

表 1 G-CSF 療法における三角筋、上腕二頭筋の MMT の推移

	投与前	1W	1M	3M	6M	1Y
三角筋 (Rt.)	3	4	5	5	5	5
(Lt.)	4	5	5	5	5	5
上腕二頭筋 (Rt.)	3	4	4	4	3	4
(Lt.)	4	5	5	5	4	5

との報告があり、保存療法で速やかに回復する症例には手術療法が介入する必要はない。一方、3ヵ月以上症状の改善が見られず、筋萎縮が進行する症例に対しては手術療法を選択されることが多いが、筋萎縮が長期間経過した症例では手術成績は不良と考えられている<sup>4)</sup>。本症例も発症後1年と経過が長く、筋力の改善を認めず筋萎縮も伴っていたため手術療法の適応と考えられたが、当科初診以降も進行性であったため、はじめに神経保護療法であるG-CSF療法を行った。投与後早期より筋力の改善を認め、その効果は投与後1年の時点においても維持され、結果として手術療法を回避することができた。

G-CSFの神経保護効果については、我々の基礎実験において、G-CSFにより動員された骨髄由来細胞が脊髄損傷部に生着すること<sup>2)</sup>、直接的に脊髄損傷後神経細胞のアポトーシスを抑制すること<sup>5)</sup>、Oligodendrocyteの細胞死を抑制し髄鞘を保護すること、炎症性サイトカイン(TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ )発現を抑制すること<sup>6)</sup>、血管新生を促進すること<sup>7)</sup>などを示してきた。トランスレーショナルリサーチとして急性脊髄損傷に対するG-CSF療法の自主臨床試験を開始し、Phase I/IIa試験でその安全性を確認した<sup>8)</sup>。また、圧迫性脊髄症急性増悪例に対するPhase IIb臨床試験の多施設前向き比較対照試験では、神経症状が投与後1ヵ月で対照群と比較し有意に改善したことを報告した<sup>9)</sup>。

本症例において想定されるG-CSFの作用機序としては、C5・6髄節に限局した麻痺の回復を促進した経過より、神経細胞に直接作用したことが挙げられる。頸椎症性筋萎縮症に対しても一定の筋力改善効果が認められたことから、G-CSF療法は頸椎症性筋萎縮症に対する治療の一つの選択肢となる可能性が示唆された。

頸椎症性筋萎縮症に対しG-CSF神経保護療法を施行し、筋力の改善が得られ手術療法を要しなかった1例を経験した。一定の筋力改善効果が認められ、G-CSF療法は頸椎症性筋萎縮症に対する治療の一つの選択肢となる可能性がある。

#### 【文献】

- 1) Shyu WC, Lin SZ, Lee CC, et al. Granulocyte colony-stimulating factor for acute ischemic stroke: a randomized controlled trial. *CMAJ* 2006; 174: 927-933
- 2) Koda M, Nishio Y, Kamada T, et al. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) mobilizes bone marrow-derived cells into injured spinal cord and promotes

functional recovery after compression-induced spinal cord injury in mice. *Brain Res* 2007; 1149: 223-231

3) 安藤哲朗：頸椎症性筋萎縮症の症候。脊髄脊髄 2009; 22 (10) : 1104-1109

4) 永田見生, 佐藤公昭, 津留美智代, 他：頸椎症性筋萎縮症 (Keegan 型上肢運動麻痺) に対する保存療法の治療成績と限界。脊髄脊髄 2009; 22(10): 1117-1123

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

6) Kadota R, Koda M, Kawabe J, et al. Granulocyte Colony-Stimulating Factor (G-CSF) Protects Oligodendrocyte and Promotes Hindlimb Functional Recovery after Spinal Cord Injury in Rats. *PLoS One* 2012; 7(11): e-5039

7) Kawabe J, Koda M, Hashimoto M, et al. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) exerts neuroprotective effects via promoting angiogenesis after spinal cord injury in rats. *J Neurosurg Spine* 2011; 15: 414-421

8) Takahashi H, Yamazaki M, Okawa A, et al. Neuroprotective therapy using granulocyte colony-stimulating factor for acute spinal cord injury: a phase I/IIa clinical trial. *Eur Spine J* 2012; 21: 2580-2587

