

ラット脊髄圧挫損傷モデルにおけるbFGF徐放ゼラチンハイドロゲルを併用した骨髄間質細胞由来神経前駆細胞移植の検討

古矢 文雄, 橋本 将行, 国府田 正雄, 村田 淳, 大河 昭彦, 山崎 正志, 出澤 真理*, 松瀬 大*,

田畑 泰彦**, 高橋 和久

千葉大学大学院医学研究院整形外科, *東北大学大学院医学系研究科細胞組織学,

**京都大学再生医科学研究所生体組織工学研究部門

【背景】近年の細胞生物学の進歩は、脊髄損傷に対する細胞移植治療を臨床応用可能なレベルにまで高めている。一方、移植した細胞の生着率や増殖効率など、細胞移植療法の問題点も見えてきたと思われる。われわれはこの点を克服するため細胞移植と、Scaffoldおよび細胞栄養因子との併用療法に注目した。今回 Scaffoldとして使用したゼラチンハイドロゲルは粒子状の水溶性生体吸収性高分子である。移植細胞の基質としての役割を担うとともに、ゲル内に栄養因子を溶解させることが可能であり、溶解した栄養因子を生体内に徐放する作用を併せ持っている。われわれはこのゼラチンハイドロゲルに線維芽細胞増殖因子 (basic fibroblast growth factor, 以下bFGF)を溶解させて使用した。bFGFは強力な血管新生作用、細胞増殖作用を持つ栄養因子である。諸家より神経細胞のapoptosisを抑制する働きや、脊髄再生の過程における神経前駆細胞の産生および細胞の分化を促す効果、脊髄損傷動物モデルにおける神経保護効果などが報告されている。今回はbFGFを含有したゼラチンハイドロゲルを併用したラット脊髄圧挫損傷モデルに対する骨髄間質細胞由来神経前駆細胞 (以下BMSC-N) 移植の治療効果を検討した。

【方法】移植BMSC-Nは骨髄間質細胞より誘導した。骨髄間質細胞は8週齢Wisterラットの両大腿骨、下腿骨髄腔を生食にてフラッシュし、付着性の細胞を継代培養した。4継代目にNICD導入、G418選択、細胞はLenti-GFPでラベルした。NICDを導入した細胞を浮遊細胞用のディッシュで8日間培養した。その後Sphereを形成したものを選択、培養した (BMSC-N)。脊髄圧挫損傷モデルラットは、8週齢雌性Wisterラットの第9-10胸椎を椎弓切除後、IH Impactor (200kdyn)を用いて作成した。損傷から1週後、bFGF20 μ gを含んだゼラチンハイドロゲル0.4mgとともにBMSC-Nを損傷中心部に3.0 \times 10⁶個移植した (細胞移植群、n=8)。対照として細胞移植を併用しないbFGF+ゼラチンハイドロゲル投与群 (Gel群、n=10)を作成し比較した。今回はゼラチンの分解とともにbFGFが約2週間かけて徐放されるゼラチンハイドロゲルを使用した。運動、感覚機能を損傷から9週間測定した。損傷11週後に灌流固定を行い組織学的に検討した。

【結果】行動学的評価では損傷9週後におけるBBB scoreは細胞移植群が10.6点、Gel群が10.1点であり統計学的な有意差は認めなかった。別の運動評価として斜面台に5秒間姿勢を保持できる最大角度を計測する Inclined plane test、下肢温痛覚評価として Hargreaves deviceを用いた Thermal hyperalgesia および Dynamic Plantar Aesthesiometerを用いた Mechanical allodyniaの検査をそれぞれ施行したが、いずれも両群間に統計学的有意差を認めなかった。Mechanical allodyniaの検査では細胞移植による改善はなかったが、悪化も認めなかった。組織学的検討にて移植細胞は移植後10週時点において組織学的に生着が確認された。移植細胞の一部はGST- π 陽性で示した。

【考察】移植した細胞の生着率の向上、3次元配列構造維持のためゼラチンハイドロゲルを基質として利用した。また、移植細胞の生着能及び増殖能を高める目的でゲル内にbFGFを注入した。移植細胞は損傷10週の時点で残存していたが、行動学的には細胞移植の有無での差は認められなかった。移植細胞はBMSCに神経系への分化誘導をかけた神経前駆細胞である。組織学的検討ではオリゴデンドロサイトのマーカー、GST- π 陽性であり、今後移植細胞の損傷脊髄内での役割を検討する予定である。今回は細胞・栄養因子・スcaffoldを損傷1週後に同時移植 (投与)したが、臨床的に意義のある改善を得ることはできなかった。今後は、たとえば細胞移植に先立ちbFGFが含まれたゼラチンハイドロゲルを移植するなど、BMSC-N、bFGF、ゼラチンハイドロゲルそれぞれの至適移植 (投与)時期を検討しなければならないと思われた。

The effects of BMSC derived neural restricted precursor cell transplantation combined with sustained release of bFGF incorporated gelatin hydrogel in a rat spinal cord contusion mo

T. Furuya, et al.

Key words : Spinal cord injury, Cell transplantation, Scaffold

*1st Annual Meeting
of
Cervical Spine Research Society Asia Pacific Section*



Venue : Kobe International Conference Center

Dates : April 24 (Sat.)-25 (Sun.), 2010

President : Kuniyoshi Abumi, MD

(Department of Spinal Reconstruction, Hokkaido University Graduate School of Medicine)

<http://www.1st-csrs-ap.jtbcom.co.jp>



Neuroprotective therapy using granulocyte-colony stimulating factor for patients with acute spinal cord injury and rapidly aggravating compression myelopathy: phase I and IIa clinical trial

Masashi Yamazaki, MD, PhD, Tsuyoshi Sakuma, MD, Hiroshi Takahashi, MD, Koichi Hayashi, MD, Mitsuhiro Hashimoto, MD, Akihiko Okawa, MD, PhD, Masayuki Hashimoto, MD, PhD, Masao Koda, MD, PhD

Chiba Univ., Japan

Introduction:

In previous reports, we have shown that granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF), one of hematopoietic growth factors, has neuroprotective effects on experimental spinal cord injury (SCI) [Brain Res 1149: 223-231, 2007, J Neuropathol Exp Neurol 66: 724-731, 2007]. Based on the results, we have started a phase I and IIa clinical trial that evaluates the safety of neuroprotective therapy using G-CSF for patients with acute SCI and rapidly aggravating compression myelopathy.

Methods:

The trial was performed in five patients with acute SCI and 5 patients with severe compression myelopathy. After obtaining informed consent from the patients, G-CSF (5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$) was intravenously administered for five consecutive days. We evaluated the presence of diverse events that related to the G-CSF therapy. We also evaluated motor and sensory functions of the patients and their damaged spinal cord magnetic resonance imaging findings.

Results:

In all of the ten patients, neurological improvement of both motor and sensory functions was obtained, though the degree of the improvement differed depending on the patient. On the day following the start of G-CSF therapy, white blood cell count increased more than 15200. It was maintained from 15200 to 43200 during the administration, and returned to preadministration levels by the third day after the final administration. No adverse event occurred during or after the administration.

Conclusions:

In the present 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 (10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$) will be required to establish the G-CSF therapy for patients with damaged spinal cord.

