧術例の81%で改善があったとしている[45]。

手術治療に関するこれまでの報告を総括すると、中心性頸髄損傷の急性期治療に際しては、麻痺の進行がなく脊柱不安定がない場合には、高度な脊髄圧迫が存在している場合においても、除圧術を急ぐ必要はなく、保存治療を原則としてよいと考えられる。

## 謝 辞

本研究にご協力頂いた千葉大学整形外科教室頸椎脊髄診療班の諸先生に深謝する。

## SUMMARY

Acute cervical central spinal cord injury is characterized by greater motor impairment of upper extremities compared with the lower extremities. The lesion exists at the central portion of the spinal cord; in the gray matter and the inner region of the white matter. Recent advances in molecular biology have enabled us to clarify the tissue reactions following injury from the acute phase through the chronic phase. Prognosis of paralysis can considerably be predicted by MR image diagnosis immediately after injury. High-dose methylprednisolone has been used for pharmacotherapy. However, recent reports have doubt on its therapeutic effect and side-effects related to the therapy have been emphasized. A clinical trial of granulocyte colony-stimulating factor has initiated the development of a new medication therapy. In patients who have no compression of the spinal cord, conservative therapy is principally selected. When patients have spinal cord compression accompanied by canal stenosis and their paralysis is severe or progressing, decompression surgery is indicated. However, there have been few high-quality studies that compare operative treatment with conservative therapy, and indications for surgery remain controversial. A multicenter prospective randomized clinical trial has begun to analyze further the effect of decompression surgery.

## 文 献

- 1) 山崎正志, 頸椎胸椎疾患. 糸満盛憲, 早乙女絏一, 守屋秀繁編, TEXT整形外科(第3版), 東京: 南山堂, 2005: 76-89.
- 2) Schneider RC, Cherry G, Pantek H. Syndrome of acute central cervical cord injury; with special reference to mechanisms involved in hyperextension injuries of cervical spine. *J Neurosurg* 1954; 11: 546-77.
- 3) 白井 宏, 平林 冽. 急性中心性頸髄損傷について. *整形外科* 1981; 32: 1803-12.
- 4) 山崎正志, 高橋和久. 中心性頸髄損傷のMRI診断.

伊藤博元編, 図解よくわかる整形外科MRI診断実践マニュアル, 東京: 全日本病院出版会, 2007: 29-38.

- 5) 新宮彦介. 日本における脊髄損傷疫学調査第3報(1990-1992). *日バラ医誌* 1995; 8: 26-7.
- 6) 新宮彦介. 疫学調査よりみた高齢者脊髄損傷. *日バラ医誌* 1995; 8: 28-9.
- 7) 古澤一成, 徳弘昭博, 杉山宏行, 池田篤志, 住田幹男, 富水俊克. 全国脊髄損傷データベースからみた中心性頸髄損傷の現状. *日脊障医誌* 2007; 20: 84-5.
- 8) 植田尊善. 中心性頸髄損傷の臨床と疫学-非骨傷性頸髄損傷を中心に. *脊椎脊髄* 2008; 21: 562-5.
- 9) 貴船雅夫, 白石 元, 小笠博義. 中心性頸髄損傷のMRI. *中部整災誌* 2003; 46: 325-6.
- 10) Forester O. Symptomatology der Erkrankungen Des Rückenmarks und seiner wurzeln. In: BumkeO, Forester O ed. *Handbook of Neurology* Vol 5, Berlin: Springer 1936: 83.
- 11) Nathan PW, Smith M, Deacon P. The corticospinal tracts in man: course and location of fibers at different segmental levels. *Brain* 1990; 113: 303-24.
- 12) Levi AD, Tator CH, Bunge RP. Clinical syndromes associated with disproportionate weakness of the upper versus the lower extremities after cervical spinal cord injury. *Neurosurgery* 1996; 38: 179-83.
- 13) Bunge RP, Puckett WR, Becerra JL, Marcillo A, Quencer RM. Observation on the pathology of human spinal cord injury: a review and classification of 22 new cases with details from a case of chronic cord compression with extensive focal demyelination. *Adv Neurol* 1993; 59: 75-89.
- 14) Penning L. Some aspects of plain radiography of cervical spine in chronic myelography. *Neurology* 1962; 12: 513-9.
- 15) Taylor AR. The mechanism of injury to the spinal cord in the neck without damage to the vertebral column. *J Bone Joint Surg* 1951; 33B: 543-7.
- 16) 市原和彦, 金子和生, 加藤圭彦, 河野俊一, 桜本逸男, 田口敏彦. 脊髄力学的特性を考慮した中心性頸髄損傷の病態解明. *中部整災誌* 2006; 49: 27-8.
- 17) 国府田正雄, 鎌田尊人, 西尾 豊, 染谷幸男, 出澤真理, 山崎正志. 脊髄損傷再生医学の最新線: われわれの脊髄再生研究とその展望. *脊椎脊髄* 2007; 20: 1247-52.
- 18) 貴船雅夫, 三村 寛, 酒井和裕, 小笠博義. 非骨傷性頸髄損傷の治療成績に影響を与える因子について. *中部整災誌* 2001; 44: 379-80.
- 19) 貴船雅夫, 三村 寛, 酒井和裕, 小笠博義. 中心性頸髄損傷の治療成績に影響を与える因子について. *日バラ医誌* 2001; 14: 92-3.
- 20) 服部和幸, 小川 潤, 聡美和彦. 中心性頸髄損傷の画像診断-予後予測を中心に. *MB Orthop* 2002; 15: 23-38.
- 21) 二村彰人, 藤吉文規, 坪口純和, 杉本勝正, 奥田敏治. 中心性頸髄損傷のX線学的検討と麻痺の改善. *中部整災誌* 1996; 39: 1039-40.
- 22) 服部和幸, 市村正一, 里見和彦. 後縦靭帯骨化を伴った骨傷のない中心性頸髄損傷の予後. 別冊整

