



SCIENTIFIC PROGRAM

The Second Joint Symposium of The International & National Neurotrauma Societies

Including the AANS/CNS Section on
Neurotrauma & Critical Care

September 7-11, 2009
Santa Barbara, California

P83

TRANSPLANTATION OF ASTROCYTES DERIVED FROM INDUCED PLURIPOTENT STEM CELL ON AN EXPERIMENTAL SPINAL CORD INJURY IN RATS

Koichi Hayashi, Masayuki Hashimoto, Masashi Yamazaki, Akihiko Okawa, Masao Koda, Tsuyoshi Sakuma, Hiroshi Takahashi
Graduate School of Medicine, Chiba University, Chiba City, Japan

Induced pluripotent stem (iPS) cell can be a potent alternative in case of autologous cell transplantation, because it can be made from somatic cells without breaking fertilized egg. Neural Stem Sphere (NSS) method is one of ES-cell differentiation methods, which migrates neural stem cell (NSC) peripherally around ES-cell colony. In the present study, we applied NSS method to iPS cell differentiation. In CNS injury, the glial scar has high side, because it prevents survival tissue from inflammation spreading. The purpose of this study is to investigate effectiveness of iPS cell-derived astrocytes transplantation into injured spinal cord.

Mouse iPS cell colonies were cultured in astrocyte-conditioned medium (ACM) and bFGF under free-floating conditions for four days. Mouse iPS cell colonies give rise to floating spheres of concentric stratiform structure with a periphery of NSCs. NSCs were immunoreactive for Nestin, and could be differentiated into β -III-positive neurons GFAP or S100-positive astrocytes, and O4 or GalC-positive oligodendrocytes. NSCs were cryopreserved and could be differentiated into GFAP-positive astrocytes when bFGF was replaced with 10% FBS.

Adult female SD rats were subjected to moderate spinal cord contusion injury (200 kdyn, IH impactor) at T9/10 level. We transplanted iPS cell-derived astrocytes (100,000/5 μ l) labeled with PKH-26 into injury site three days after spinal cord injury. We injected DMEM into injury site as a control. We are planning to assess BBB locomotor score for eight weeks, then do immunohistological studies.

P85

RESPONSE TO METHYLPHENIDATE ADMINISTRATION AND DOPAMINERGIC FUNCTION IN PERSONS WITH TBI AND HEALTHY CONTROLS

Joelle Scanlon, Julie Price, Joseph Ricker, Yvette Conley, Carl Becker, Joshua Burkhardt, Edward Dixon, Amy Wagner
University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA, United States

Genetic variants affecting dopamine transporter (DAT) and D2 receptor (DRD2) function may impact responsiveness to treatment with the DAT inhibitor methylphenidate (MPH) after TBI. The differential impact of DAergic genotype on baseline DAT/DRD2 binding may moderate this effect. This hypothesis was examined in persons with moderate to severe TBI (N = 9) 1 year post-injury and in healthy controls (N = 10). DAT and DRD2 binding was measured, respectively, using [3 H]MPPF and [3 H]raclopride via PET imaging. Cognitive function was measured following a one-time treatment with placebo and with 20 mg/kg MPH within 4 weeks of imaging. Subjects were evaluated for the candidate genes, DAT1 3' VNTR and DRD2 receptor Taq1 promoter RFLP. Results showed imaging and cognitive function were influenced by injury group and DA genotype. TBI subjects had a significant reduction in DAT receptor binding in striatal regions and in cognitive performance during both treatment conditions as compared to controls. DAT binding in TBI, but not controls, for carriers of the DAT 9 allele was significantly lower compared to homozygotes for the DAT 10 allele. Carriers of the DAT 9 allele in the TBI group displayed poorer cognitive performance during both treatment conditions. MPH administration did result in a significant improvement in executive function for both TBI and controls as measured by Trail-Making Test Part B (TMT-B) that was not attributable to differences in processing speed. Treatment response was influenced by DAT and DRD2 genetic variants. Better TMT-B performance under the placebo condition was related to higher DAT binding in the right putamen ($p < 0.001$) for TBI but not controls. Additionally, there was a trend for better cognitive performance during the MPH condition and higher DRD2 binding in TBI. PET imaging may help elucidate the neurobiological basis for cognitive deficits and pharmacological treatment response following TBI. This research helps determine the role of DAergic genetic variability in moderating DA neurotransmission, treatment effects, and outcome after TBI.

NIH R01 HD0408162.

P84

PHASE I CLINICAL RESULTS OF THE ECE/NEP INHIBITOR SLV334, A NEW THERAPEUTIC CLASS TO BE INVESTIGATED IN TRAUMATIC BRAIN INJURY (TBI)

Hanka De Vroom, Edu Zondag¹, Pieter Van den Broeck¹, Kees Drooger¹, Tinka Tainstra¹, Eric Sondag¹, Elizabeth Allen², Michiel De Vries¹
¹Solvay Pharmaceuticals, Weesp, Netherlands, ²Guy's Drug Research Unit, London, United Kingdom

Introduction: SLV334, a metalloprotease inhibitor, is in clinical development for TBI. It inhibits endothelin converting enzyme (ECE), preventing formation of the vasoconstrictor endothelin-1 (ET-1) from its precursor Big endothelin (Big-ET-1). SLV334 also inhibits neutral endopeptidase (NEP), preventing the breakdown of natriuretic peptides, i.e. atrial natriuretic peptide (ANP). In animal models, SLV334 was neuroprotective at the site of impact, prevented secondary damage in the hippocampus and improved motor and cognitive function dose-dependently up to 24 h after experimental injury. SLV334 had a favorable ADME and toxicology profile after iv dosing.

Purpose: Assess safety, tolerability, pharmacokinetics (PK) and pharmacodynamics (PD) related to mode of action after single (SD) and multiple (MD) doses of iv SLV334, in healthy male subjects.

Methods: SLV334 was given in a randomized, double-blind, placebo-controlled manner. SD: 0.25–1 h increasing dose infusions (cross-over design); MD: 1 h infusions (parallel design) twice daily. A 6 h infusion was given open label. Assessments: safety lab, blood pressure (BP), heart rate (HR), ECG (Holler), adverse events, plasma drug levels, plasma levels of ANP, cyclic guanosine monophosphate (cGMP), Big-ET-1 and ET-1.

Results: 60 subjects received SLV334. SD doses (n = 40) of 50–1650 mg and/or 3000 mg as 6 h infusion; MD (n = 20) 2000 and 4000 mg (as 1000 and 2000 mg b.i.d. for 8 days).

Safety: BP, HR, lab and ECG gave no cause for concern; SLV334 was well tolerated with occasional (postural) dizziness and irritation at the infusion site. PK: C_{max} and AUC increased with dose, with a t_{1/2} of 1–3 h, no accumulation during MD. PD: Big-ET-1 levels increased dose dependently for 12–24 h after dosing; all doses were significantly different from placebo, with maximal effect (E_{max}) at 2–4 h, being 5–8x higher than placebo. ET-1 levels were below LOQ. ANP levels rose dose dependently for 4–8 h, statistically significant at doses ≥ 100 mg, with an E_{max} 2–7x higher than placebo; cGMP increase was statistically significant at doses ≥ 400 mg.

Conclusion: SLV334 in healthy subjects was safe and well tolerated. The marked increase in Big-ET-1 and ANP levels observed confirmed the mode of action of SLV334 as an ECE/NEP inhibitor; the duration of action suggested a b.i.d. dosing schedule. The results support further development of SLV334 in TBI patients in early Phase II studies.

P86

THE ANXIETY ASSESSMENT AND NURSING OF PATIENTS WITH HEAD INJURY DURING THE 2008 WENCHUAN EARTHQUAKE

Li Pengcheng, Chen Maojun
West China Hospital of Sichuan University, Chengdu, China

Objective: To investigate the anxiety state of patients with head injury during the Wenchuan earthquake and the effects of psychological nursing.

Methods: 95 patients with mild head injuries suffered from Wenchuan earthquake were enrolled in the study, among these 59 were male and 36 were female, aging from 20 years to 67 years with a mean age of 37 years. Each patient was assessed anxiety state by self-rating anxiety scale after admission, then accepted a unified psychological counseling. 3 days later self-rating anxiety scale was performed again and the data were analyzed by SPSS.

Results: 75 patients (accounted for 78.9%) had anxiety, fear and somatization, cognitive change. After accepted a unified psychological counseling, 49 patients (accounted for 51.6%) had anxiety, fear and somatization. After intervention, the rate of anxiety was significantly decreased (P = 0.006).