EUROSPINE 2010

**Annual Meeting of the
Spine Society of Europe**

**September 15–17, 2010
Vienna, Austria**

Abstracts

5

THREE-YEARS RESULTS OF CERVICAL DISC PROSTHESES IN THE SWISSPINE REGISTRY

E Aghayev, P Moulin, CP Röder, on behalf of the SWISSpine Group

IEFO, IEFO, University of Bern, Bern, Switzerland

Background context: The Swiss federal office of public health required a mandatory nationwide HTA-registry for cervical total disc arthroplasty (TDA), amongst other technologies, to decide about reimbursement of these interventions.

Purpose: The goal of the SWISSpine registry is to generate evidence about the safety and efficiency of these medtech innovations.

Study design: Prospective multicenter observational case-series.

Patient sample: From 3.2005 until 3.2010 1,044 interventions with implantation of 1,201 discs from five different suppliers were performed.

Outcome measures: neck and arm pain levels, medication, segmental mobility, quality of life, work status, complication and revision rates.

Methods: Surgeon administered outcome instruments were primary intervention, implant and follow-up forms; patient self-reported measures were EQ-5D, COSS, and a comorbidity questionnaire. Data is recorded perioperative, at 3 months and 1 year postoperative, and annually thereafter.

Results: There was significant and clinically relevant reduction of neck (preop/postop 58.6/22.4 points) and arm pain (preop/postop 64.5/20.4) on VAS and a consequently decreased analgesics consumption. Similarly, quality of life improved from preop 0.43 to postop 0.84 points on EQ-5D scale. There were 6 intraoperative complications and 14 revisions during the same hospitalization for 887 monosegmental TDAs and 2 intraoperative complications and 8 revisions for 157 two-level surgeries. A pharmacologically treated depression was identified as important risk factor for achieving a clinically relevant pain alleviation >20 points on VAS. Two-level surgery resulted in similar outcomes compared with the monosegmental interventions.

Conclusions: Cervical TDA appeared as safe and efficacious in short-term pain alleviation, consequent reduction of pain killer consumption and in improvement of quality of life. A clinically relevant pain reduction of more than 20 points was most probable if patients had preoperative pain levels higher than or equal to 40 points on VAS. A pharmacologically treated depression and two-level surgery were identified as risk factors for less pronounced pain alleviation or quality of life improvement.

6

ANOMALOUS VERTEBRAL ARTERY AT THE EXTRAOSSEOUS AND INTRAOSSEOUS REGIONS OF THE CRANIOVERTEBRAL JUNCTION DETECTED BY 3-D CT ANGIOGRAPHY: ANALYSIS ON THE 100 CONSECUTIVE OPERATIVE CASES

M Yamazaki, A Okawa, A Sakuma, H Takahashi, M Hashimoto, M Koda, K Takahashi

Spine Section, Department of Orthopaedic Surgery, Chiba University Graduate School of Medicine, Chiba, Japan

Objectives: To avoid intraoperative vertebral artery (VA) injury during instrumentation surgery at the craniovertebral junction (CVJ),

we have preoperatively analyzed VA anomalies using 3-dimensional CT angiography (3DCTA).

Methods: We analyzed 100 consecutive patients who underwent instrumentation surgery since July 1998. Fifty-nine patients had atlanto-axial subluxation, and cervical fixation including C2 was required in 41 patients. Among the 100 patients, 28 had congenital skeletal anomaly (CSA) at the CVJ (CSA-positive cases) and the other 72 had no CSA. Anomalous VAs at the extraosseous and intraosseous regions were evaluated by 3DCTA.

Results: During operation, no neurovascular injury occurred. (1) Anomaly of extraosseous VA: Abnormal courses of the VA at the extraosseous region were detected in 11 cases (11.0%) out of the 100 cases: 2 had fenestration and 11 had persistent first intersegmental artery. In both anomalies, the VA entered the spinal canal at the caudal side of the C1 posterior. Intraoperatively, we determined the course of the abnormal branch of the VA using Doppler ultrasonography, and carefully exposed the operative site. Interestingly, all 11 cases with had CSA at the CVJ. When we focused on the 28 CSA-positive cases, 39.2% of them had such extraosseous VA anomalies. (2) Anomaly of intraosseous VA: In 29 cases (29.0% of 100 cases), the VA groove was located to medially, posteriorly, and cranially at the C2 isthmus (high-riding VA). Fourteen cases out of the 29 cases had CSA at the CVJ, indicating 50.0% of the 28 CSA-positive cases had high-riding VA.

Conclusions: The present findings suggest that the frequency of abnormal VA at the extraosseous and intraosseous regions is increased when patients have CSA at the CVJ. With preoperative 3DCTA, we can precisely identify the anomalous VA, and reduce the risk of intraoperative injury to the VA, in advance.

7

NEUROPROTECTIVE THERAPY USING GRANULOCYTE COLONY-STIMULATING FACTOR (G-CSF) FOR ACUTE SPINAL CORD INJURY: PHASE I, IIA CLINICAL TRIAL

T Hiroshi, Y Masashi, O Akihiko, K Masao, H Masayuki, H Mitsuhiro, H Koichi, K Kei, T Kazuhisa

Department of Orthopaedic Surgery, Graduate School of Medicine, Chiba University, Chiba, Japan

Background: Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) is a 19.6-kDa glycoprotein that is commonly used to treat neutropenia. Several recent reports have indicated that G-CSF can be used as a potential drug for neuronal injury including stroke. So we thought G-CSF administration has neuroprotective effects for acute SCI, and examined in the compression-induced spinal cord in rodents. As a result, we have reported the mechanism of G-CSF for acute SCI; G-CSF mobilized bone marrow-derived cells into injured spinal cord, and suppressed the neuronal apoptosis directly (Brain Res 1149:223, 2007; J Neuropathol Exp Neurol 66:724, 2007). Because of these studies, we have started a Phase I and IIA clinical trial to assess the safety and feasibility of neuroprotective therapy using G-CSF for patients with acute SCI. In this study, we investigated the progresses of first 6 cases in acute SCI using G-CSF.

Materials and methods: Six patients with acute SCI were received intravenous G-CSF injection [5 g/(kg day)] for 5 days. After injection, we had neurological evaluations with American Spinal Cord Injury Association (ASIA) score, and confirmed side effects for medication with physical findings and laboratory data. In all six

patients, some neurological improvement was obtained after medication.

Results: In all six patients, some neurological improvement was obtained after medication in ASIA score. And in two of six patients, AIS was improved one step (B to C, and C to D). Mean white blood cell (WBC) counts were 10.6 ± 2.8 (103/l) previous the administration, on the other hand, 31.0 ± 5.3 (103/l) on 1 days after administration and that was significantly higher than previous counts ($p < 0.01$). From 1 to 5 days after the medication, during the administration, WBC counts kept higher than previous counts ($p < 0.01$), and 1 days after the end of medication, WBC counts returned to the previous rate. No severe adverse effects were seen in all patients after G-CSF injection.

Discussion: In acute myocardial infarction and cerebral infarction, clinical trials of G-CSF administration have been started and some studies showed the effect of improvements of function. We first started the neuroprotective therapy using G-CSF for acute spinal cord injury. The aim of this study is to confirm the safety and feasibility of G-CSF administration. After the confirmation, we will have the Phase IIb clinical trial that assesses the effect of G-CSF for acute SCI, and want to prove the effect of it.