- 形外科 2004; 45: 186-91.
- 23) Yamashita Y, Takahashi M, Matsuno Y, Kojima R, Sakamoto Y, Oguni T, Sakae T, Kim EE. Acute spinal cord injury: magnetic resonance imaging correlated with myelopathy. *Br J Radiol* 1991; 64: 201-9.
  - 24) 植田尊善, 芝 啓一郎, 白澤建蔵, 大田秀樹, 森英治, 竹光義治. 非骨傷性頸髄損傷の病態と急性期治療. *脊椎脊髄* 1997; 10: 581-90.
  - 25) 植田尊善, 河野 修. 非骨傷頸損に対する急性期除圧術の効果 - 多施設前向き無作為共同研究の結果. *臨整外* 2006; 41: 467-72.
  - 26) Pang D, Pollack IF. Spinal cord injury without radiographic abnormality in children: the SCIWORA syndrome. *J Trauma* 1989; 29: 654-64.
  - 27) Pollard ME, Apple DF. Factors associated with improved neurologic outcomes in patients with incomplete tetraplegia. *Spine* 2003; 28: 33-9.
  - 28) 伊藤全哉, 大澤良充, 寺本 隆, 吉田光一郎, 鳥居行雄. 骨傷のない中心性頸髄損傷の治療経験. *中部整災誌* 2001; 44: 1337-8.
  - 29) Pointillart V, Petitjean ME, Wiart L, Vital JM, Lassié P, Thicoipe M, Dabadie P. Pharmacological therapy of spinal cord injury during the acute phase. *Spinal Cord* 2000; 38: 71-6.
  - 30) Matsumoto T, Tamaki T, Kawakami M, Yoshida M, Ando M, Yamada H. Early complications of high-dose methylprednisolone sodium succinate treatment in the follow-up of acute cervical spinal cord injury. *Spine* 2001; 26: 426-30.
  - 31) Prendergast MR, Saxe JM, Ledgerwood AM, Lucas CE, Lucas WF. Massive steroid do not reduce the zone of injury after penetrating spinal cord injury. *J Trauma* 1994; 37: 576-80.
  - 32) 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 Neuropharmacol Exp Neurol* 2007; 66: 724-31.
  - 33) 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.
  - 34) 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. 圧迫性頸髄症の急性期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法を施行した5症例. *千葉医学* 2010; 86: 11-8.
  - 35) Okada S, Nakamura M, Kimihata Y, Shimazaki T, Mihara M, Ohsugi Y, Iwamoto Y, Yoshizaki K, Kishimoto T, Toyama Y, Okano H. Blockade of interleukin-6 receptor suppresses reactive astrogliosis and ameliorates functional recovery in experimental spinal cord injury. *J Neurosci Res* 2004; 76: 265-76.
  - 36) Kitamura K, Iwanami A, Nakamura M, Yamane J, Watanabe K, Suzuki Y, Miyazawa D, Shibata S, Funakoshi T, Miyatake S, Coffin RS, Nakamura T, Toyama Y, Okano H. Hepatocyte growth factor promotes endogenous repair and functional recovery after spinal cord injury. *J Neurosci Res* 2007; 85: 2332-42.
  - 37) 齊藤 稔, 河合伸也, 小田裕胤, 田口敏彦, 富永俊克. 中心性頸髄損傷の治療方針に関する検討. *日バ医誌* 1991; 4: 232-3.
  - 38) Chen TY, Dickman CA, Eleraky M, Sonntag VK. The role of decompression for acute incomplete cervical spinal cord injury in cervical spondylosis. *Spine* 1998; 23: 2398-40.
  - 39) 川本俊樹, 金 彪, 黒川 龍. 中心性頸髄損傷の自然経過. *脊椎脊髄* 2008; 21: 567-73.
  - 40) 須田浩太. 中心性頸髄損傷の手術療法. *脊椎脊髄* 2008; 21: 611-5.
  - 41) Fehlings MG, Perrin RG. The timing of surgical intervention in the treatment of spinal cord injury: a systematic review of recent clinical evidence. *Spine* 2006; 31: S28-36.
  - 42) Saruhashi Y, Hukuda S, Katsuura A, Asajima S, Omura K. Clinical outcomes of cervical spinal cord injuries without radiographic evidence of trauma. *Spinal Cord* 1998; 36: 567-73.
  - 43) 植田尊善, 佐々木邦雄, 芝 啓一郎, 権藤英資, 香月正昭, 山野耕一郎, 浅川康司, 角田信昭. 急性中心性頸髄損傷に対する手術成績. *整災外* 1985; 33: 986-90.
  - 44) 豊田 実, 大塚 稔, 穴水依人, 星川慎弥, 荒木千恵美. 中心性頸髄損傷に対する手術療法について. *関東整災誌* 1999; 30: 216-9.
  - 45) Fehlings MG, Sekhon LH, Tator C. The role and timing of decompression in acute spinal cord injury: what do we know? What should we do? *Spine* 2001; 26: S101-10.