Conclusions: After earthquake, many wounded may have anxiety, fear and somatization, cognitive change. Psychological nursing can greatly ease the psychological anxiety of the wounded and reduce the physical symptoms.

P115

TRANSPLANTATION OF ACTIVATED MACROPHAGE FOR CHRONIC SPINAL CORD INJURY IN RATS

Masao Kagai¹, Kotchi Hayashi¹, Masayuki Hashimoto³, Takeshi Sakuma², Hiroshi Takahashi², Akhiko Okawa², Masashi Yamazaki²
¹Chiba Aoba Municipal Hospital, Chiba, Japan, ²Chiba University Graduate School of Medicine, Chiba, Japan, ³Chiba Kaihin Municipal Hospital, Chiba, Japan

Objective: Chronic spinal cord injury (SCI) is the most challenging area in the field of SCI research. Glial scar is one of the main obstacles for spinal cord regeneration in chronic phase of SCI. Thus the elimination or modulation of glial scar might be main component of therapeutic strategy for chronic SCI. Macrophage may have potential to eliminate or modulate the glial scar via the phagocytosis or secretion of various kinds of enzymes (e.g. MMPs). It has been reported that transplantation of activated macrophage for spinal cord injury (SCI) in acute phase is effective. However, it is still unknown that transplantation of activated macrophage is also effective for chronic SCI. The aim of the present study was to assess therapeutic effects of activated macrophage for chronic SCI.

Methods: Adult male SD rats were laminectomized and spinal cords were contused using Infinite Horizon Impactor. Macrophage was cultured from green fluorescent protein (GFP) transgenic rat bone marrow. Four weeks after injury, 5×10^6 interleukin-1 γ -stimulated macrophage was directly injected into injured spinal cord. In control rats, same volume of medium was injected. After transplantation, hind limb functional recovery was assessed using BBB locomotor scale. Histological and immunohistochemical assessment was performed.

Results and Discussion: Transplantation of activated macrophage promotes hind limb functional recovery. We will explore the precise mechanisms underlying therapeutic effects of activated macrophage for chronic SCI.

P117 — STUDENT COMPETITION FINALIST

CREATING GROWTH SUPPORTIVE PATHWAYS TO ENHANCE DOPAMINERGIC AXON GROWTH

Chen Zhang, George Smith
University of Kentucky, Lexington, KY, United States

Different experimental and clinic strategies have been used to promote axon growth from transplanted embryonic ventral mesencephalic (VM) neurons. However, very few studies have focused on long-distance growth of dopaminergic fibers from VM transplants. The aim of this study is to examine whether creating a growth supportive pathway can direct long-distance growth of dopaminergic fibers from VM transplants. Using our corpus callosum model, several growth supportive pathways were made along the corpus callosum using lentivirus encoding the growth factors GDNF, and Netrin-1. Lentivirus encoding GFP was used as a control group. Lentiviruses encoding a single factor or a combination of multiple growth factors were injected along the entire corpus callosum at 0.5mm, 1.5mm and 2.5mm from the midline of both hemispheres. Two weeks later, a piece of E14 VM tissue was transplanted into the right side of the corpus callosum, 2.5mm from the midline. Chondroitinase ABC was injected at the transplant site prior to VM transplantation (2ul at 10U/ml). Four weeks after transplantation, the rats were perfused and brains were dissected. Coronal sections with the graft were cut and stained with antibody against tyrosine hydroxylase (TH). TH+ fibres were counted at 0.5mm, 1.5mm in both sides and 2.5mm on the left side of the corpus callosum. In sham and GFP control groups, TH+ fibres grew very short distance from VM transplants, very few reached the midline. However, in GDNF and Netrin-1 expressing groups, more TH+ fibres grew out of transplants and reach to the midline. Some of these fibres grew across the midline entering the contralateral side. Combined pathway expressing both GDNF and Netrin-1 showed significant increase in the number of TH+ fibres at all counting points compared to other groups. These data suggest that combining growth factors along a pathway can support long-distance growth of dopaminergic fibers from VM transplants. Future studies will test whether creating this combined pathway from the substantia nigra to the striatum can reconstruct the nigrostriatal pathway and direct the growth of dopaminergic axons from VM transplant at the substantia nigra along the pathway to their target in the striatum and improve motor function for Parkinson's disease.

P116 — STUDENT COMPETITION FINALIST

DELAYED INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-1 OVEREXPRESSION PROVIDES REGIONAL NEUROPROTECTION DEPENDENT ON INJURY SEVERITY

Sindhu Kirzhakke Madathil, Kathryn Saaman
University of Kentucky, Lexington, KY, United States

Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) is a potent neurotrophic factor that is essential for cell survival, synaptogenesis, and myelination. In traumatic brain injury (TBI) clinical trials, patients receiving IGF-1 showed improved metabolic status. We have previously shown that administration of IGF-1 improved neurobehavioural function following TBI in rats. However, the neuroprotective potential of IGF-1 treatment in brain injury has not been determined. In this study we investigated the histological effects of astrocytic overexpression of IGF-1 after moderate and severe TBI using transgenic mice (IGF-1Tg) which conditionally express IGF-1 under the control of the GFAP promoter regulated by a 'let-off' system. Both C57BL/6 wildtype (WT) and IGF-1Tg mice received a controlled cortical impact (CCI) injury of either 0.5mm or 1.0mm depth or sham injury. Augmented astrocytosis concomitant with IGF-1 expression was observed in the cortex and hippocampus of IGF-1Tg mice 72h after both moderate and severe injuries. However, cortical neuroprotection was observed only for the moderate injury whereas hippocampal neuroprotection was observed following both injury severities. Interestingly, at 24h after severe CCI, astrocytosis accompanied by increased IGF-1 was observed in the hippocampus but not in the cortex of IGF-1Tg mice. More rapid astrocytosis in the hippocampus compared to the cortex provided an earlier upregulation of IGF-1 which may have contributed to effective neuroprotection in the hippocampus. The current findings suggest that non-neuronal IGF-1 overexpression promotes neuronal survival following TBI and endorses the usefulness of IGF-1 as a therapeutic agent in brain-injured patients.

Supported in part by NIH NS045131, NS051220 and KSCHEART 7-20.

P118

GALECTIN-3 AND MICROGLIAL-RELATED INFLAMMATION AFTER SPINAL CORD INJURY

Kimberly Byrnes, Qing Shu, Kynli Jones, Alan Faden
Georgetown University, Washington, DC, United States

Following spinal cord injury (SCI), expression of microglial-related inflammatory genes and proteins is strongly up-regulated. This up-regulation is related to the delayed tissue damage and cell death that may expand away from the primary injury and is commonly termed 'secondary injury'. Galectin-3 is a member of the delayed-expression genes found after SCI, with a peak in expression at 7 days post-injury, and up-regulation that lasts through at least 28 days. Galectin-3 is involved in chemotaxis of monocytes, activation of NADPH oxidase, phagocytosis, and phosphorylation of p38, resulting in further inflammatory cell activation and cytokine/chemokine production. The aim of this study was to determine the chronic expression of Galectin-3 in the spinal cord after injury, as well as determine the effects of Galectin-3 inhibition on functional and histological markers of recovery. Mice were subjected to moderately-severe contusion SCI at T9, with and without administration of the Galectin-3 inhibitor, modified citrus pectin (MCP, 1%, in the drinking water). Immunohistochemistry and Western blotting demonstrated that Galectin-3 was significantly up-regulated in injured mouse spinal cord from 7 days through 4 months post-injury. Functional assessment of the mice that received MCP administration revealed a significant improvement in BMS motor scores at 21 and 28 days post-injury, in comparison to vehicle-treated mice. To further investigate the role of Galectin-3 in SCI and inflammation, primary microglia cultures were used to assess the effects of MCP administration. MCP pre-treatment resulted in significant reductions in nitric oxide production, reactive oxygen species production and proliferation in response to stimulation with lipopolysaccharide (LPS). These studies support the role of Galectin-3 as a pro-inflammatory and potentially neurotoxic protein in the injured spinal cord, and suggest that inhibition of Galectin-3 activity may improve functional recovery after injury.