SURGICAL SUCCESS AND FAILURE IN THE LUMBAR SPINE

8 IMPROVED QUALITY OF LIFE, PAIN, AND FUNCTION AFTER SPINAL FUSION IN CHRONIC LOW BACK PAIN ARE NOT DEPENDENT ON OPERATIVE TECHNIQUE

Y Robinson, B Sandén

Institute for Surgical Sciences, Uppsala University Hospital, Uppsala, Sweden

Background: Despite being a widely accepted treatment for chronic low back pain (LBP) the published long-term-results of spinal fusion surgery with regard to different techniques are far from equivocal.

Patients and methods: A total number of 822 patients (461 female) with chronic LBP were followed prospectively within the Swedish National Spine Registry program after spinal fusion surgery. Functional parameters as SF-36 subscores and Oswestry Disability Index (ODI) were obtained preoperatively and after 2 years. Furthermore VAS for leg and back pain was determined. Quality of life was evaluated by EQ-5D.

Results: Sixty-four patients were operated with uninstrumented fusion (UIF), 380 patients with instrumented posterolateral fusion (PLF), and 378 patients with posterior or transforaminal lumbar interbody fusion (PLIF). Average leg pain improved in VAS from 45 to 27, back pain improved in VAS from 63 to 34. SF-36 MCS (Mental Component Score) improved from 33.7 to 39.0, SF36 Physical Component Score (PCS) from 36.2 to 45.4. ODI improved from 45.6 to 28.1. EQ5D improved from 0.33 to 0.61. A slightly greater improvement of ODI was seen in the PLIF-group of about 3 points compared to the PLF-group. No clinically relevant differences were seen between the outcome of the subgroups.

Conclusion: The presented results are in line with the results known from previously performed multicenter trials, that fusion surgery does improve function, pain and quality of life of patients with chronic LBP.

Interestingly in the investigated patient cohort operative fusion technique does not seem to have a significant impact on patient outcome.

9 A LONG TERM CLINICAL EXPERIENCE WITH THREE DIFFERENT NUCLEUS REPLACEMENT DEVICES: LESSONS LEARNED AFTER 9 YEARS FOLLOW UP

L Oliveira, L Marchi, E Coutinho, L Pimenta

Scientific Dept, Instituto de Patologia da Coluna, Sao paulo, Brazil

Introduction: The nucleus replacement devices have been developed for treating moderate forms of degenerative disc disease, trying to fill the gap between discectomy and fusion. The surgical goals are pain relief, maintenance of the disc height and flexibility at the index and adjacent levels.

Purpose: The purpose of the present abstract is to show our experience after 9 years using three different nucleus replacement prostheses.

Study design/setting: Prospective, non randomized, single center clinical study.

Patient sample: 125 patients with moderate forms of degenerative disc disease were enrolled in this study.

Outcome measures: Radiographic (AP, lateral and dynamic) and clinical outcomes were collected preoperatively, 1 week and 1, 3, 6, 9, and annually through 9 years postoperatively. The VAS and ODI questionnaires were used to assess pain and functional outcomes.

Material and methods: 80 patients had PDN disc prosthesis, 26 patients with PNR (Trans1) and 19 patients using the NUBAC (Pioneer) device. The surgical techniques for each device were performed following the prosthesis indications.

Results: After 9 years follow up, the global retrieval incidence was 48.8% (61/125). From these patients, 15 (57.7% of the specific device) had PNR failures, 8 (42.1% of the specific device) experienced NUBAC retrievals and 38 (47.5% of the specific device) had PDN flaws. The failures included significant loosening of the disc height at the operated level, displacement, silicone inside de canal and migration. All patients underwent fusion as a retrieval surgery.

Conclusion: The retrieval rate in our series is very high. It shows that the end-plate reaction in a long period of time happens, resulting in important subsidence and mechanic back pain. The device expulsion was another cause of pain and second surgery, as shown in the literature.

10 A FULL ECONOMIC EVALUATION OF DISC PROSTHESIS VS. LUMBAR FUSION IN PATIENTS WITH CHRONIC LOW BACK PAIN: A RANDOMIZED CONTROLLED TRIAL WITH 2-YEAR FOLLOW UP

P Fritzell, S Berg, T Tullberg, F Borgström, H Tropp

Orthopaedic, Falun hospital, Falun, Sweden

Background: Patients with chronic low back pain may in selected cases be treated with surgery. The gold standard today is lumbar

P60**NEUROPROTECTIVE THERAPY USING GRANULOCYTE-COLONY STIMULATING FACTOR FOR PATIENTS WITH RAPIDLY AGGRAVATING COMPRESSION MYELOPATHY: PHASE I AND IIA CLINICAL TRIAL**

S Tsuyoshi, T Hiroshi, H Koichi, H Masayuki, H Mitsuhiro, K Masao, O Akihiko, Y Masashi

Orthopaedic Surgery, Graduate School of Medicine, Chiba University, Chiba, Japan

Background: Rapidly aggravating compressive myelopathy results in severe neurological deficit, and its functional recovery is quite poor due to limited axonal regeneration. To date, there has been no effective therapy except for early surgical treatment. In previous reports, we have shown that granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF), one of hematopoietic growth factors, has neuroprotective effects on experimental spinal cord injury (SCI) [Brain Res 1149: 223–231, 2007, J Neuropathol Exp Neurol 66: 724–731, 2007]. Based on the results, we have started a phase I and Iia clinical trial that evaluates the safety of neuroprotective therapy using G-CSF for patients with rapidly aggravating compression myelopathy.

Purpose: In the present study, we evaluate the results of the first stage cases of the G-CSF clinical trial.

Study design: Clinical case series

Patient sample: The trial was performed in five patients, in whom the Japanese Orthopaedic Association (JOA) score for cervical myelopathy decreased 2 points or more during a recent 1-month period.

Outcome measures: We evaluated the presence of diverse events that related to the G-CSF therapy. We also evaluated motor and sensory functions of the patients.

Methods: After obtaining informed consent from the patients, G-CSF (5 µg/kg/day) was intravenously administered for five consecutive days. We evaluated the patients' American Spinal Injury Association (ASIA) score, ASIA impairment scale, and JOA score. In addition, we performed blood and urinary test of the patients.

Results: All five patients enrolled in this study exhibited myelopathy caused by ossification of posterior longitudinal ligament of the spine. In all of the five patients, neurological improvement of both motor and sensory functions was obtained, though the degree of the improvement differed depending on the patient. On the day following the start of G-CSF therapy, white blood cell (WBC) count increased more than 15,200. It was maintained from 15,200 to 43,200 during the administration, and returned to preadministration levels by the third day after the final administration. No adverse event occurred during or after the administration.

Discussion and conclusion: In the present 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, suggesting that G-CSF is an attractive candidate for therapeutic drug for damaged spinal cord. Further clinical trials with high-dose administration of G-CSF (10 µg/kg/day) will be required to establish the G-CSF therapy for patients with rapidly aggravating compression myelopathy.