# 急性脊髄損傷に対して顆粒球コロニー刺激因子投与を施行した 臨床試験例の検討

高橋 宏, 佐久間 毅, 林 浩一, 橋本 光宏, 大河 昭彦, 国府田 正雄, 山崎 正志  
千葉大学医学部整形外科

【目的】メチルプレドニゾロンは急性脊髄損傷に対し、現在唯一臨床使用されている薬剤である。しかし近年、その効果を疑問視する報告が散見され、呼吸器、循環器系への副作用も無視しがたいため、代替薬の必要性が急務となっている。顆粒球コロニー刺激因子 (Granulocyte colony-stimulating factor : G-CSF) は分子量19.6kDの糖タンパクで造血系細胞の栄養因子の一つであるが、本邦においては既に好中球減少症などの疾患に対し一般に臨床使用されている薬剤である。近年脳梗塞に対する神経保護効果の報告がなされ、我々は急性脊髄損傷に対してもG-CSF投与による神経保護効果が期待できると考え、脊髄損傷モデルにおいてその作用機序を検討してきた。損傷脊髄へのG-CSFの作用としては、投与により動員される骨髄由来細胞が損傷脊髄部に生着する<sup>1)</sup>、直接的にアポトーシスを抑制する<sup>2)</sup>、オリゴデンドロサイトの細胞死を抑制し、髄鞘を保護する<sup>3)</sup>、炎症性サイトカインの発生を抑制する<sup>4)</sup>、血管新生を促進する<sup>5)</sup>、と考えられている。これらの根拠から、我々は急性脊髄損傷に対するG-CSF投与臨床試験を院内治験審査委員会に申請し、2008年度よりPhase I、IIa臨床試験を開始した。今回我々はその初期臨床経過例5例について検討した。