P376

EFFECTS OF BFGF INCORPORATED GELATIN HYDROGEL AND BONE MARROW STROMAL CELL-DERIVED NEURAL PROGENITOR CELL TRANSPLANTATION IN A RAT SPINAL CORD CONTUSION MODEL.
Masayuki Hashimoto¹, Takeo Furuya¹, Masao Koda¹, Koichi Hayashi¹, Atsushi Murata¹, Akhiko Okawa¹, Mari Dezaawa¹, Yasuhiko Tabata¹, Kazuhisa Takahashi¹, Masashi Yamazaki¹

¹Chiba University, Graduate School of Medicine, Chiba, Japan, ²Tohoku University, Graduate School of Medicine, Sendai, Japan, ³Kyoto University, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto, Japan

In the previous meeting, we presented "Effects of bFGF incorporated gelatin hydrogel transplantation in a rat spinal cord contusion model." In that presentation, we compared locomotor score and histological difference among bFGF incorporated gelatin hydrogel, gelatin hydrogel and saline injection. Although BBB score was better in bFGF group and Gel group than Saline control, it did not reach statistical significance. bFGF group showed significantly less neuropathic pain or sensory abnormality than saline group at 7 weeks.

We hypothesized that bFGF incorporated gelatin hydrogel is not enough to show significant locomotor recovery than controls. In the present study, we transplanted bFGF incorporated gelatin hydrogel and Bone marrow stromal cell-derived neural progenitor cells (BMSC-N) on rat injured spinal cords. Adult female Sprague-Dawley rats were subjected to be a spinal cord contusion injury at T10 vertebral level using IH impactor (200Kdyn). One week after contusion, gelatin hydrogel containing bFGF (20µg) and BMSC-N was injected into the lesion center (BMSC-N group). Only gelatin hydrogel containing bFGF (bFGF group) was designated as a control. Locomotor recovery was assessed using BBB score for 11 weeks. Neuropathic pain or sensory abnormality of rat hind paws were evaluated with thermal nociceptive thresholds and mechanical withdrawal thresholds at 11 weeks. At 11 weeks after spinal cord injury, BMSC-N was survived around the cavity of the injured spinal cords. BBB score and sensory tests showed no statistical significant difference between BMSC-N and bFGF groups.

P378

DIFFERENCES IN RESPONSIVENESS TO EXERCISE AFTER TBI IN IMMATURE AND ADULT RATS

David Garfinkel¹, Grace Griesbach, S., Yan Cai, Christopher Giza, C., David Hovda, A.

¹UCLA, Los Angeles, CA, United States

Voluntary exercise, when appropriately timed after traumatic brain injury (TBI), has proven to restore hippocampal brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in adult rats and shift cognitive performance toward baseline. It is known that expression of BDNF and experience-dependent neuroplasticity show changes across development. The present study seeks to determine if the developing brain will respond similarly to post-injury exercise, or if different neural mechanisms are present in the rat pup. Adult rats and postnatal day 19 (P19) pups were housed without (sedentary - SED) or with access to a running wheel (RW) for 14 days. At the end of this period, hippocampal BDNF was quantified using an enzyme-linked immunosorbent assay. A significant increase (63.3%) in BDNF was found in adult RW rats, as compared to SED rats ($p = .045$), but no RW effect was present in pups ($p = .36$). To evaluate the ramifications of these results in a pediatric TBI model, P19 rats were subject to lateral fluid percussion (FP) or sham injury and housed in RW or SED conditions during post-injury days 1-7. No significant difference in duration of apnea (mean \pm SEM; FP-RW 92 ± 40 sec, FP-SED 91 ± 26 sec) or loss of toe pinch response (FP-RW 128 ± 37 sec, FP-SED 154 ± 51 sec) was observed between FP groups. Rats were then cognitively assessed utilizing the novel object recognition (NOR) task, a behavioral measure of hippocampal-based working memory. Brain regions were harvested immediately following NOR in order to determine BDNF levels. Exercise did not prove to have a significant effect on NOR performance among either the LFP ($p = .71$) or sham ($p = .28$) injured pups in comparison to their sedentary counterparts. No significant correlation was found between time exercised, measured in nightly wheel revolutions per hour, and cognitive (NOR) performance ($R^2 = .074$). Thus, while voluntary exercise may be a viable tool for treatment of TBI in adults it does not appear to have the same therapeutic effect in the rat pup model.

Supported by the UCLA BIRC, NS27544, NS057420, Winokur Family Foundation/Child Neurology Foundation.

P377

FUNCTIONAL TESTING OF CANDIDATE NEUROPROTECTIVE GENES IN VITRO

Deborah Watson¹, Saafan Malik, University of Pennsylvania, Center for Brain Injury and Repair, Philadelphia, PA, United States

Neurotrophin-4/5 (NT-4/5) is a potent neuroprotective agent for hippocampal CA3 pyramidal neurons after experimental traumatic brain injury (TBI). To characterize the mechanism of neuroprotection, we have identified a set of genes which may contribute to hippocampal neuroprotection after TBI. Area CA3 neurons were isolated by laser capture microdissection from brain sections of rats that had received a sham or lateral fluid percussion (LFP) injury followed by infusion of vehicle or NT-4/5 for 30 hr. Genes that were specifically upregulated by neurotrophin infusion after injury were identified by microarray analysis. Validation of the microarray data by PCR was not feasible, since none of six "housekeeping" genes needed for normalization was unchanged by injury (GUSB, GAPDH, RNR, PPIA, ACTB and TBP). Therefore, we developed a method for functional screening of candidate genes in vitro, which can be extended to later in vivo experiments. Recombinant adeno-associated viral vectors are used to deliver the gene of interest to primary cultures of hippocampal neurons. Transduction levels are typically over 90% and expression is stable for weeks in vitro. We measure the protection conferred by each gene against an excitotoxic concentration of glutamate (see Royo et al, Brain Research 1190:15-22, 2008). In this assay, NT-4/5 and one of the downstream effectors identified by our assay, thyrotropin releasing hormone, were potent neuroprotective. We will present the results from testing of additional candidate neuroprotective genes in this ongoing study. Genes that are protective individually or in combination will be evaluated in a later in vivo study using the same viral vector to transduce hippocampal pyramidal neurons. Our overall goal is to identify downstream factors that could be delivered at delayed times (hours to days) after the injury.

Grant Support: NIH NS040978.

P379

EXAMINATION OF THE USE OF A BIOENGINEERED HYDROGEL CONTAINING HYALURONAN TO IMPROVE THE OUTCOME OF POST TRAUMATIC SYRINGOMYELIA IN RATS

James Austin¹, Catherine Kang², Lisa DiDiodato⁴, Douglas Baumann³, Greg Skains², Molly Shoichet², Michael Fehlings², ¹Toronto Western Research Institute, Toronto, ON, Canada, ²Institute of Biomaterials and Biomedical Engineering, Toronto, ON, Canada, ³Sunnybrook Health Sciences Centre, Toronto, ON, Canada

Rationale and Overall Objective: Post traumatic syringomyelia (PTS) occurs in approximately 25% of spinal cord injury cases and is characterized by the formation of a syrinx causing segmental pain, weakness, and spasticity. PTS is thought to occur due to scarring of the subarachnoid space leading to increased CSF flow into the injured spinal cord cavity. We hypothesize that an injectable blend of hyaluronan (HA) and methyl cellulose (MC; HAMC) will reduce the development of PTS in rats. The proposed therapeutic use of HAMC to treat PTS is based on the extensive tissue remodelling and immune modulating properties of HA.

Methods: PTS was induced by subjecting female Wistar rats to a 35 g clip compression injury at T7 followed by an intrathecal injection of kaolin to cause arachnoiditis and scarring. The HAMC hydrogel, or aCSF control, was injected intrathecally 24 hours after injury. Neurobehavioural outcome was assessed by examining hindlimb locomotion, motor function, and the incidence of neuropathic pain. Acute cell survival and inflammation were assessed by immunohistochemistry, immunoblotting, and qPCR. Syrinx size was measured with MRI and immunohistochemical methods.

Results: HAMC injection resulted in an improvement in hindlimb locomotor recovery, decreased incidence of neuropathic pain, and reduced size of syrinxes compared to aCSF controls. In acute studies up to a week following injury, HAMC treatment contributed to increased axonal preservation as demonstrated by increased NF200 immunoblot densities 2 days following injury. HAMC did not decrease the proliferation/infiltration of microglia/macrophages or neutrophils but did alter cytokine and growth factor expression. PCR studies demonstrated that HAMC significantly increased gene expression of TGF-beta and MMP-9 2 days following injury. **Conclusions:** Intrathecal HAMC injection has therapeutic potential to treat PTS. Our data suggest that HAMC modulates immune responses and preserves axons acutely following injury. These results further suggest that HAMC has the potential to treat cases associated with arachnoid scarring and, thus, lead to a reduction in the development of post traumatic syringomyelia.