9) Sakuma T, Yamazaki M, Okawa A, et al. Neuroprotective Therapy Using Granulocyte Colony-Stimulating Factor for Patients With Worsening Symptoms of Thoracic Myelopathy. *SPINE* 2012; 37: 1475-1478

利益相反：無

## 胸椎 OPLL に伴う脊髄症急性増悪に対して G-CSF 神経保護療法を併用して後方除圧固定術を施行した 7 例の検討

Evaluation of Acute Progressive Compression Myelopathy of Thoracic OPLL Treated with Posterior Decompression and Fusion after G-CSF Neuroprotective Therapy : A Case Series

神谷光史郎 山崎正志 大河昭彦 古矢丈雄 佐久間毅  
高橋 宏 加藤 啓 稲田大悟 高橋和久

Koshiro Kamiya, Masashi Yamazaki, Akihiko Okawa, Takeo Furuya, Tsuyoshi Sakuma, Hiroshi Takahashi, Kei Kato, Taigo Inada, Kazuhisa Takahashi

### 要 旨

われわれは顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)を用いた神経保護療法の自主臨床試験を進めている。今回、脊髄症の急性増悪をきたした胸椎 OPLL 例に対して G-CSF 神経保護療法の後、後方除圧固定術を行った 7 例の神経症状の推移を検討した。その結果、全例で脊髄症の急性増悪を食い止めることができ、5 例で術前に神経症状が改善した。G-CSF は胸椎 OPLL による重度の脊髄症にも効果を発揮し、さらに手術を行うことで、良好な結果が得られた。

### Abstract

**Objective :** We have previously reported that granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) promotes functional recovery in patients with acute worsening thoracic myelopathy symptoms (Spine 37 : 1475, 2012). In this study, we have examined neurological function of the seven patients with acute worsening thoracic myelopathy symptoms because of ossification of posterior longitudinal ligament (OPLL) who received G-CSF neuroprotective therapy followed by posterior decompression surgery with instrumented fusion.

**Methods :** Seven thoracic OPLL patients (six male and one female) were investigated. Patients whose Japanese Orthopedic Association (JOA) score for thoracic myelopathy had decreased 2 points or more during a recent 1-month period were eligible for the present trial. G-CSF (10  $\mu$ g/kg/day) was administered intravenously for five consecutive days. One month after the administration of G-CSF, we performed the surgery, and observed neurological status for one year. The primary outcome was the JOA score recovery rate. We also evaluated motor and sensory functions according to the American Spinal Injury Association (ASIA) score.

**Results :** The mean age at the time of administration of G-CSF was 43.4 years. The JOA score (full score = 11 points) immediately before G-CSF administration or initial treatment was  $3.5 \pm 1.3$ , and the preoperative score after G-CSF was  $4.5 \pm 2.3$ . Therefore preoperative recovery rate was  $19.0 \pm 20.7\%$ . At the final follow-up, JOA score was  $8.1 \pm 1.5$  and recovery rate was  $60.2 \pm 20.7\%$ .

After G-CSF treatment, ASIA motor score showed  $2.4 \pm 3.0$  points improvement and sensory score showed  $7.1 \pm 12.2$  points improvement.

Conclusion : G-CSF treatment attenuated the progression of worsening myelopathy in all cases. Improvement of the myelopathy before surgery by G-CSF neuroprotective therapy was observed in 5 cases. No serious adverse events occurred during the follow-up period. Thus, the present results suggest that G-CSF administration exhibited a neuroprotective effect for the injured spinal cord in patients with worsening symptoms of OPLL-induced thoracic myelopathy. Moreover, surgery under G-CSF-mediated protection for the spinal cord might be able to reduce the risk of postoperative paralysis. Preoperative neuroprotective therapy using G-CSF is quite useful.