【対象】平成20年6月より平成21年6月までに当院で経験しえた急性脊髄損傷患者5例である。本人の自由意思による同意を得た後、G-CSF、一日5μg/kgを連続5日間点滴静注した。本剤過敏症をもつ患者等は除外基準とした。対象の平均年齢は55.8歳、平均経過観察期間は6.6カ月であった。神経学的評価は、American Spinal Injury Association Score (ASIA score)、ASIA Impairment scale (AIS) で評価した。有害事象の評価については、投与後連日、自覚症状の有無を確認し、投与前及び投与後7日目までは連日、それ以降は定期的に採血を施行し、副作用を確認した。

【結果】ASIA Motor Scoreは投与翌日より連日改善を認め、Sensoryも投与翌日より1髄節以上の改善を認めた(表1)。AISは5例中3例で1段階の改善を認めた。採血検査では白血球数(WBC)においてG-CSF投与翌日より、投与前に比し上昇し、投与5日目まで高値を維持した。そして投与6日目すなわち投与終了翌日には減少し、投与前の値に戻った(表2)。CRPは投与により上昇することはなく、その他の採血検査では異常を認めなかった。

Clinical trial of granulocyte colony-stimulating factor on patients with acute spinal cord injury

H. Takahashi, et al.

Key words : spinal cord injury(脊髄損傷), G-CSF(顆粒球コロニー刺激因子), neuroprotective therapy(神経保護療法)

症例 No	motor				sensory light touch				sensory pain/prick						
	投与開始後				投与開始後				投与開始後						
	投与 前	1 日目	7 日目	最終 観察時	投与 前	1 日目	7 日目	最終 観察時	投与 前	1 日目	7 日目	最終 観察時			
1	53	58	72	78	80	64	64	100	103	104	54	60	82	94	100
2	50	50	50	50	72	94	96	95	93	96	76	80	78	76	88
3	77	83	86	59	60	62	82	112	86	86	62	65	79	86	86
4	59	65	68	71	71	50	50	51	55	55	50	51	55	55	55
5	80	80	82	83	97	77	76	82	87	94	77	76	82	87	94

表1: ASIA scoreの変遷

症例 No	投与開始後								
	投与前	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	6日目	7日目	1カ月
1	8.6	25.2	21.2	25	26.2	25	11.2	9.7	7.2
2	14.1	27.6	26.4	27.1	24.9	27.3	NA	10.9	5.8
3	12.5	32.4	30.6	27.4	26	21.6	14	NA	5.8
4	10.6	31.5	30.6	35.4	35.8	29.8	16.2	16.2	9.1
5	7.2	38.4	41.6	38.5	33.1	18.7	13.6	10.7	5.6

NA: 記録なし

表2: WBC数 (×10<sup>3</sup>/μl) の変遷

【考察】G-CSF投与に伴う副作用は軽度なものとして、骨髄造血能亢進に伴う腰痛、骨盤部の骨痛、全身倦怠感、発熱、頭痛、不眠、食欲不振、悪心、嘔吐などが報告されているが<sup>6)</sup>、いずれも一過性のものであり、休業により2、3日で消失するものである。また、重篤なものとして、稀に脳梗塞、心筋梗塞などの血管病変の悪化や、脾臓破裂などをきたすことがあるという報告があるが<sup>6)</sup>、今回我々の経験した症例においては、いずれの副作用も認めなかった。G-CSFは近年、他の様々な疾患に対して使用されている。心筋梗塞においては、動員される末梢血幹細胞により心筋が保護され、また細胞の一部が心筋となり治療効果を有する、また、脳梗塞においては、神経細胞のアポトーシスを抑制する、炎症性サイトカインの発生を抑制す