第 24 回
日本整形外科学会基礎学術集会
抄 録 集

The 24th Annual Research Meeting of
the Japanese Orthopaedic Association
ABSTRACTS

会 長 伊 藤 博 元 (日本医科大学整形外科学教室)
会 期 平成 21 年 11 月 5 日(木), 6 日(金)
会 場 パシフィコ横浜(横浜市)

第1日 11月5日(木) B会場 301会議室

9:00~10:00 招待講演 3 座長 馬場 久敏 (福井大整形)

- 1-B-IL3 Advances in the understanding and treatment of early onset scoliosis
Dept. of Pediatric Orthop. Surg., Morgan Stanley Children's Hosp. of New York
 Presbyterian Columbia Univ. Medical Center, New York, NY, USA D.P. Roye, Jr...S1009

10:10~12:00 パネルディスカッション 1 座長 落合 直之(筑波大大学院整形)
 末梢神経再生促進 平田 仁(名大手の外科)

- 1-B-P1-1 bFGFと生体吸収性人工神経を用いた末梢神経再生大阪市大大学院整形 高松 聖仁他...S1010
 1-B-P1-2 神経再生における基底膜の役割社会保険神戸中央病院リハ科 岡島誠一郎他...S1010
 1-B-P1-3 分極処理したセラミックス粉体による神経架橋形成促進国際医療福祉大 伊藤聡一郎他...S1011
 1-B-P1-4 骨髄幹細胞移植した血管含有チューブでのイヌ尺骨神経 30 mm の架橋実験 自家神経移植と
 の比較京大整形/リハ部 柿木 良介他...S1011
 1-B-P1-5 Perineuriumの再生過程と神経機能名大手の外科 山本美知郎他...S1012

12:30~13:30 ヌーンタイムセミナー 2 座長 山下 敏彦(札幌医大整形)

- 1-B-NS2 運動器難治性疼痛と学際的アプローチ愛知医大国際的痛みセンター 牛田 享宏 ...S1013

13:45~14:45 教育研修講演 2 座長 中村 利孝(産業医大整形)

- 1-B-EL2 二関節筋 —運動制御機能特性—京大名誉教授 熊本 水頼 ...S1014

14:50~16:50 パネルディスカッション 2 座長 戸山 芳昭(慶大整形)
 脊髄修復の促進技術 田口 敏彦(山口大大学院整形)

- 1-B-P2-1 脊髄損傷に対する顆粒球コロニー刺激因子の治療効果聖隷横浜病院整形 川辺 純子他...S1015
 1-B-P2-2 ヒト組み換え HGF 蛋白を用いた脊髄損傷治療戦略慶大整形 北村 和也他...S1015
 1-B-P2-3 脊髄損傷におけるグリア前駆細胞の活性化と組織修復
国立リハセンター研究所 緒方 徹他...S1016
 1-B-P2-4 ヒト血管内皮前駆細胞移植による脊髄再生広島大大学院整形 亀井 直輔他...S1016
 1-B-P2-5 コラーゲンフィラメントを用いた脊髄再生の試み —障害脊髄部における局所環境の改善—
山口大大学院整形 鈴木 秀典他...S1017
 1-B-P2-6 脊髄再生における糖鎖の影響名大整形 若尾 典充他...S1017

第1日 11月5日(木) C会場 302会議室

9:00~10:10 一般口演 骨・骨代謝-1 座長 宗園 聡(近畿大奈良病院整形・リウマチ科)

- 1-C-1 マイクロ RNA による骨芽細胞分化の調節東医歯大大学院整形 猪瀬 弘之他...S1018
 1-C-2 脂質ラフトを介した骨芽細胞増殖刺激調節機構の解明北大大学院整形 安倍雄一郎他...S1018
 1-C-3 NF- κ B p65 サブユニットは osterix の発現誘導を介して骨芽細胞機能を制御する
慶大整形 田島 康介他...S1019
 1-C-4 骨芽細胞において Rho-kinase は transforming growth factor- β による VEGF 産生を制御する
名市大大学院整形 夏目 英雄他...S1019
 1-C-5 Raloxifene による骨芽細胞のアポトーシス抑制効果の検討名大整形 加藤 大三他...S1020
 1-C-6 IRAK-4 は IL-1 依存性の NF- κ B シグナルを介して、骨芽細胞における RANKL 発現および破骨細胞
 の成熟・延命を促進する慶大整形 古川 満他...S1020
 1-C-7 骨芽細胞においてカテキンは PDGF-BB による IL-6 産生を抑制する
名市大大学院整形 水谷 潤他...S1021

1-B-P2-1

脊髄損傷に対する顆粒球コロニー刺激因子の治療効果

川辺 純子¹ 国府田 正雄² 門田 領³ 西尾 豊⁴
橋本 将行⁴ 藤由 崇之⁴ 古矢 文雄⁴ 遠藤 友規⁴
大河 昭彦⁴ 高橋 和久⁴ 山崎 正志⁴

【目的】顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)は造血系細胞の成長因子で、近年その神経保護効果が報告され、脊髄損傷への効果が期待されている。今回私たちは、G-CSFの脊髄損傷に対する治療効果と、臨床応用へ向けた今後の課題を検討したので報告する。

【方法・結果】①放射線照射したマウスに green fluorescent protein (GFP) transgenic mouse の脊髄細胞を注入(脊髄キメラマウス)。脊髄圧挫損傷モデルを作成し、G-CSF 投与。行動学的評価と組織学的検討を行った。G-CSF により、脊髄由来細胞の損傷部への動員が誘導され、その一部はアストロサイトやオリゴデンドロサイトに分化していた。また、有意な行動改善が見られた。

②グルタミン酸刺激で、培養ニューロンの細胞死を誘導、G-CSF 添加による細胞死抑制効果を検討した。また、マウス・ラット脊髄圧挫損傷モデルを作成し、残存神経細胞数・髄鞘面積を比較した。G-CSF により、ニューロン・オリゴの細胞死は有意に抑制され、脊髄切片では残存神経細胞数・髄鞘面積は有意に増加していた。また、有意な行動改善も見られた。③ラット脊髄圧挫損傷モデルを用いて G-CSF 投与による血管系に対する効果を検討。血液脊髄関門に対する効果を比較するため、脊髄内水分含有量、蛍光色素血管外漏出量を測定した。また脊髄横断切片での新生血管数を免疫組織学的に検討した。G-CSF 投与による脊髄内水分含有量・蛍光色素血管外漏出量は有意差はなく、新生血管数は増加した。血管新生促進サイトカインの増加も見られ、G-CSF はサイトカインを介し間接的に血管新生を促進し、二次損傷拡大を抑制することが示唆された。

【考察】脊髄損傷において G-CSF は骨髄由来細胞の動員・遊走促進効果、ニューロン、オリゴの細胞死抑制効果、血管新生効果などさまざまな作用を介し神経保護効果を発揮することが示された。今後、脊髄損傷患者に使用した際の安全性を中心に臨床試験を継続していく予定である。

¹聖隷横浜病院整形 ²千葉市立青葉病院整形 ³沼津市立病院整形 ⁴千葉大大学院整形

1-B-P2-2

ヒト組み換え HGF 蛋白を用いた脊髄損傷治療戦略

北村 和也¹ 藤吉 兼浩¹ 山根 淳一¹ 足島 啓吾²
豊田 文香² 岩波 明生³ 船越 洋³ 中村 敏一³
岡野 栄之⁴ 戸山 芳昭¹ 中村 雅也¹

【目的】脊髄損傷に対するヒト組み換え HGF 蛋白(rhHGF)の有効性と安全性を確立することである。

【方法】①コモンマーモセット第5頸椎高位に脊髄圧挫損傷を作製し、直後より rhHGF 400 μg を髄腔内に4週間持続投与し(対照群 PBS)、術後12週間の運動機能評価(bar grip test, open field scoring)を行った。損傷後1・3・12週に頸椎 MRI を撮像した後に組織学的評価を行った。②ラット第10胸椎高位に脊髄圧挫損傷を作製し損傷直後から rhHGF 200 μg を、または損傷後4日から rhHGF 8, 40, 200 μg を髄腔内に2週間持続投与した(対照群 PBS)。6週間の運動機能評価後に組織学的評価を行い、rhHGF の therapeutic time window および最小有効濃度を検討した。