Key words : 顆粒球コロニー刺激因子 (granulocyte colony-stimulating factor), 神経保護療法 (neuroprotective therapy), 胸椎後縦靱帯骨化症 (thoracic posterior longitudinal ligament)

## はじめに

われわれは千葉大学医学部附属病院の治験審査委員会の承認を得て、圧迫性脊髄症急性増悪患者に対して、顆粒球コロニー刺激因子(以下 G-CSF)神経保護療法の医師主導型自主臨床試験を進めている。臨床試験の規定に基づき、脊髄症の急性増悪として、直近の1か月間に日本整形外科学会頸髄症判定基準(JOA スコア)が2点以上悪化した頸髄症、胸髄症患者で、治験に参加希望した患者を対象とした。神経保護を目的に G-CSF 10  $\mu$ g/kg/day 5日間点滴静注を行い、効果判定のため、投与から1か月間は手術を行わないことを原則とし、1か月以降は症状に応じて適当な時期に手術を施行した。その中で圧迫性胸髄症の急性増悪例の神経症状は、投与後1か月で対照群と比較し有意に改善したことを報告している<sup>3)</sup>。胸椎後縦靱帯骨化症(OPLL)は一般的に手術成績が不良であることが言われており、今回自主臨床試験の中で、胸椎 OPLL で手術を行った症例に限って、神経症状の推移を検討した。

## 対象と方法

2009年8月から2012年3月の間で、治験に参加した胸椎 OPLL 患者で手術を行い、投与後1年間経過観察し得た症例は7例であった。経過中の神経症状の推移を、上肢スコアを除いた JOA スコア11点満点と、American Spinal Injury Association (ASIA)スコアの上肢スコアを除いた運動スコア

50点満点、痛覚スコア98点満点で評価した。

## 結果

性別は男性6名、女性1名で、平均年齢は43.4歳で、全例 G-CSF 連続5日間点滴静注を行い、効果判定のため投与から1か月間は手術治療を行っていない。G-CSF 投与から手術までは特に安静とせず、必要なりハビリテーションなど行い、待機期間は平均  $75.6 \pm 44.4$  日であった。各症例の JOA スコアの推移を図1に示す。全例で JOA スコアの悪化は G-CSF の投与で食い止められ、手術前までに JOA スコアが改善した例が5例、不変の例が2例で、G-CSF 投与前の JOA スコアは低い傾向があった。全体の JOA スコアの平均の推移をまとめると、G-CSF 投与開始直前の JOA スコアは平均  $3.5 \pm 1.3$  点で、G-CSF 投与後手術直前の JOA スコアは平均  $4.6 \pm 2.3$  点と有意 ( $p <$