P61**EFFECT OF MULTILEVEL LUMBAR DISC ARTHROPLASTY ON SPINE KINEMATICS AND FACET JOINT LOADS IN FLEXION AND EXTENSION: A FINITE ELEMENT ANALYSIS**

H Schmidt, F Galbusera, A Rohlmann, T Zander, HJ Wilke

Institute of Orthopaedic Research and Biomechanics, University of Ulm, Ulm, Germany

Total disc arthroplasty (TDA) has been successfully used for mono-segmental treatment in the last few years. However, multi-level TDA led to controversial clinical results. We hypothesize that: (1) the more artificial discs are implanted, the stronger the increases in spinal mobility and facet joint forces in flexion and extension; (2) deviations from the optimal implant position lead to strong instabilities.

A three-dimensional finite element model of the intact L1–L5 human lumbar spine was created. Additionally, models of the L1–L5 region implanted with multiple Charité discs ranging from two to four-levels were created. The models took into account possible misalignments in the antero-posterior direction of the artificial discs. All these models were exposed to an axial compression preload of 500 N and pure moments of 7.5 Nm in flexion and extension.

For central implant positions and the loading case extension, a motion increase of 51% for two implants up to 91% for four implants and a facet force increase of 24% for two implants up to 38% for four implants compared to the intact spine were calculated. In flexion, a motion decrease of 5% for two implants up to 8% for four implants was predicted. Posteriorly placed implants led to a better representation of the intact spine motion. However, lift-off phenomena between the core and the implant endplates were observed in some extension simulations in which the artificial discs were anteriorly or posteriorly implanted.

The more artificial discs are implanted, the stronger the motion increase in flexion and extension was predicted with respect to the intact condition. Deviations from the optimal implant position lead to unfavorable kinematics, to high facet joint forces and even to lift-off phenomena. Therefore, multilevel TDA should, if at all, only be performed in appropriate patients with good muscular conditions and by surgeons that can ensure optimal implant positions.

P62**A NEW IN VITRO BIOMECHANICAL TEST SYSTEM TO EVALUATE ADJACENT LEVEL EFFECTS OF THE LUMBAR SPINE**

M Schulze, D Deemann, R Hartensuer, L Loehrer, MJ Raschke, U Hoelscher, T Vordemvenne

Department of Trauma-, Hand- and Reconstructive Surgery, University Hospital Muenster, Muenster, Germany

The in vitro testing of new surgical reconstruction or stabilization methods provides essential findings for clinical use on biomechanics

第 25 回
日本整形外科学会基礎学術集会
抄 録 集

The 25th Annual Research Meeting of
the Japanese Orthopaedic Association
ABSTRACTS

会 長 持 田 讓 治 (東海大学医学部外科学系整形外科学)
会 期 平成 22 年 10 月 14 日(木), 15 日(金)
会 場 国立京都国際会館 (京都市)

10：10～12：00 パネルディスカッション 1		座長	馬場 久敏 (福井大整形)
臨床への橋渡し研究の現況-2 脊髄			田口 敏彦 (山口大大学院整形)
1-2-P1-1	脊髄損傷に対する幹細胞移植医療の確立に向けて……………慶大整形	中村 雅也他…S1026	
1-2-P1-2	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……………千葉市立青葉病院整形	国府田正雄他…S1026	
1-2-P1-3	Vascular niche を利用した脊髄再生アプローチ……………広島大大学院整形	亀井 直輔他…S1027	
1-2-P1-4	オリゴデンドロサイト前駆細胞をターゲットとした脊髄損傷治療戦略の基礎と臨床……………国立リハセンター	緒方 徹他…S1027	
1-2-P1-5	脊髄損傷後の選発性細胞死における小胞体ストレス関連タンパク質の関与……………東海大整形	渡辺 雅彦他…S1028	

12：35～13：35 ランcheonセミナー 1		座長	浜西 千秋 (近畿大整形)
1-2-LS1	腰痛の病態と治療 —新しい概念と戦略……………	福島医大	菊地 臣一 …S1029

13：50～15：20 パネルディスカッション 2 臨床への橋渡し研究の現況-1-1		座長	越智 光夫 (広島大大学院整形)
関節軟骨・骨・椎間板(ヒト幹細胞指針以前)			
1-2-P2-1	骨髄間葉系細胞移植による軟骨修復……………	大阪市大大学院整形	脇谷 滋之他…S1030
1-2-P2-2	第二世代自家培養軟骨細胞移植による軟骨再生……………	広島大大学院整形	安達 伸生他…S1030
1-2-P2-3	滑膜間葉幹細胞による軟骨再生医療の開発……………	東医歯大大学院軟骨再生学	関矢 一郎他…S1031
1-2-P2-4	骨再生の臨床経験をふまえての新規再生医療技術開発 —遺伝子改変ヒト間葉系幹細胞を用いての骨再生……………(独)産業技術総合研究所健康工学研究部門	大串 始他…S1031	

15：30～16：40 パネルディスカッション 3 臨床への橋渡し研究の現況-1-2		座長	戸口田淳也 (京大再生医学研究所)
関節軟骨・骨・椎間板(ヒト幹細胞指針以後)			
1-2-P3-1	椎間板再生のための細胞移植療法 臨床研究の進捗および幹細胞研究による新展開……………	東海大整形	酒井 大輔他…S1032
1-2-P3-2	四肢良性骨腫瘍および骨腫瘍類似疾患掻爬術後の間葉系幹細胞由来再生培養骨による骨欠損修復研究……………	信州大運動機能学	吉村 康夫他…S1032
1-2-P3-3	間葉系幹細胞を用いた骨壊死治療……………	京大大学院人間健康科学	青山 朋樹他…S1033

第1日 10月14日(木) 第3会場

9：00～10：00 一般口演 1 破骨細胞・骨芽細胞		座長	市村 正一 (杏林大整形)
1-3-1	IRAK4-p38 シグナルは implant failure の治療に対する分子標的である……………	慶大整形	宮本 裕也他…S1034
1-3-2	転写抑制因子 Blimp1-Bcl6 axis による破骨細胞分化および骨恒常性制御……………	慶大整形	宮本 健史他…S1034
1-3-3	アルコール負荷後の Aldh2 ノックアウトマウスでは、骨髄細胞が G2 期で停止し、骨芽細胞石灰化形成が抑制され骨形成が低下する……………	産業医大整形	清水 勇樹他…S1035
1-3-4	Tumor necrosis factor- α (TNF- α) による IL-6 産生における vasoactive intestinal peptide の相乗効果……………	名市大大学院整形	加藤 賢治他…S1035
1-3-5	骨芽細胞における transforming growth factor- β (TGF- β) による heat shock protein 27 (HSP27) 誘導に対する Rho-kinase の役割……………	名市大大学院整形	南谷 千帆他…S1036
1-3-6	Basic fibroblast growth factor (FGF-2) による VEGF 遊離における Rho-kinase の関与……………	名市大大学院整形	夏目 英雄他…S1036

10：10～11：10 一般口演 2 骨修復再生-BMP など		座長	宗園 聡 (近畿大奈良病院整形・リウマチ科)
1-3-7	BMP とデキサメサゾン併用による骨形成能に関する検討……………	東医歯大大学院整形	湯浅 将人他…S1037