【結果】①サルの rhHGF 投与群で有意な運動機能回復が認められた。異常行動は認めなかった。損傷後12週目の MRI 像では異常信号(T1 low, T2 high)領域が rhHGF 投与群で著明に縮小しており、組織像(HE 染色, LFB 染色)を反映していた。皮質脊髄路を示す CaMK2α 陽性線維が損傷尾側においても有意に保たれていた。また、灰白質第3層における CGRP 陽性線維の分布に両群間で有意な差を認めなかった。腫瘍形成は認めなかった。②ラットに対しては損傷直後から rhHGF を投与した群のみならず、4日から rhHGF を投与したいずれの群においても対照群に比べ有意な運動機能回復が得られた。

【考察・結論】rhHGF の髄腔内投与により霊長類脊髄損傷に対して著明な治療効果が得られた。また異痛症や腫瘍形成を認めず、安全性についても確認できた。さらにラットを用いた検討からは、損傷後4日目からより低濃度の rhHGF を投与しても有効な治療効果が得られることが明らかとなった。本研究結果は rhHGF を用いた脊髄損傷治療法が臨床応用へ結びつく可能性を示すものと考えている。

¹慶大整形 ²実験動物中央研究所 ³阪大大学院分子再生医学 ⁴慶大生理学

1-E-13

c-Mycを除いたマウス3因子iPS細胞由来神経幹細胞を用いた脊髄損傷治療

辻 取彦¹ 三浦 恭子² 藤吉 兼浩¹ 向野 雅彦³
 名越 慧人¹ 熊谷 玄太郎⁴ 山中 伸弥² 岡野 栄之³
 戸山 芳昭¹ 中村 雅也¹

【目的】自家組織由来の幹細胞供給源として人工多能性幹細胞(以下iPS細胞)が現在注目を集めている。昨年の本学会でわれわれは、山中4因子を導入しNanog遺伝子により選択され樹立されたマウスiPS細胞由来神経幹細胞(NSC)移植の脊髄損傷に対する有効性を報告した。本研究の目的は、さらに安全性を高めるために癌遺伝子であるc-Mycを除いた3因子により樹立されたiPS細胞(Nanog 3F-iPS細胞)、さらに樹立の際に薬剤選択を行わないiPS細胞(w/o selection 3F-iPS細胞)由来NSC移植の脊髄損傷に対する有効性と安全性を検証することである。

【方法】① *in vitro*: Nanog-3F-iPSおよびw/o selection-3F-iPS細胞からNSCを誘導し、さらに最終分化誘導を行いそのphenotypeを調べた。② *in vivo*: マウス第10胸髄高位に圧挫損傷を作製し、損傷後9日に損傷中心部に各iPS-NSCを 5×10^5 個移植した。対照群では培養液を同様の方法で注入した。運動機能はBasso Mouse Scaleを用いて評価した。6週後に病理学的検討も併せて行った。

【結果】① *in vitro*: Nanog-3F-およびw/o selection-iPS-NSCは神経系3系統に分化した。② *in vivo*: Nanog-3F-およびw/o selection-iPS-NSC群は移植後4週目までは対照群より有意に良好な下肢機能の改善がみられたが、移植後6週目にはw/o selection-3F-iPS-NSC群では得られていた機能回復が急速に減衰した。病理学的評価によりNanog-3F-iPS-NSC群では全く腫瘍形成は認めなかったが、w/o selection-3F-iPS-NSC移植群では全例において奇形腫の形成を認めた。

【考察】現段階では最も安全であり臨床応用への可能性が高いと思われていたw/o selection-3F-iPS-NSC群は予想に反して全例において腫瘍化を認めたことから、iPS細胞の樹立方法、分化誘導法、非腫瘍化細胞の選別方法など安全面のさらなる探求が必須であることが示唆された。

¹慶大整形 ²京大再生研 ³慶大生理 ⁴弘前大整形

1-E-14

ラット脊髄損傷に対する人工多能性幹(iPS)細胞由来astrocyte移植効果の検討

林 浩一 橋本 将行 山崎 正志 大河 昭彦
 国府田 正雄

【目的】iPS細胞は体細胞から作成することが可能であること、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うる可能性がある。Neural Stem Sphere(NSS)法はES細胞コロニーから周囲にneural stem cell(NSC)を分化、遊走させる方法であり、iPS細胞への応用も期待されている。脊髄損傷においてAstrocyteは瘢痕組織を取り囲み健常組織への炎症の波及を防ぐといった有益な面も報告されている。本実験の目的はNSS法によって作成したiPS細胞由来Astrocyteをラット脊髄損傷に移植、効果を検討することである。

【方法】マウスiPS細胞をフィーダー細胞上で培養、直径300-500 μ m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NSCを回収し、継代・増殖させた。P3-P5のNSCを10%FBS存在下にAstrocyteへ分化させた。10万個/5 μ lのiPS細胞由来Astrocyteをラット脊髄損傷3日後に移植した。対照群としてDMEMの注入を行った。サイクロスポリンを移植後2週間両群に注射投与し、その後は飲料水に混入投与した。行動評価としてBBB score、痛覚評価を行う予定である。

【結果】NSS周囲に遊走したNSCは、Nestin陽性であり、未分化性を保ったまま継代・増殖させることと凍結保存が可能であった。NSCを10%FBS存在下においてGFAP、S100陽性のAstrocyteに選択的に分化誘導した。ACM+bFGF存在下においてはTuj1、NF200、MAP2陽性の神経細胞へ分化した。T3存在下にO4、GalC陽性のオリゴデンドロサイトに分化させることも可能であった。

【結論】マウスiPS細胞の分化誘導に対してNSS法を応用、得られたNSCを接着培養し神経系細胞に分化させた。

千葉大学大学院整形



第44回日本脊髄障害医学会

The 44th Annual Meeting of Japan Medical Society of Spinal Cord Lesion

プログラム・抄録集

会期:2009年11月12日(木)~13日(金)

会場:東京国際フォーラム

会長:野原 裕 (獨協医科大学医学部整形外科学)

同時開催:第18回日本脊椎インストゥルメンテーション学会



1-1-03 急性脊髄損傷に対して顆粒球コロニー刺激因子投与(G-CSF)を施行した臨床試験例の検討

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

千葉大学医学部整形外科¹、千葉市立青葉病院²

○高橋 宏¹、佐久間 毅¹、林 浩一¹、大河 昭彦¹、
國府田正雄²、山崎 正志¹

【目的】メチルプレドニソロンに変わる新たな急性期脊髄損傷治療薬の開発を目的とした。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、安全性確認を主目的とするphase I・IIa臨床試験を開始した。【方法】平成20年4月以降に千葉大学病院に搬送された急性期脊髄損傷患者5例に対し、本人の自由意志による文書同意を得た後、G-CSF 5 μ g/kg/dayを連続5日間点滴静注投与した。投与後の有害事象を確認し、運動・感覚麻痺の推移、血液・画像所見の評価を行った。【結果】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。白血球数は投与開始の翌日には19400以上に上昇し、投与期間中は25200~35800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。

Keyword：脊髄損傷 (spinal cord injury)、顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF)、臨床試験 (clinical trial)

1-1-04 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

Neuroprotective therapy with granulocyte colony-stimulating factor for rapidly progressing compression myelopathy

千葉大学大学院医学研究院整形外科¹、千葉市立青葉病院²

○佐久間 毅¹、高橋 宏¹、林 浩一¹、大河 昭彦¹、
國府田正雄²、山崎 正志¹

【目的】圧迫性脊髄症の急性増悪には脊髄内部での神経・グリア細胞の細胞死の関与が論じられている。我々はG-CSFの脊髄損傷治療に対する有効性について検討してきたが、これまでのデータからG-CSFが圧迫性脊髄症急性増悪期においても神経保護作用を有することが示唆された。そこで、今回、圧迫性脊髄症急性増悪に対する治療薬としてのG-CSFの有効性・安全性を検討する目的で臨床試験を開始した。【方法】圧迫性脊髄症急性増悪例5例に対し、本人の自由意志による文書同意を得た後、G-CSF 5 μ g/kg/dayを連続5日間点滴静注投与した。投与後の有害事象を確認し、運動・感覚麻痺の推移、血液・画像所見の評価を行った。【結果】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。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。

Keyword：脊髄損傷 (spinal cord injury)、G-CSF (G-CSF)、脊髄症 (myelopathy)