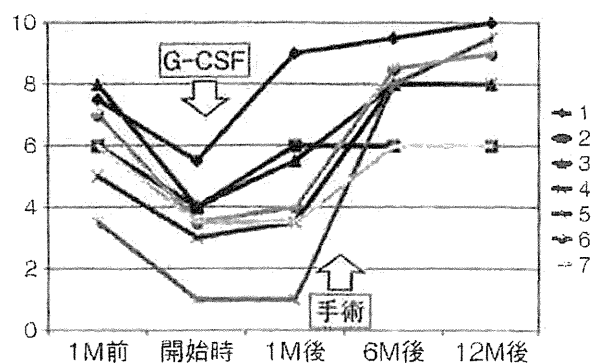


図1 各症例の JOA スコア推移

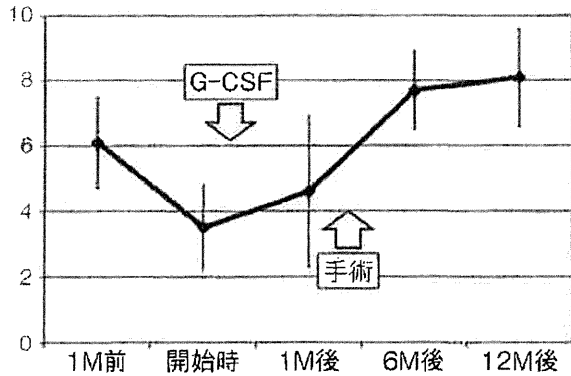


図2 JOAスコアの推移

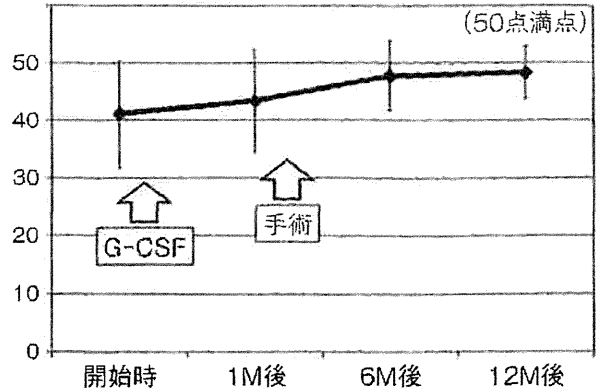


図3 運動スコアの推移

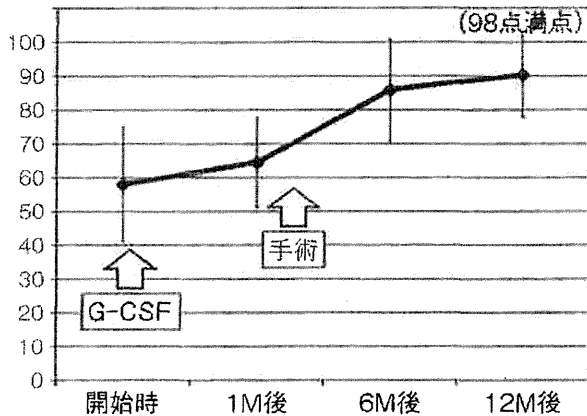


図4 痛覚スコアの推移

0.05)に改善し、手術を行い、最終観察時は平均  $8.1 \pm 1.5$ 点とJOAスコアは術前後でも有意に( $p < 0.05$ )に改善した(Wilcoxon signed-rank test)(図2)。G-CSF投与後の待機期間における改善率は平均  $19.0 \pm 20.7\%$ 、最終観察時の改善率は平均  $60.2 \pm 20.7\%$ であった。各症例の運動スコアは、全例でG-CSF投与で改善傾向を示し、全体で見ると、投与前平均  $41.1 \pm 9.35$ で、G-CSF投与後手術直前  $43.4 \pm 8.9$ で、待機期間中の運動スコア増加点数は平均  $2.4 \pm 3.0$ 点であった。手術後最終観察時は平均  $48.3 \pm 4.54$ で、最終増加点数は平均  $7.1 \pm 6.0$ 点であった(図3)。各症例の痛覚スコアは1例で悪化を認めた以外は、G-CSF投与で改善傾向を示し、手術でさらに改善を示した。悪化を認めた1例も手術後満点に改善した。全体の痛覚スコアを図4に示すように推移し、投与前平均  $58.0 \pm 17.0$ で、G-CSF投与後手術直前  $64.5 \pm 13.3$ で、待機期間中の痛覚スコア増加点数は平均  $7.1 \pm 12.2$ 点であつ

た。手術後最終観察時は平均  $90.4 \pm 12.6$ で、最終増加点数は平均  $23.7 \pm 10.9$ 点であった。

### 症例提示

53歳男性、身長170cm、体重140kgでBMI 48.4と高度肥満であり、3回ほどの転倒歴があり歩行不能で、下肢近位筋優位の筋力低下、T5以下の痛覚脱失を認めた。JOAスコア3.5点、運動スコア42点、痛覚スコア21点であった。CTでは頸椎C2レベルから上位胸椎まで多椎間に及ぶOPLLを認め、特にT1/2、T2/3レベルで占拠率が大きかった。MRIでもC3/4からT4/5レベルのOPLLによる硬膜管の圧排を認め、T2/3レベルが最大圧迫高位の所見であった(図5)。胸椎OPLLによる胸髄症急性増悪の診断で、G-CSF神経保護療法を行い、その間に減量、投与後3か月でJOAスコア4.5点、運動スコア50点、痛覚スコア58点に改善、後方除圧固定術を行った。最終診察時JOAスコア9点、JOAスコア改善率は73.3%と良好であった。ASIAスコアも手術後3か月で運動スコア50点、痛覚スコア98点と満点に改善し、最終観察時まで維持された。

### 考察

われわれは脊髄損傷・圧迫性脊髄症急性増悪例に対するG-CSF神経保護療法を行ってきた<sup>5)6)</sup>。G-CSFの損傷脊髄への作用として、G-CSFにより動員された骨髄由来細胞が脊髄損傷部に生着す