1-2-P1-1

脊髄損傷に対する幹細胞移植医療の確立に向けて

中村 雅也¹ 岡野 栄之² 戸山 芳昭¹

【はじめに】われわれは脊髄損傷に対する細胞移植再生医療を確立するために、ラットおよびサル脊髄損傷に対する神経幹細胞移植の有効性を報告してきた。しかし、倫理的な問題のため臨床応用には至っていない。本シンポジウムでは脊髄再生、なかでも人工多能性幹細胞(iPS細胞)・神経堤幹細胞を用いた移植療法を中心にわれわれがこれまでにやってきた基礎研究を紹介した。

【損傷脊髄に対するiPS細胞由来神経幹細胞移植】マウスiPS細胞を神経系に分化誘導後、マウス脳に移植しその腫瘍形成について検討し、移植細胞中に0.01%以上の分化抵抗性細胞が混入した場合は腫瘍形成を来した。そこで、分化抵抗性細胞の混入が0.01%以下のクローンを用いてマウス脊髄損傷に移植すると、腫瘍形成はみられず機能回復が促進した。次に、ヒトiPS細胞を神経系に分化誘導後、免疫不全マウス損傷脊髄に移植し、機能回復が促進することを明らかにした。しかし、長期経過観察により約1割で腫瘍形成がみられ、この腫瘍はマウスiPS細胞でみられた奇形腫とは異なる種類の腫瘍であることから、この問題の解決が今後の最も重要な課題である。

【損傷脊髄に対する神経堤幹細胞移植】体性幹細胞である神経堤幹細胞は、遺伝子導入を行っていない点においてiPS細胞よりも安全な幹細胞として期待されている。われわれは、その局在や特性についてトランスジェニックマウスを用いて詳細な検討を行い、後根神経節、皮膚、骨髄に神経堤幹細胞が存在することを明らかにした。さらに損傷脊髄に対する神経堤幹細胞移植を行い、その有効性と安全性を検証した。

【おわりに】神経科学、特に幹細胞生物学の目覚ましい進歩により、これまで不可能と考えられてきた脊髄の再生医療の実現も夢物語ではなくなりつつある。しかし何よりも重要な点は、患者の安全性を担保することであり、特にiPS細胞は腫瘍形成の問題を解決しなければ、臨床応用は困難と言わざるを得ない。今後も基礎的研究を継続していくことが必須である。

¹慶應義塾大学医学部整形外科教室 ²慶應義塾大学医学部生理科学教室

1-2-P1-2

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

国府田 正雄¹ 橋本 将行² 西尾 豊³ 門田 領³
川辺 純子² 佐久間 毅² 高橋 宏² 萬納寺 誓人¹
大河 昭彦² 高橋 和久² 山崎 正志²

【目的】顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)は血球系に作用する増殖因子であり、顆粒球系細胞の分化・増殖・生存促進などの作用を有する。白血球減少症や末梢血幹細胞移植ドナーに対して造血幹細胞の末梢血への動員のためなどの適応を有している。近年、脳卒中モデルに対する神経保護作用が報告された。そこでわれわれは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を想定し実験を行った。

【方法】①Green fluorescent protein(GFP)マウス由来の細胞で骨髄を置換したキメラマウスに脊髄損傷をくわえ、G-CSFを投与し脊髄組織を解析。G-CSFによる骨髄細胞動員の効果を検討した。②培養ニューロンのグルタミン酸誘導細胞死に対するG-CSFを*in vitro*で検討した。③マウス・ラット脊髄損傷モデルにG-CSFを投与、行動学的・組織学的解析を行い、G-CSFのニューロン・グリア細胞に対する保護作用・血管新生促進作用等につき検討した。

【結果】①G-CSF投与により脊髄損傷部への骨髄由来細胞動員が促進されており、その一部はastrocyteやoligodendrocyteに分化していた。②G-CSFは、*in vitro*で培養神経細胞のグルタミン酸誘導性細胞死を抑制した。③マウス・ラット脊髄損傷モデルにおいて、G-CSFは神経細胞・oligodendrocyteのアポトーシス抑制・血管新生促進作用を有していた。G-CSFは後肢機能回復を促進した。

【考察および結論】G-CSFは骨髄細胞動員促進、ニューロン・グリアの細胞死抑制、血管新生促進などの作用を通じて脊髄損傷の機能回復を促進すると考えられた。これらの根拠より、平成20年より脊髄損傷に対するG-CSF投与の臨床試験phase-IIaを開始している。

¹千葉市立青葉病院整形外科 ²千葉大大学院整形 ³千葉市立海浜病院整形

1-3-20

損傷脊髄への神経幹細胞移植療法における再髄鞘化の重要性 ―先天性脱髄マウス由来神経幹細胞を用いた解析―

安田 明正^{1,2} 辻 収彦¹ 藤吉 兼浩¹ 高橋 勇一朗^{1,2}
海苔 聡^{1,2} 高野 盛登^{1,2} 岡野 栄之¹ 戸山 芳昭¹
中村 雅也¹

【目的】われわれはこれまでに、胎仔由来神経幹細胞 (NSPC) を損傷脊髄へ移植し、良好な機能回復を報告してきた。その運動機能回復メカニズムには、①移植細胞による neural circuit の再形成、②再髄鞘化、③栄養因子の供給などが提唱されているものの、結論は出ていない。今回われわれは先天性脱髄マウスである shiverer mutant マウスの胎仔由来 NSPC を用いて損傷脊髄へと移植を行い、移植細胞による再髄鞘化の重要性を解析した。

【方法】自然発生の MBP 遺伝子変異を持ち、正常な髄鞘を形成しない shiverer mutant マウスの胎生 14.5 日胎仔線条体から NSPC を採取 (shi-NSPC) し、野生型 NSPC (wt-NSPC) との比較を行った。① *in vitro*: shi-NSPC の増殖能、分化能を定量的に評価した。② *in vivo*: shi-NSPC および wt-NSPC をマウス脊髄圧挫損傷モデルへ損傷後 9 日目に移植した (wt-NSPC (n=11)/shi-NSPC 群; (n=13))。さらに対照として PBS のみの注入群 (control 群; n=11) を作製した。細胞移植後 6 週まで後肢運動機能評価および感覚機能評価を行い、その後組織学的検討を行った。

【結果】① *in vitro*: shi-NSPC は Tuj1+ のニューロン、GFAP+ のアストロサイト、O4+ のオリゴデンドロサイト (OGC) 前駆細胞への分化は認めたが、MBP+ 成熟 OGC への分化は全く認められなかった。② *in vivo*: wt-NSPC 群ではこれまでの報告と同様に control 群と比較して有意な機能回復を得たが、shi-NSPC 群では機能回復を得られなかった。移植された shi-NSPC は損傷中心部およびその周囲へ生着し、wt-NSPC と同様に Hu+ のニューロン、GFAP+ のアストロサイト、APC+ の OGC 系譜細胞への分化は認めたが、wt-NSPC 群では認められる移植細胞由来の MBP+ のミエリン鞘への分化は全く認められなかった。

【考察および結論】shi-NSPC は *in vitro*, *in vivo* においてニューロン・アストロサイトに分化できるにもかかわらず、shi-NSPC 移植により機能回復が得られなかった。本研究により移植細胞による MBP+ の正常なミエリン鞘形成すなわち再髄鞘化が機能回復に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