1-2-01 ラット脊髄損傷に対する人工多能性幹 (iPS) 細胞由来Astrocyte 移植効果の検討

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

千葉大学大学院医学研究院整形外科¹、千葉市立海浜病院整形外科²、千葉市立青葉病院整形外科³

はやし こういち
○林 浩一¹、橋本 将行²、国府田正雄³、大河 昭彦¹、
山崎 正志¹

【目的】マウスiPS細胞由来Astrocyteをラット脊髄損傷に移植し、その効果を検討すること。【方法】マウスiPS細胞をNeural Stem Sphere (NSS)法にて、Nestin陽性の神経幹細胞 (NSC) に分化誘導し、P3-5のNSCを10% FBS存在下にGFAP陽性のAstrocyteへ分化させた。10万個/5 μ lのiPS細胞由来Astrocyteをラット脊髄圧挫損傷3日後に移植した (N=20)。対照群にはDMEMの注入を行った (N=10)。両群にサイクロスポリンを終始投与した。行動評価 (BBB score、行動解析装置SCANET-40、Inclined plane test) と感覚評価を行った。【結果】全ての行動評価とThermal hyperalgesia testには有意差はなかった。Mechanical allodynia testにおいて、移植群は逃避行動までの反応時間が有意に短かった。現在、組織学的検討を行っている最中である。

Keyword: 脊髄損傷 (spinal cord injury)、アストロサイト (astrocyte)、移植 (transplantation)

1-2-02 脊髄損傷ラットの下部尿路機能に対するイミダフェナシンの効果

Effect of imidafenacin on the lower urinary tract function in rats with spinal cord injury

東芝病院泌尿器科¹、熊本大学大学院医学薬学研究部泌尿器病態学分野²、
東京大学医学系大学院泌尿器外科学³

ながた たかし
○永田 卓士¹、吉田 正貴²、榎永 浩一²、朝蔭 裕之¹、本間 之夫³

【目的】近年各種の新規抗コリン薬が登場し、その選択性は広がっている。今回我々は脊髄損傷ラットモデルを用いて、下部尿路機能に対するイミダフェナシンの効果について検討した。【方法】脊髄損傷ラットを作成し、麻酔下に膀胱内に生理食塩水を注入しながら膀胱内圧を測定した。イミダフェナシンは0.01、0.03、0.1、0.3 mg/kgの各濃度を静脈内に累積投与し、シストメトリーの各パラメータの変化を比較検討した。【結果】脊髄損傷ラットでは排尿間隔の短縮、1回排尿量の減少、排尿時膀胱内圧の増加を認め、またnon-voiding contraction (NVC) が観察された。イミダフェナシン (0.3 mg/kg) の投与により排尿間隔は有意に延長し、NVC回数は減少傾向であったが、排尿時膀胱内圧に有意な変化は認められなかった。【結論】イミダフェナシンは神経因性の排尿筋過活動を抑制し、脊髄損傷における頻尿や尿失禁に有効な薬剤であることが示唆された。

Keyword: イミダフェナシン (Imidafenacin)、シストメトリー (Cystometry)、
脊髄損傷 (Spinal Cord Injury)

1-2-05 慢性期脊髄損傷に対する活性化マクロファージ移植の治療効果

Transplantation of activated macrophage for chronic spinal cord injury promotes functional recovery

千葉市立青葉病院整形外科¹、千葉大学大学院医学研究院整形外科²、千葉市立浜浜病院整形外科³

こうだ まさお
○國府田正雄¹、林 浩一²、橋本 将行³、大河 昭彦²、
山崎 正志²

【目的】脊髄損傷慢性期には損傷部にグリア瘢痕が形成され再生に対して非許容的な環境となっている。活性化マクロファージは食食作用・神経栄養因子の分泌などによりこの非許容的環境を許容的環境へと誘導しうる可能性があると考え、移植実験を行った。【方法】マクロファージは骨髄より採取培養し、活性化にはインターフェロナーによる刺激を用いた。成SDラットにIH impactorをもちいて脊髄圧挫損傷を作成、4週後に活性化マクロファージを損傷部に直接注入した。移植後8週間、BBB locomotor scaleにて後肢運動機能回復を評価、知覚機能も評価した。皮質脊髄路トレーニング・免疫染色などにて組織評価を行った。【結論】活性化マクロファージ移植は慢性期脊髄損傷に対して有効な治療法となりうる可能性が示唆された。

Keyword：脊髄損傷 (spinal cord injury)、マクロファージ (macrophage)、機能回復 (functional recovery)

1-2-06 慢性圧迫性脊髄障害におけるautophagy誘導蛋白Beclin1の発現と凝集蛋白p62の蓄積

Chronic mechanical spinal cord compression induces accumulation of aggregate protein and up-regulation of autophagy

鹿児島大学大学院運動機能修復学講座整形外科¹、鹿児島大学医学部保健学科臨床理学療法²

たなべ ふみと
○田邊 史¹、松田 史代²、川畑 直也¹、小宮 節郎¹、
米 和徳²

オートファジーは、凝集した蛋白を分解する機構で、特に神経系でホメオスタシス維持に重要とされる。Beclin1は、その実行に中心的に関与する。近年、ポリユビキチン化蛋白と結合し、オートファジー経路で分解されるp62が報告された。靭帯骨化症モデルを用い、慢性圧迫性脊髄障害におけるオートファジー、凝集蛋白について検討した。TWYマウス(麻痺あり)、ICRマウス(麻痺なし)を用い、Beclin1,p62の免疫染色を行った。Beclin1は、ICRでは均一に発現し、TWYの最狭窄部で発現が上昇していた。(TWY 59.2±14.0, ICR 34.7±5.11) p62は、TWYの最狭窄部で、有意に上昇していた。(TWY 1.22±0.34, ICR 0.11±0.09) 神経変性高度部位で凝集蛋白の蓄積がみられ、オートファジーの発現が上昇していた。一方、正常脊髄では、オートファジーは均一に発現し、凝集蛋白の蓄積は認めなかった。オートファジーを制御することで、神経変性を予防する可能性が示唆された。

Keyword：オートファジー (autophagy)、ベクリン1 (Beclin1)、p62 (p62)

THIRTY-SEVENTH ANNUAL MEETING

OF THE

CERVICAL SPINE RESEARCH SOCIETY



FOUNDED 1973

December 3–5, 2009

Grand America Hotel
Salt Lake City, Utah

www.csrs.org

Neuroprotective Effects of Granulocyte Colony-Stimulating Factor (G-CSF) on the Injured Spinal Cord: Experimental Studies and its Early Clinical Trial

Masashi Yamazaki, MD, PhD, Chiba, Japan (n);

Masao Koda, MD, PhD, Chiba, Japan (n);

Junko Kawabe, MD, PhD, Chiba, Japan (n);

Koichi Hayashi, MD, Chiba, Japan (n);

Tsuyoshi Sakuma, MD, Chiba, Japan (n);

Hiroshi Takahashi, MD, Chiba, Japan (n);

Akihiko Okawa, MD, PhD, Chiba, Japan (n)

Introduction: Recent reports have shown that G-CSF, one of hematopoietic growth factors, has neuroprotective effects on experimental spinal cord injury (SCI), though the detailed mechanisms remain to be elucidated. Because the process of angiogenesis correlates with neural regeneration after SCI, we hypothesized that G-CSF displays the neuroprotective effects via enhancement of angiogenesis. In the present study, we analyzed the effects of G-CSF on vascular system after experimental SCI. Based on the results, we started its early clinical trial.

Methods: (Study 1) We produced contusive SCI model in rats, and divided them to G-CSF treated group (15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v. for 5days after SCI) and control group. For the 2 groups, we evaluated (1) integrity of blood spinal cord barrier, (2) histology of revascularization, (3) RT-PCR for angiogenic cytokine, and (4) recovery of motor function.

(Study 2) We performed a Phase I/II clinical trial of G-CSF administration (5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v. for 5days) in 5 patients with acute SCI and 5 patients with severe compression myelopathy. To address the safety and feasibility, we assessed general conditions and neurological condition of patients by blood data, CT, MRI, and neurological examination.

Results: (Study 1) In the G-CSF group, the number of vessels was larger than that in the control group ($p < 0.01$). Expression of angiogenic cytokines in the G-CSF group was significantly higher than that in the control group ($p < 0.01$), and the G-CSF group showed significant recovery of hind limb function compared to that of the control group ($p < 0.01$).

(Study 2) All 10 patients showed a certain degree of neurological recovery without any serious side effects.

Discussion/Conclusion: In the present study, G-CSF exerts neuroprotective effects via promoting angiogenesis after experimental SCI, suggesting that G-CSF is an attractive candidate for therapeutic drug for acute SCI. Prior to the clinical trial of G-CSF, we planned to start the trial with the administration of low-dose G-CSF (5 $\mu\text{g}/\text{kg}$) to confirm the safety of this drug. In the early clinical trial, no serious side effect occurred, indicating that this low-dose G-CSF administration is principally safe. In addition, a certain neurological recovery was obtained in all the patients even after the low-dose administration. Further clinical trials with high-dose administration of G-CSF (15 $\mu\text{g}/\text{kg}$) will be required to establish the G-CSF therapy for patients with damaged spinal cord.