る、さらに、ALSにおいては動員される末梢血幹細胞により症状の進行を遅らせる可能性がある、との報告があり、いずれの疾患においても臨床試験が開始されている<sup>7-9)</sup>。諸家の臨床試験におけるG-CSFの投与量は報告により異なるが、おおむね一日投与量は5~10  $\mu$ g/kg、投与期間は5日前後であった。今回の我々の臨床試験では、次の段階として、一日10  $\mu$ g/kg、5日間投与についての検討を計画し、現在一日10  $\mu$ g/kg、5日間投与まで臨床試験は進んでおり、今後は、一日10  $\mu$ g/kg、10日間投与までの安全性を確認し、Phase IIb臨床試験へと進み、急性脊髄損傷に対するG-CSF投与の有用性を実証したい。

【結語】急性脊髄損傷に対して、G-CSF投与Phase I、IIa臨床試験を開始した。全例で投与後に神経症状の改善を認め、投与期間中及び投与後に有害事象の発生を認めなかった。

【文献】

- 1) 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* 2007; 1149: 223-231
- 2) Nishio Y, Koda M, Kamada T, et al: 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
- 3) 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: 180-181
- 4) 川辺純子, 国府田正雄, 橋本将行, 門田領, 大河昭彦, 山崎正志. ラット脊髄圧挫損傷モデルにおける顆粒球コロニー刺激因子(Granulocyte colony-stimulating Factor: G-CSF)の血管系に対する効果. *日整会誌*2007; 81: S944
- 5) Anderlini P, Przepioraka D, Seong D, et al: Clinical toxicity and laboratory effects of granulocyte colony-stimulating factor (filgrastim) mobilization and blood stem cell apheresis from normal donors and analysis of charge for procedures. *Transfusion* 1996; 36: 590-595
- 6) Becker PS, Wagle M, Matous S, et al: Spontaneous splenic rupture following administration of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) occurrence in an allogeneic donor of peripheral blood stem cells. *Biol Blood Marrow Transplant* 1997; 3: 45-49
- 7) Valgimigli M, Rigolin GM, Cittanti C, et al: 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: 1838-1845
- 8) Shyu WC, Lin SZ, Lee CC, et al: Granulocyte colony-stimulating factor for acute ischemic stroke: a randomized controlled trial. *CMAJ* 2006; 174: 927-933
- 9) Martinez HR, Gonzalez-Garza MT, Moreno-Cuevas JE, et al: Stem-cell transplantation into the frontal motor cortex in amyotrophic lateral sclerosis patients. *Cytotherapy* 2009; 11: 26-34

# 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

佐久間 毅, 高橋 宏, 林 浩一, 橋本 光宏, 大河 昭彦, 国府田 正雄\*, 山崎 正志  
千葉大学大学院医学研究科整形外科学, \*千葉市立青葉病院整形外科

## 【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。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ると考えられている。

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、放置すると難治性となりうる。圧迫性脊髄症のおよそ5%に急速な症状の増悪を認め、早期に手術を行う事で良好な改善を認めるのに対し、保存療法群では悪化傾向を認める。

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。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、脳卒中モデルに対する神経保護作用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。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、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、直接的に神経細胞死を抑制する、Oligodendrocyteの細胞死を抑制し髄鞘を保護する、炎症性サイトカイン(TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ )発現を抑制する、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[1-5]。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療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 $\mu$ g/kg/日の投与例5例について、その臨床経過を報告する。尚、本試験は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。

## 【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か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、本剤の成分に過敏症の患者、白血病などの造血系悪性疾患の既往をもつ患者、過去5年以内の悪性疾患の既往をもつ患者、心筋梗塞、狭心症の既往をもつ患者、血栓・塞栓症の既往またはその傾向をもつ患者、脾腫のある患者、意識障害を有する患者、妊婦、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 $\mu$ 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) 運動(0~100点、感覚:0~112点、痛覚:0~112点)、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)、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)で評価した。加えて、血尿所見の評価を行った。

## 【結果】

5例に対してG-CSFの投与が行われた。全例が脊性靭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、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15200以上上昇し、投与期間中は15200~43200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ず、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、G-CSF投与に伴う有害事象の発生はなかった。

Neuroprotective therapy using granulocyte-colony stimulating factor for five patients with rapidly aggravating compression myelopathy