¹慶應義塾大学整形外科 ²慶應義塾大学生理学

1-3-21

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

国府田 正雄¹ 林 浩² 藤由 崇之² 佐久間 毅²
高橋 宏² 橋本 将行² 大河 昭彦² 高橋 和久²
山崎 正志²

【目的】脊髄損傷慢性期には損傷部周辺にグリア瘢痕が形成され再生に対して非許容的な環境を形成している。慢性期の脊髄損傷治療を考える際に、グリア瘢痕の制御はひとつの重要な要素である。活性化マクロファージは貪食作用・神経栄養因子の分泌などにより軸索再生を促進する作用を持つため脊髄損傷慢性期においてもグリア瘢痕に対して作用し、非許容的な環境を許容的な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】ラット背髄細胞を採取し、附着性細胞を macrophage colony stimulating factor 存在下に培養しマクロファージを得た。移植 24 時間前に 50 ng/ml のインターフェロン γ を投与し、マクロファージを活性化させた。成 SD ラット雌 9-10 週齢を全身麻酔下に T9-10 レベル椎弓切除後 IH impactor を用いて 200 kdyn の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した。知覚機能も評価した。皮質脊髄路トレーシング・免疫染色などにて組織評価を行った。

【結果】BBB locomotor scale では、活性化マクロファージ移植群においても有意な回復はみられなかった。圧刺激・熱刺激ではとくに allodynia はみられなかった。皮質脊髄路トレーシングの結果、活性化マクロファージ移植群において損傷部尾側に少数のラベルされた皮質脊髄路軸索を認めた。

【考察および結論】慢性期脊髄損傷モデルに対する活性化マクロファージ移植は若干の組織学的改善は認めたものの、機能回復促進にはいたらなかった。移植の部位 (本研究では損傷中心部だったが損傷周辺部に変えるなど)・移植細胞数・あるいはマクロファージ活性化のプロトコルなどさまざまな条件につき、さらに検討する余地がある。

¹千葉市立青葉病院整形外科 ²千葉大学大学院整形外科 ³千葉市立市立浜病院整形外科

1-3-32

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

佐久間 毅 山崎 正志 加藤 啓 高橋 宏
古矢 丈雄 山内 友規 川辺 純子 林 浩一
藤由 崇之 橋本 将行 橋本 光宏 国府田 正雄
大河 昭彦 高橋 和久

【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。われわれは 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。今回、われわれは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 phase-I/a を開始した。

【方法】圧迫性脊髄症急性増悪例 10 例に対し、本人の自由意志による文書同意を得た後、G-CSF 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ を連続 5 日間点滴静注投与した。平均年齢は 57.3 (32-75) 歳であった。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】白血球数は投与前 $6.2 \pm 1.8 \times 10^3/\text{mm}^3$ に対し投与翌日から 5 日目まで有意に上昇し、投与 3 日目に $33.8 \pm 6.6 \times 10^3/\text{mm}^3$ と最大値を認めた。神経所見については、G-CSF 投与後に全例で運動・感覚麻痺の改善を認めた。ASIA motor score では投与前 91.3 ± 7.1 に対し投与後 1 カ月で 97.6 ± 3.3 、light touch は投与前 94.7 ± 16.2 に対し投与後 1 カ月で 99.3 ± 16.8 、pin prick は投与前 88.6 ± 15.3 に対し投与後 1 カ月で 99.7 ± 12.1 でいずれも有意差を認めた。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。

【考察および結論】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。神経所見については、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。このことから 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十分に期待される。今後は G-CSF の治療効果の評価を主目的とする臨床試験 phase IIb に進みその有用性を確認する計画である。

千葉大学大学院医学研究院整形外科

1-3-33

ラット脊髄慢性圧迫モデルに対する prolyl hydroxylases (PHD) 阻害薬の効果

隅山 香織¹ 酒井 大輔¹ 渡辺 雅彦¹ 平山 令明²
宮田 敏男¹ 持田 譲治¹

【目的】hypoxia-inducible factor (HIF) は虚血性組織障害に対し恒常性を維持する機能や、glucose transporter 関与による抗アポトーシス作用等が報告されている。HIF の分解は、prolyl hydroxylases (PHD) が酸素環境に依存して関与することが報告されており、この活性を制御することにより HIF 活性が安定化して、細胞保護につながる可能性が示されている。われわれは、PHD の活性部位に結合して活性を抑制することにより、HIF 活性を安定させる効果を有するタンパク複合体の 1 つとして TM6008 を開発し、生体への安全性、マウス脳梗塞モデルへの経口投与による脳組織のアポトーシス抑制、神経保護作用を報告した (Thromb Vasc Biol, 2007)。これらの結果を踏まえ、今回、脊髄慢性圧迫モデルに TM6008 を経口投与した際の関連因子を評価し、効果と治療薬としての可能性について検討した。

【方法】ラット頸椎の背側に、24 時間で約 2 倍の体積に膨張するウレタン配合ポリマー体 (商品名アクアブレン) を硬膜の間に留置した。手術 24 時間後から、carboxymethyl cellulose に溶解した TM6008 を 100 mg/kg/日、1, 3, 5, 7 日間経口投与した群 (TM 群)、と PBS のみ投与した群 (コントロール群) の 2 群に分け、リアルタイム PCR 法と組織切片の免疫二重染色により評価した。

【結果】リアルタイム PCR では、TM 群 5 日目の HIF1 α の mRNA 発現がコントロール群 5 日目より有意に高い現象を認めた ($n=3$, $p<0.05$)。組織染色では、TM 群 7 日目の後索における TUNEL 陽性細胞はコントロール群 7 日目と比較して有意な減少を認めた。TM 群 7 日目における active caspase3/APC 陽性細胞は灰白質、後索ともコントロール群と比較して有意に少ない現象が認められた ($n=4$, $p<0.05$)。

【考察および結論】以上より、TM6008 の投与が HIF1 α の発現維持を促進した可能性が示唆された。免疫染色の結果からは後索の細胞のアポトーシスを抑制し、オリゴデンドロサイトを保護した可能性が考えられた。これらの結果から TM6008 の慢性脊髄圧迫に対する有効性が期待され、現在、さらに検討を重ねている。

¹東海大学医学部外科学系整形外科 ²東海大学総合医学研究
所 ³東北大学大学院医学系研究科分子病態解析分野

2-Pb-1

マウス脊髄損傷モデルに対する G-CSF 動員末梢血幹細胞移植の治療効果

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

【目的】近年、急性脊髄損傷 (SCI) に対する細胞移植療法の有効性が多数報告されているが、倫理的問題、腫瘍化等の問題等がいまだ解決されていない。一方、われわれは SCI に対する G-CSF の神経保護作用を明らかにすべく臨床試験を開始しているが、G-CSF 投与により骨髄中より末梢血中に動員される CD34 陽性造血幹細胞は下肢虚血性疾患や心筋梗塞において有用な治療法として報告されている。脊髄損傷モデルに G-CSF を静注投与しても末梢血中に動員された幹細胞が損傷脊髄内に入り生着するがその数は少ない。下肢虚血、心筋虚血例と同様 G-CSF にて末梢血中に動員された造血幹細胞を回収・濃縮して損傷脊髄内に直接移植することで治療効果を高められるという着想に至った。