第9回 日本再生医療学会総会

会 期：2010年3月18日(木)・19日(金)

会 場：広島国際会議場

〒730-0811 広島市中区中島町1番5号

TEL：082-242-7777

URL：<http://www.pcf.city.hiroshima.jp/icch/>

テーマ：フェニックスー次世代の再生医療へー

会 長：越智 光夫

(広島大学大学院 整形外科学)

事務局：広島大学大学院整形外科学

〒734-8551 広島市南区霞1-2-3

電話：082-257-5232

E-mail：9jsrm@convention.co.jp

学会ホームページ：<http://www2.convention.co.jp/9jsrm/>

口演30 神経(脊髄)

座長: 国府田正雄 (千葉市立青葉病院 整形外科)

- 1 外傷性脊髄損傷運動機能障害に対するNano PGE1製剤の治療効果
武永美津子 (聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター)
- 2 ラット脊髄損傷に対するマウス人工多能性幹 (iPS) 細胞由来Astrocyte移植効果の検討
林 浩一 (千葉大学大学院 医学研究院 整形外科)
- 3 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-
高橋 宏 (千葉大学大学院 医学研究院 整形外科)
- 4 脊髄損傷における自己修復機構-内在性シュワン細胞の寄与-
名越慈人 (国立病院機構 村山医療センター 整形外科, 慶應義塾大学医学部整形外科, 慶應義塾大学医学部生理学)
- 5 脊髄損傷後の皮質脊髄路軸索再生へ向けた新たなstrategy-neuron intrinsic signalとしてのJnk/STAT3活性化
金子慎二郎 (国立病院機構村山医療センター 整形外科, 慶應義塾大学医学部整形外科, ハーバード大学医学部)
- 6 Activin/TGFβ signalによるDRG neuronの軸索伸長/再生能の制御-target/皮膚に由来するsignalの関与-
金子慎二郎 (国立病院機構村山医療センター 整形外科)
- 7 慢性脊髄圧迫モデル(mv/mv)に対する神経栄養因子遺伝子導入によるapoptosis抑制・neurtin伸長効果
中嶋秀明 (福井大学 医学部 器官制御医学講座 整形外科学領域)
- 8 脂肪組織を利用した外傷性脊髄損傷治療の試み
太田有紀 (聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター)

O-30-2 ラット脊髄損傷に対するマウス人工多能性幹 (iPS) 細胞由来Astrocyte移植効果の検討

林 浩一¹, 橋本将行², 国府田正雄³¹千葉大学大学院 医学研究院 整形外科学, ²千葉市立海浜病院 整形外科, ³千葉市立青葉病院 整形外科

【背景】Neural Stem Sphere (NSS) 法はES細胞から効率よく神経幹細胞を分化でき、iPS細胞への応用が期待される。脊髄損傷においてAstrocyteは、グリア瘢痕を形成し軸索再生を阻害するが、炎症の拡大を防ぐ有益な面もある。マウスiPS細胞よりNSS法を用いて分化誘導したAstrocyteを、ラット脊髄損傷モデルに移植し、その効果を検討した。【方法】8週齢雌性SDラットの第9-10胸椎レベルに、IH Impactorにて脊髄損傷を作成し、3日後に10万個のiPS細胞由来Astrocyteを髄注 (N=20)。対照群にはDMEMを髄注した (N=10)。行動評価としてBBB score, Inclined plane test, SCANET-40、アロディニアの評価としてThermal hyperalgesia test, Mechanical allodynia testを行った。組織学的検討として残存髄鞘量、Astrocyte量、疼痛ベータド量を計測した。【結果】作成した神経幹細胞は、継代・凍結保存が可能で、Astrocyteに選択的に分化した。bFGF存在下にNeuronへ、T3存在下にOligodendrocyteへ分化させることも可能であった。Astrocyte移植群に有意な運動機能回復はなく、かつアロディニアが増強した。組織学的検討では両群間に有意差はなかった。【考察】NSS法は、iPS細胞からの神経系細胞分化に有用である。Astrocyte単独移植では運動機能回復効果が不十分であると考えられた。アロディニアの発生機序に、Astrocyteを含むグリア細胞の活性化の関与が考えられている。

O-30-1 外傷性脊髄損傷運動機能障害に対するNano PGE1製剤の治療効果

武永美津子¹, 石原 務², 太田有紀¹, 都倉享恵¹, 濱口明美¹, 五十嵐理恵¹, 水島 徹²¹聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター, ²熊本大学大学院 医学薬学研究所

脊髄損傷疾患へのHGF投与は、新生血管形成作用が一因となって治療効果を発揮すると報告されている。血管新生誘導作用、血流改善作用をもつ生理活性物質にProstaglandin (PGE)がある。本研究では徐放性や滞留性を獲得した新規Nano PGE製剤の本疾患に対する効果を体内動態とあわせて検討した。【方法】雌性ラットT10位の脊髄に重წწ落下 (10g, 2.5cm)法で損傷モデルを作製し、Nano PGE製剤を損傷30分後半投与 (1あるいは5μg/kg)した。後肢運動機能をBasso Beattie Bresnahan (BBB)スコアで経時的に評価し、損傷脊髄での薬剤動態およびヘモグロビン値を測定した。【結果および考察】Nano PGE投与群の後肢運動機能は、損傷2-3日目でコントロール群に比べ有意に改善し、以降観察期間中有意差がみられた。Nano PGEの損傷脊髄への移行は、健常動物への同用量投与後の脊髄PGE値に比べ20~80倍高く、しかも滞留性が認められた。損傷に伴う血管透過性の亢進がNano PGEの高い移行性および滞留性をもたらしたと考えられる。また損傷7日目のヘモグロビン値は、Nano PGE投与群で高い傾向を示した。集積したnanoparticleから徐々にPGEを放出したことが損傷部位周辺の新生血管形成や血行障害改善作用を導き、これらが残存した神経細胞の生存維持や神経修復に寄与して治療効果につながったと推察された。

O-30-3 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-

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, 千葉大学大学院 医学研究院 整形外科学

【目的】メチルプレドニソロンに変わる新たな急性期脊髄損傷治療薬の開発を目的とした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、安全性確認を主目的とするphase I, IIa臨床試験を開始した。【方法】平成20年4月より平成21年9月に当院に搬送された急性脊髄損傷患者6例に対し、本人の自由意志による文書同意を得た後、G-CSF 5μg/kg/dayを連続5日間点滴静注投与した。投与後の有害事象を確認し、副作用の確認の血液検査を行い、運動・感覚麻痺の推移の評価を行った。【結果】白血球数は投与前平均10.6±2.5 (×10³/μl) に比し、投与前翌日には30.3±4.9 (×10³/μl) と投与前より上昇し (p<0.01) 投与期間中は高値を維持し、投与後7日目は投与前の値に戻った。好中球数も投与前平均7.87±2.0 (×10³/μl) に比し、投与開始翌日には25.8±5.9 (×10³/μl) と増加し (p<0.01)、投与期間中は高値を維持し、最終投与翌日には投与前の値に戻った。CRPその他検査値に投与による変化はなく、その他有害事象の発生はなかった。神経所見は投与後に程度の差はあるが全例で運動・感覚麻痺の改善が得られた。【考察】急性脊髄損傷に対するG-CSFを用いた神経保護療法の臨床試験を初めて行い、今回の投与量では有害事象の発生はなかった。安全性が確認された後、治療効果の評価を目的とする臨床試験phase IIbに進み、脊髄損傷治療におけるG-CSF神経保護療法の有用性を実証したい。

Journal of Spine Research

Official Journal of the Japanese Society for
Spine Surgery and Related Research

第39回日本脊椎脊髓病学会抄録集 I

The 39th Annual Meeting of
the Japanese Society for Spine Surgery and Related Research

Vol.1 No.3

March 2010



会 長：谷 俊一(高知大学医学部整形外科)

会 期：2010年4月22日(木)・23日(金)・24日(土)