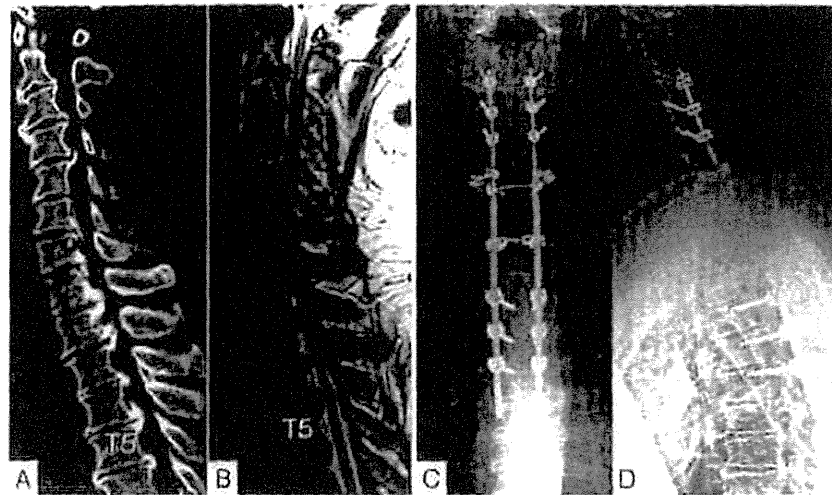


図5 A:術前CT, B:術前MRI, C, D:術後X-p

る<sup>3)</sup>, 直接的に脊髄損傷後神経細胞のアポトーシスを抑制する<sup>4)</sup>, Oligodendrocyteの細胞死を抑制し髄鞘を保護する, 炎症性サイトカイン(TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ )の発現を抑制する<sup>1)</sup>, 血管新生を促進する<sup>2)</sup>ことなどを基礎実験で示してきた。基礎実験に基づき開始された, 自主臨床試験において, 圧迫性胸髄症に対するPhase IIb臨床試験の多施設前向き比較対照試験で, 神経症状が投与後1か月で対照群と比較し有意に改善したことを報告した<sup>5)</sup>。

胸椎OPLLは, 胸椎の生理的後弯, 血管支配の分水界による脊髄の脆弱性, 多椎間にわたる病変, 黄色靭帯骨化症などの合併により, 重度の脊髄障害を呈しやすく, 一般に手術成績も不良である<sup>7)</sup>。本研究では, G-CSF投与で, 胸椎OPLLによる脊髄症の急性増悪を全例で阻止することができた。つまりG-CSFは重度の障害脊髄に対しても神経保護効果を発揮したと考えられる。また, G-CSF後に胸椎後方除圧固定術を施行し, 術後成績と合わせて良好な改善を示したことから, 障害脊髄を保護した状態で手術を行うことで術後麻痺のリスクを軽減し, 手術成績向上の一助となる可能性があると考えられた。また, 本研究では, 結果的に手術までの待機期間が長くなっており, 待機期間に脊髄症の急性増悪を全例で阻止することができたことは, 実際に合併症などで手術までの待機が

必要な患者に対しても, G-CSF神経保護療法を行うことで神経症状の改善を促進または悪化を回避することができる可能性が示唆された。

#### 文献

- 1) Kadota R, Koda M, Kawabe J et al : Granulocyte Colony-Stimulating Factor (G-CSF) Protects Oligodendrocyte and Promotes Hindlimb Functional Recovery after Spinal Cord Injury in Rats. *PLoS One*. 2012 ; 7 (11) : e50391.
- 2) Kawabe J, Koda M, Hashimoto M et al : Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) exerts neuroprotective effects via promoting angiogenesis after spinal cord injury in rats. *J Neurosurg Spine*. 2011 ; 15 : 414-421
- 3) Koda M, Nishio Y, Kamada T et al : Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) mobilizes bone marrow-derived cells into injured spinal cord and promotes functional recovery after compression-induced spinal cord injury in mice. *Brain Res*. 2007 ; 1149 : 223-231
- 4) Nishio Y, Koda M, Kamada T et al : Granulocyte colony-stimulating factor attenuates neuronal death and promotes functional recovery after spinal cord injury in mice. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2007 ; 66 : 724-731
- 5) Sakuma T, Yamazaki M, Okawa A et al : Neuroprotective therapy using granulocyte colony-stimulating factor for patients with worsening symptoms of thoracic myelopathy. *Spine*. 2012 ; 37 : 1475-1478
- 6) Takahashi H, Yamazaki M, Okawa A et al : Neuroprotective therapy using granulocyte colony-stimulating factor for acute spinal cord injury : a phase I/IIa clinical trial. *Eur Spine J*. 2012 ; 21 : 2580-2587
- 7) 山崎正志・胸椎後縦靭帯骨化症例に対する後方除圧固定術の適応と成績. *脊椎脊髄*. 2002 ; 15 : 98-103