【方法】8週齢の NOD/scid マウスに対し第 8 脚椎骨弓切除のうえ IH impactor を用いて脊髄圧挫損傷モデルを作成し、1週後に control 群には溶媒のみを、M 群にはヒト由来 G-CSF 動員単核球 1.5×10^6 個を、CD34 群にはヒト由来 G-CSF 動員 CD34 陽性幹細胞 1.5×10^6 個を損傷部に直接注入した。後肢運動機能は Basso Mouse Scale (BMS) で評価した。移植後 8 週でマウスを屠殺し脊髄の組織切片を作成し、組織学的および免疫組織学的検討を行った。移植細胞は抗ヒトミトコンドリア抗体による免疫染色で標識し、神経系・造血系等細胞マーカーとの二重染色にて移植細胞の分化を検討した。

【結果】BMS においては、control 群に比し、M 群、CD34 群ともに移植後期に改善の傾向がみられた。また、組織学的検討では control 群に比し M 群、CD34 群ともに神経組織の再生がみられた。また、免疫組織学的には移植細胞は M 群、CD34 群双方で損傷脊髄内に残存していた。

【考察および結論】臨床応用の面からは、G-CSF 投与により損傷脊髄急性期の二次損傷を軽減し、さらにその後動員される幹細胞を回収し損傷部へ移植することでさらなる脊髄損傷の機能回復が期待されることが示唆された。

千葉大学大学院整形外科

2-Pb-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

林 浩一¹ 橋本 将行² 国府田 正雄³ 山崎 正志¹
村田 淳¹ 大河 昭彦¹ 橋本 光宏¹ 佐久間 毅¹
高橋 宏¹ 高橋 和久¹

【目的】① Neural Stem Sphere (NSS) 法は ES 細胞より効率よく神経幹細胞を分化誘導できる。② Astrocyte が炎症の波及を防ぐ、再生軸索のガイダンスとなる、という脊髄損傷に対する有益面に関する報告も増えている。本実験の目的は、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、その効果を検討することである。

【方法】8週齢雌 SD ラットの第 9-10 胸椎レベルに、IH Impactor を用いて脊髄損傷を作成した。①脊髄損傷 3 日後に、10 万個/5 μ l の iPS 細胞由来 astrocyte を髄注したものを astrocyte 移植群 (N=20)、DMEM を髄注したものを DMEM 群 (N=10) とした。移植する前に PKH26Red 処理を行いマーカーとした。下肢運動機能評価として、BBB score を、inclined plane test, SCANET を行った。アロディニアの評価として、損傷 8 週時に thermal hyperalgesia test (熱刺激) と、mechanical allodynia test (圧刺激) を行い、非脊髄損傷ラット (N=5) も加えて検討した。組織学的検討として残存髄鞘量、GFAP 陽性面積、CGRP 陽性面積を計測した。②脊髄損傷後 7 日後に、astrocyte 移植群 (N=9)、DMEM 群 (N=7) として同様な実験を行っている。

【結果】① 3 日後移植：下肢運動機能評価に両群で有意差はなかった。Astrocyte 移植群はノーマル群に比し有意に熱刺激に過敏であり、ノーマル群と DMEM 群に比して有意に圧刺激に過敏であった。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、すべての項目で両群間に有意差はなかった。② 7 日後移植：下肢運動機能ならびに熱刺激・圧刺激において両群間に有意差はなかった。現在組織学的検討を行っている。

【考察および結論】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。astrocyte のアロディニアへの関与が示唆されたが、移植時期によりその効果に違いがみられた。

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



第45回

日本脊髄障害医学会

新たな風を松本より

プログラム・抄録集

会期／2010年10月21(木)・22日(金)

会場／長野県松本文化会館 (松本市)

会長／西澤 理 (信州大学医学部泌尿器科学教室)



1-3-10 圧迫性脊髄症急性増悪期例に対する顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) を用いた神経保護療法: Phase I/IIa臨床試験

Neuroprotective therapy using granulocyte-colony stimulating factor for rapid aggravating compression myelopathy: a Phase I and IIa clinical trial

¹千葉大学大学院医学研究院整形外科、²千葉市立青葉病院

○佐久間 毅¹、加藤 啓¹、高橋 宏¹、大河 昭彦¹、
国府田正雄²、山崎 正志¹

【目的】我々は、圧迫性脊髄症急性増悪期例に対する顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) を用いた神経保護療法について、安全性確認を主目的としたPhase I/IIa臨床試験を進めている。昨年の本学会で報告した第1段階のG-CSF 5 μ g/kg/日投与の安全性が確認されたのに引き続き、今回は、第2段階としてG-CSF 10 μ g/kg/日の投与を行った。【方法】圧迫性脊髄症急性増悪期例12例に対して本試験を施行した。本人の自由意思による文書同意を得た後、G-CSF 10 μ g/kg/日を連続5日間点滴静注投与した。投与後に有害事象の有無を確認し、運動・感覚麻痺の推移の評価を行った。【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: 脊髄症 (myelopathy)、顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF)、神経保護療法 (neuroprotective therapy)

1-3-11 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の検討～第3報～

Neuroprotective therapy using granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) for acute spinal cord injury: a phase I and IIa clinical trial: the third report

¹千葉大学大学院医学研究院整形外科

○高橋 宏¹、国府田正雄¹、橋本 将行¹、佐久間 毅¹、
大河 昭彦¹、山崎 正志¹

【目的】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について、安全性確認を主目的とするphase I・IIa臨床試験を進めている。今回は、その進捗状況について報告する。【方法】平成20年4月から平成22年3月の期間に、同意の得られた急性期脊髄損傷患者17例に対しG-CSF投与を行った。最初の5例には5 μ g/kg/日、続く12例には10 μ g/kg/日で連続5日間点滴静注した。有害事象の有無を調査し、神経症状の推移 (ASIA score、AIS) および血液所見の評価を行った。【結果】AISは17例中8例で一段階の改善を認めた。ASIA motor scoreは投与開始翌日より有意な改善を認め ($p < 0.01$)、sensory scoreは投与開始3日目より有意に改善した ($p < 0.05$)。白血球数は投与開始翌日から、投与前に比して有意に上昇し ($p < 0.01$)、投与期間中高値が維持され、最終投与の3日後には投与前の値に戻った。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)、神経保護療法 (neuroprotective therapy)、臨床試験 (clinical trial)

2-3-09 胸椎sagittal alignmentの動的変化

Dynamic Changes of Sagittal Alignment in the Thoracic Spine

¹中部労災病院整形外科

○森田 大悟¹、湯川 泰紹¹、伊藤 圭吾¹、中島 宏彰¹、
町野 正明¹、加藤 文彦¹

胸椎は胸郭によって安定し可動性が少なく、頸腰椎と比較すると脊椎動態の関与は少ないと考えられてきたが、これまでに胸椎動態に関する報告はない。胸椎矢状断alignmentにおける動的因子の関与をmulti detector-row CT (MDCT) を用いて検討した。対象は胸椎疾患のない成人50名(平均年齢55.4歳)である。仰臥位で胸椎の可及的前屈位と後屈位でMDCTを撮影し、各椎体上縁間の後弯角を測定した。Th 1-2からTh10-11にかけてTh6-7を中心に緩やかに後弯を示し、Th11-12は再度後弯角が増加した。可動域はTh4/5を中心に凹状に変化し、Th 1/2で最大4.0°の可動性を認めた。Th1-12の後弯は前屈位で37.4°、後屈位で10.4°であった。胸髄症診療においても動的因子は考慮すべきであり、各高位における特徴を踏まえて治療にあたる必要がある。