開催地：高知市

急性脊髄損傷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の検討

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

【目的】脊髄損傷急性期の二次損傷を軽減するための治療として、現在唯一臨床使用されている薬剤はメチルプレドニゾロンである。しかし、近年その効果を疑問視する報告が散見され、さらに呼吸器、消化器系への副作用が高率に発生するため、代替薬の必要性が高まっている。顆粒球コロニー刺激因子 (Granulocyte colony stimulating factor: G-CSF) は白血球系細胞の増殖因子であるが、中枢神経系においても神経保護作用を有するという報告がある。我々は脊髄損傷に対してG-CSF投与による神経保護効果が期待できると考え、脊髄損傷動物モデルにおいて検討を進めてきた。そして、G-CSFの作用機序について、動員された骨髄由来細胞が脊髄損傷部に生着する、直接的にアポトーシスを抑制する、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発現を抑制する、血管新生を促進する、等の結果を得た(Brain Res 1149:223,2007, J Neuropathol Exp Neurol 66:724,2007)。これらの根拠から、我々は急性期脊髄損傷に対するG-CSF投与臨床試験を院内治験審査委員会に申請し承認された。今回は、臨床試験例の初期例について報告する。

【対象および方法】平成20年6月より平成21年9月までに当院で加療した急性期脊髄損傷患者6例を対象とした。本人の自由意志による文書同意を得た後、G-CSF 5 μ g/kg/日を連続5日間、点滴静注した。受傷時年齢は平均55.5歳、経過観察期間は平均6.5ヵ月であった。安全性を考慮する為、本剤過敏症をもつ患者、造血系悪性疾患、心筋梗塞・狭心症、血栓・塞栓症の既往を有する患者、脾腫を有する患者、来院時意識障害のある患者、妊婦は除外基準とした。血液検査にて副作用の確認を行い、運動・感覚麻痺の推移を確認し、American Spinal Injury Association (ASIA) score, ASIA impairment scale (AIS) で評価した。

【結果】白血球数は、投与前が 10.6 ± 2.8 ($\times 10^3/\mu$ l)であったのに比し、投与翌日には 31.0 ± 5.3 ($\times 10^3/\mu$ l)と有意に上昇し ($p < 0.01$)、以降5日目まで $21.2 \sim 41.6$ ($\times 10^3/\mu$ l)と高値を維持し ($p < 0.01$)、投与6日目には白血球数は低下し始め、投与7日目には 11.9 ± 2.9 ($\times 10^3/\mu$ l)と投与前と同様の値に戻った。また、白血球分画のうち好中球数も、投与前が 7.5 ± 2.3 ($\times 10^3/\mu$ l)であったのに比し、投与翌日より 27.3 ± 5.7 ($\times 10^3/\mu$ l)と有意に上昇し ($p < 0.01$)、以降5日

目まで高値を維持し ($p < 0.01$)、投与6日目には 10.2 ± 1.6 ($\times 10^3/\mu$ l)と投与前と同様の値に戻った。一方、他の白血球分画、赤血球数、血色素数、血小板数、CRPその他の生化学検査では投与に伴う変化はなかった。有害事象の発生は投与期間中および投与後に認めなかった。神経症状に関しては、ASIA scoreは投与前に比べて運動、痛覚、触覚いずれも、程度の差はあるが何らかの改善が得られた。AISは、1例で投与前Cであったのが最終観察時D、1例で投与前Bであったのが最終経過観察時Cへ改善した。

【考察】G-CSFの投与により動員される末梢血幹細胞は、急性心筋梗塞、脳梗塞動物モデルにおいて治療効果を有するとの報告がある。これらの分野では、臨床試験がすでに行われており、その安全性、治療効果を支持する報告もある。今回我々は、急性脊髄損傷に対するG-CSFを用いた神経保護療法の臨床試験をはじめて行った。今回の検討は、安全性確認を主目的とするphase I・IIa臨床試験であり、今回の投与量では有害事象の発生はなかった。神経症状についてはG-CSF投与後に全例で何らかの改善が得られた。しかし、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については断定できない。安全性が確認された後、治療効果の評価を目的とする臨床試験phase IIbに進み、脊髄損傷治療におけるG-CSF神経保護療法の有用性を実証したい。

Clinical trial of granulocyte colony-stimulating factor on patients with acute spinal cord injury
H. Takahashi, et al.

Key words : spinal cord injury, granulocyte colony-stimulating factor, neuroprotective therapy

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：Phase I・IIa臨床試験

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

千葉大学医学部附属病院整形外科学, *千葉市立青葉病院, **千葉市立海浜病院

【目的】顆粒球コロニー刺激因子（Granulocyte-colony stimulating factor: 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。G-CSFは白血球減少症や末梢血幹細胞移植ドナーに対して、すでに臨床使用されている。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や、海外では脳梗塞に対する臨床試験が行われている。これらの報告から、脊髄損傷に対してもG-CSFが治療効果を発現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が脊髄損傷に加え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た。以上よりわれわれは、圧迫性脊髄症の急性増悪期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の研究を計画し、G-CSF神経保護療法の安全性確認を主目的とするphase I・IIa臨床試験を計画した。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。

【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、悪性疾患や心疾患および神経症状評価に影響を及ぼしうる疾患を併発している・既往をもつ患者等については除外した。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, ASIA impairment scale (AIS)、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、血液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。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。症例

2、3、4では最終投与の5日後に、症例1および5では投与1ヶ月以降に手術を施行し、最終観察時ではより改善が得られた。末梢血中の白血球数は投与開始後1日目には15200以上に上昇し、投与期間中は15200以上の値が維持され、最終投与の3日後には、ほぼ投与前の値に戻った。白血球分画では顆粒球の選択的な増加を認めた。CRPは術後および創感染に伴う上昇はあったが、G-CSF投与に伴う副作用としての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。

【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期に対する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方法では安全性に問題はないと考えられた。現在第2段階としてG-CSF投与量を10 μ g/kg/日×5日間と増量した臨床試験を行っており、今後これらのデータと比較検討する予定である。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。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。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。今後、臨床試験phase IIbにてその有用性を確認し、G-CSFが圧迫性脊髄症の急性増悪期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。

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

T. Sakuma, et al.

Key words : myelopathy, G-CSF, neuroprotective therapy

ラット脊髄損傷に対するマウス人工多能性幹(iPS)細胞由来Astrocyte移植効果の検討

林 浩一, 橋本 将行*, 山崎 正志, 村田 淳, 大河 昭彦, 国府田 正雄**, 佐久間 毅, 高橋 宏, 高橋 和久
千葉大学大学院医学研究院整形外科, *千葉市立海浜病院整形外科,

**千葉市立青葉病院整形外科

【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、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Astrocyte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Astrocyteが炎症の波及を防いでいる、再生軸索のガイドランスとなっている、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。本実験の目的は、(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Astrocyteを分化誘導すること (2) 誘導したAstrocyte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である。

【方法】(分化誘導実験) マウスiPS細胞をFeeder細胞上で培養、直径300-500 μm 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%PBS浴地にてAstrocyte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/5 μl のiPS細胞由来AstrocyteをHamilton syringeを用いて髄注したものをAstrocyte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。Astrocyteを移植する事前に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。脊髄損傷に伴うアロディニアの評価として、損傷8週時にThermal hyperalgesia testと、Mechanical allodynia test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)、Astrocyte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) NSS周囲に遊走した神経幹細胞は、Nestin陽性であり、未分化性を保ったまま継代・凍結保存が可能であった。神経幹細胞は10%PBS存在下においてGFAP陽性のAstrocyteに選択的に分化した。ACM+bFGF存在下においてはTuj-1陽性のNeuronへ、T3存在下にはO4、GalC陽性のOligodendrocyteに分化可能であった。RT-PCRではGFAP遺伝子はAstrocyteへ分化していくにつれ発現が強くなった。

(移植実験) BBB scoreは、終始両群間に有意差はなく、その他の運動機能評価にても両群間に有意差はなかった。Thermal hyperalgesia testでは、Astrocyte移植群はノーマル群に比して有意に熱刺激に過敏であった。Mechanical allodynia testでは、Astrocyte移植群は、ノーマル群、DMEM群に比して痛み刺激に敏感であった。移植細胞は移植後8週の時点で生存していたが、GFAPの染色性が陰性となっていた。組織学的検討では、全ての項目で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Neuron、Oligodendrocyte、Astrocyte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、Astrocyte単独移植では効果が不十分であることが考えられた。アロディニアの発生機序は、現在のところ不明な点が多いが、MAP kinaseを介したAstrocyteを含むグリア細胞の活性化の関与が考えられており、脊髄損傷への細胞移植治療においてアロディニアの発生は大きな問題である。

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

K. Hayashi, et al.

Key words : induced pluripotent stem cell, astrocyte, spinal cord injury