T. Sakuma, et al.

Key words: 脊髄症, 顆粒球コロニー刺激因子, 神経保護療法

# ラット脊髄損傷に対する人工多能性幹 (iPS) 細胞由来 アストロサイト移植効果の検討

林 浩一, 橋本 将行, 国府田 正雄, 大河 昭彦, 佐久間 毅, 高橋 宏, 山崎 正志  
千葉大学大学院医学研究院整形外科

【背景】(1)iPS細胞は体細胞から作成することが可能であることと、受精卵の破壊など倫理的問題が絡まないことから、自家移植の際の有力な選択肢となり得る可能性がある。(2)Neural Stem Sphere (NSS) 法はES細胞コロニーから周囲に神経幹細胞を分化、遊走させる方法である。(3)脊髄損傷においてアストロサイトはグリア瘢痕を形成し軸索再生を阻害するといわれてきた。近年アストロサイトが炎症の波及を防いでいる、再生軸索のガイダンスとなっている、といった脊髄損傷に対し保護的な役割に関する報告も増えてきている。

【目的】1: マウスiPS細胞よりNSS法を用いて、神経幹細胞を分化させ、さらにアストロサイトを分化誘導すること。2: 誘導したアストロサイトをラット脊髄損傷モデルに移植し、その効果を検討すること。

【方法】(分化誘導実験) マウスiPS細胞は、理研Cell Bankより譲渡を受け、未分化な状態ではGFP緑色蛍光を発する。マウスiPS細胞をFeeder細胞上で培養、直径300-500μmのコロニーをpick upし、Astrocyte Conditioned Medium (ACM)+bFGF存在下に4日間浮遊培養しNSSを作成した。NSSを接着培養へ移し周囲に遊走してくる神経幹細胞を回収し、継代・増殖させた。P3-P5の神経幹細胞をDMEM+10%FBS培地にてアストロサイトへ分化させた。RT-PCRにて分化過程における遺伝子発現の推移をみた

(移植実験) 8週齢の雌性SDラット(N=30)の第9-10胸椎レベルに、IH Impactorを用いて脊髄損傷を作成した。脊髄損傷3日後に、10万個/5μlのiPS細胞由来アストロサイトをHamilton syringeを用いて髄注したものをアストロサイト移植群(N=20)、DMEMを髄注したものをDMEM群(N=10)とした。免疫抑制剤として両群にサイクロスポリンを移植後2週間は注射、その後は飲料水に混入した。アストロサイトを移植する寸前にPKH26Red処理を行い移植細胞のマーカーとした。下肢運動機能評価として、毎週BBB scoreを、損傷8週時にInclined plane test、運動量解析をSCANET-MV40にて行った。脊髄損傷に伴うallodyniaの評価として、損傷8週時にThermal hyperalgesia test(熱刺激)と、Mechanical allodynia test(圧刺激)を行った。この際、脊髄損傷を起こしていないラット(N=5: ノーマル群)も加えて検討した。組織学的検討として残存髄鞘量(Luxol fast blue染色)、アストロサイト量(GFAP

陽性面積)、疼痛ペプチド量(CGRP陽性面積)を計測した。

【結果】(分化誘導実験) 図1が作成したNSSである。右図のように表面にネスチン陽性の神経幹細胞が存在し、中心部はGFP緑色蛍光の残存する未分化な状態である。右下の図は位相差顕微鏡写真であり、NSS周囲に大量の神経幹細胞が遊走している。

## Neural Stem Sphere (NSS)と神経幹細胞

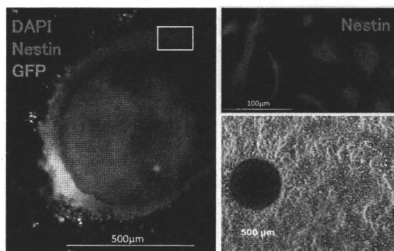


図1

作成した神経幹細胞を、DMEMと10%FBSの培地に移すとほとんどすべての細胞がGFAP陽性アストロサイトに分化した。分化細胞はGFAP, S100陽性であった。細胞の分化段階におけるRT-PCRを示す。iPS細胞はNanog, Oct3/4のみ強く発現し、神経幹細胞はNestinを最も強く発現した。アストロサイトはGFAPを強く発現していた(図2)。