Keyword: 胸椎 (thoracic spine)、矢状断アライメント (sagittal alignment)、動的変化 (dynamic change)

2-3-10 脊柱靭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

Granulocyte-colony stimulating factor showed a remarkable effect for neuropathic pain due to ossification of the spinal ligament: report of 2 cases

¹千葉大学大学院医学研究院整形外科学、²千葉市立青葉病院

○佐久間 毅¹、加藤 啓¹、高橋 宏¹、大河 昭彦¹、国府田正雄²、山崎 正志¹

【目的】脊髄障害性疼痛症候群では、脊柱靭帯骨化症や脊髄損傷などに起因してアロペニアが生じ、通常の薬剤に対しては治療抵抗性である。我々は、脊柱靭帯骨化症に伴って脊髄障害性疼痛が生じた2例で、G-CSF投与が疼痛を著明に軽減させたので、この経過を報告する。【症例1】胸椎後縦靭帯骨化症に伴う脊髄症に対しG-CSFを連続5日間点滴静注投与した。投与後より神経症状の改善と共に、障害高位に一致して存在した疼痛が消失した。

【症例2】胸椎黄色靭帯骨化症に伴う脊髄症に対しG-CSFを連続5日間点滴静注投与した。投与後より神経症状の改善と共に両大腿内側の疼痛が消失した。【結果】症状の経過に程度の差はあるものの、2例とも疼痛の改善が得られた。G-CSF投与期間中および投与後に有害事象の発生はなく、脊髄障害性疼痛の症状改善に有効である可能性が示唆された。

Keyword: 脊髄障害性疼痛 (neuropathic pain)、異痛症 (allodynia)、顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF)

38TH
THIRTY-EIGHTH ANNUAL MEETING

OF THE

CERVICAL SPINE RESEARCH SOCIETY



FOUNDED 1973

December 2–4, 2010

**The Westin Charlotte
Charlotte, North Carolina**

www.csr.org

Paper #56**Neuroprotective Therapy using Granulocyte Colony-Stimulating Factor (G-CSF) for Acute Spinal Cord Injury: A Phase I and IIa Clinical Trial**

Hiroshi Takahashi, MD, Chiba, Japan (n) Nothing;
Masashi Yamazaki, MD, PhD, Chiba, Japan (n) Nothing;
Akihiko Okawa, MD, PhD, Chiba, Japan (n) Nothing;
Masao Koda, MD, PhD, Chiba, Japan (n) Nothing;
Masayuki Hashimoto, MD, PhD, Chiba, Japan (n) Nothing;
Mitsuhiro Hashimoto, MD, Chiba, Japan (n) Nothing;
Tsuyoshi Sakuma, MD, Chiba, Japan (n) Nothing;
Kei Kato, MD, Chiba, Japan (n) Nothing;
Kazuhisa Takahashi, MD, PhD, Chiba, Japan (n) Nothing

Introduction: Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) is a 19.6 kDa glycoprotein and an important cytokine that is commonly used to treat neutropenia. Several reports have indicated that G-CSF also has non-hematopoietic functions and could potentially be used as a drug for neuronal injury, including stroke and neurodegenerative disease. Thus, we hypothesized that administration of G-CSF might have neuroprotective effects for acute spinal cord injury (SCI), and examined its effect using compression-induced spinal cord injury models in rodents. We previously reported that G-CSF mobilized bone marrow-derived cells into the injured spinal cord, and directly suppressed neuronal apoptosis (Brain Res 1149:223, 2007, J Neuropathol Exp Neurol 66:724, 2007). Based on those results, we have started a phase I and IIa clinical trial to assess the safety and feasibility of neuroprotective therapy using G-CSF for patients with acute SCI. The aim of the present study was to confirm the safety and feasibility of G-CSF administration for acute SCI.

Methods: The trial was performed in a total of 17 SCI patients within 48 hours of onset. Informed consent was obtained from all patients. In the first step, G-CSF (5 µg/kg/day) was intravenously administered for five consecutive days to five patients (5 µg group). In the second step, G-CSF (10 µg/kg/day) was similarly administered to 12 patients (10 µg group). We evaluated the presence of adverse events related to the G-CSF therapy. We also evaluated motor and sensory functions of the patients using American Spinal Cord Injury Association (ASIA) score and ASIA impairment scale (AIS).

Results: In all 17 patients, neurological improvement was obtained after G-CSF administration. AIS increased one step in 8 of 17 patients. A significant increase of ASIA motor score was detected one day after the injection ($p < 0.01$), and both light touch and pin prick scores improved three days after the injection ($p < 0.05$). Mean white blood cell (WBC) counts rose to $28.6 \pm 3.2 (\times 10^3/\mu\text{L})$ in the 5 µg group and 25.9 ± 6.1 in $\times 10^3/\mu\text{L}$ group one day following the start of G-CSF therapy. During the administration, WBC counts remained at higher levels than those observed before administration ($p < 0.01$). Three days after the final administration, WBC counts returned to the pre-administration levels. No adverse effects were seen after G-CSF injection.

Conclusion: We have initiated a clinical trial of neuroprotective therapy using G-CSF for acute SCI. The results indicate that low to moderate doses of G-CSF are essentially safe and a degree of neurological recovery was obtained in all patients. We suggest that G-CSF could be a therapeutic drug for injured spinal cord.

See Disclosure Index pages 40–79/ or legend on inside back cover.

Neuroprotective Therapy using Granulocyte-Colony Stimulating Factor for Rapidly Aggravating Compression Myelopathy: A Phase I and IIa Clinical Trial

Tsuyoshi Sakuma, MD, Chiba, Japan (n) Nothing;
Masashi Yamazaki, MD, Chiba, Japan (n) Nothing;
Masao Koda, MD, PhD, Chiba, Japan (n) Nothing;
Kei Kato, MD, Chiba, Japan (n) Nothing;
Hiroshi Takahashi, MD, Chiba, Japan (n) Nothing;
Mitsuhiro Hashimoto, MD, Chiba, Japan (n) Nothing;
Akihiko Okawa, MD, PhD, Chiba, Japan (n) Nothing

Introduction: 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.

Methods: At the first stage of this trial, we confirmed the safety of administering G-CSF at 5 µg/kg/day. In the present study, the second stage of this trial, we investigated the administration of G-CSF at 10 µg/kg/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 µg/kg/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.

Conclusion: 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 points for motor function, 92 for soft touch and 88 for pin prick. One month after completing administration, the mean score improved to 98 points for motor function, 99 for soft touch and 100 for pin prick. On the day following the start of G-CSF therapy, the mean white blood cell count increased to more than $22.7 \times 10^3/\mu\text{L}$. 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.

平成22年度
厚生労働科学研究費研究成果等普及啓発事業

医療機器開発推進研究

低侵襲・非侵襲医療機器
(ナノテクノロジー) 研究

医療技術実用化総合研究

臨床研究推進研究

合同成果発表会 要 旨 集

日時：平成23年2月24日（木）9時30分～17時15分
場所：シェンバツハ・サポー（砂防会館別館）

主催：財団法人 医療機器センター