## RT-PCR

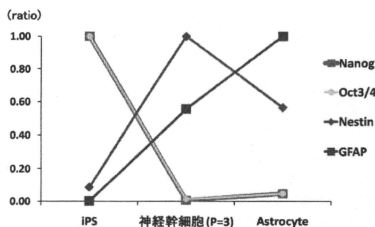


図2

Transplantation of astrocytes derived from induced pluripotent stem cell on an experimental spinal cord injury in rats

K. Hayashi, et al.

Key words : spinal cord injury (脊髄損傷), astrocyte (アストロサイト), transplantation (移植)

(移植実験) BBB score他、全ての下肢運動機能評価に有意差はなかった。

Thermal hyperalgesia test (熱刺激) ではアストロサイト移植群は、ノーマル群に比し有意に熱刺激に過敏であった (図3)。

Mechanical allodynia test (圧刺激) では、アストロサイト移植群は、ノーマル群、DMEM群に比して有意に allodynia が強かった (図4)。

### 熱刺激テスト

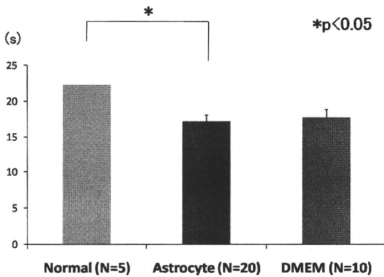


図3

### 圧刺激テスト

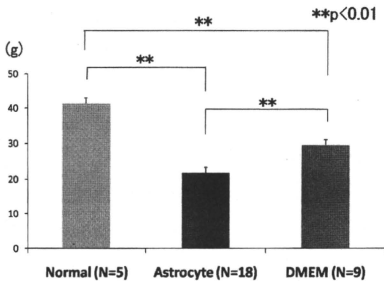


図4

移植細胞から出た突起は内在性アストロサイトの突起と並走していた。移植後8週時に移植細胞は残存していたが、GFAPの染色性は陰性となっていた。

残存白質量・アストロサイト量・疼痛ペプチド量において、両群間に有意差はなかった。

【考察】NSS法は手順が簡便であり、今回iPS細胞からアストロサイトの分化誘導に成功した。また神経幹細胞の継代・凍結保存が可能であった。今後iPS細胞からの神経系細胞分化法として臨床応用が期待される。移植実験においては下肢運動機能の改善はなく、アストロサイト単独移植では効果が不十分であることが考えられた。

allodynia の発生機序は、現在のところ不明な点が多いがHofstetter<sup>3)</sup>は神経幹細胞移植でallodyniaが生じたが、アストロサイトへの分化を抑制すると、allodyniaも減少したと報告し、Davis<sup>4)</sup>はアストロサイト移植にて、行動は改善せず、allodyniaが生じたと報告した。本研究においてもアストロサイト移植群で有意にallodyniaが増強しており、allodyniaの原因としてアストロサイトの関与が示唆された。脊髄損傷への細胞移植治療においてallodynia の発生は大きな問題である。

【結論】NSS法を用いてマウスiPS細胞よりアストロサイトを分化した。得られたアストロサイトをラット脊髄損傷モデルに移植した。移植後8週時点で移植細胞は残存していたが、GFAPの染色性は低下していた。アストロサイト移植によりallodyniaの悪化がみられた。

#### 【文献】

- 1) Nakayama T, Motoki-Soga T, Yamaguchi K, et al : Efficient production of neural stem cell and neurons from embryonic stem cells. *NeuroReport* 15: 487-491, 2004
- 2) Nakayama T, Inoue N : Neural stem sphere method : induction of neural stem cells and neurons by astrocyte-derived factors in embryonic stem cells in vitro. *Method Mol Biol* 330: 1-13, 2006
- 3) Hofstetter CP, Holmstrom NA, Lijia JA, et al : Allodynia limits the usefulness of intraspinal neural stem cell graft; directed differentiation improves outcome. *Nat Neurosci* 8: 346-353, 2005
- 4) Davies JE, Proschel C, Zhang N, et al : Transplanted astrocytes derived from BMP- or CTNF-treated glial precursors have opposite effects on recovery and allodynia after spinal cord injury. *J Biol* 7: Article7, 2008