# 脊柱短縮術を施行した脊髄係留症候群の1例

—G-CSF 神経保護療法による予後予測の可能性

Spinal Shortening Osteotomy in a Patient with Tethered Cord Syndrome

—Reaction to G-CSF Neuroprotective Therapy as a Possible Predictor of Surgical Outcome

稲田大悟 山崎正志 大河昭彦 古矢丈雄 佐久間 毅  
高橋 宏 加藤 啓 神谷光史郎 高橋和久

Taigo Inada, Masashi Yamazaki, Akihiko Okawa, Takeo Furuya, Takeshi Sakuma,  
Hiroshi Takahashi, Kei Kato, Koshiro Kamiya, Kazuhisa Takahashi

## 要旨

脊髄係留症候群に対し G-CSF 神経保護療法を施行した後、脊柱短縮術を施行した1例を経験した。症例は55歳女性で、右下腿の疼痛・しびれ、筋力低下を主訴とした。術前に G-CSF 療法を施行し、投与後約3か月間は下肢痛、筋力が改善した。脊柱短縮術は T12 レベルにて行った。術後、G-CSF 療法とほぼ同程度の疼痛および筋力の改善が得られたことから、G-CSF 療法は術後成績をある程度予測できる可能性がある。

## Abstract

The authors report a case of tethered cord syndrome who were successfully treated by spinal shortening osteotomy. The patient was a 55-year-old woman, and she suffered from pain, numbness and motor weakness of the right lower limb. She underwent the granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) neuroprotective therapy before surgery. Three months after G-CSF administration, she showed improvement of the pain and motor weakness of the right lower limb. However, her symptoms became worse again. Thus we performed the spinal shortening osteotomy by partial resection of the upper end of the T12 vertebral body. Pain relief and motor recovery was obtained after the surgery. The degree of the improvement after the surgery was as same as that observed after G-CSF therapy. Therefore, the reaction to the G-CSF therapy might predict surgical outcome.

**Key words:** 脊髄係留症候群 (tethered cord syndrome), 脊柱短縮術 (spinal shortening osteotomy), G-CSF 神経保護療法 (Neuroprotective therapy of granulocyte colony-stimulating factor)

## はじめに

脊髄係留症候群に対する手術術式は稽留解除術と脊柱短縮術に大別されるが、手術適応および術後成績については一定の見解がない。われわれは顆粒球コロニー刺激因子 (Granulocyte colony-stimulating factor : G-CSF) 神経保護療法の医師主

導型自主臨床試験を進めている<sup>3)8)9)</sup>。今回 G-CSF 神経保護療法にて一定の症状改善が得られた後、脊柱短縮術を施行し、術後に G-CSF 療法後と同等の症状改善が得られた1例を経験したので報告する。

千葉大学大学院医学研究院整形外科学〔〒260-8670 千葉市中央区亥鼻1-8-1〕Department of Orthopaedic Surgery, Chiba University

## 症例供覧

患者：55歳，女性。

主訴：右下腿の疼痛・しびれ，歩行障害

現病歴：幼少期より臀部に腫瘤を自覚していたが無症状であった。47歳頃から右足の疼痛としびれが出現し，徐々に増悪したため49歳時に前医受診し，二分脊椎・髄膜瘤と診断され保存加療にて経過観察となった。51歳時，右下腿の筋力低下，歩行障害も出現してきたため，当科を紹介受診となった。

既往歴：特記すべきことなし。

初診時身体所見：臀部中央に弾性軟，可動性に乏しい児頭大の腫瘤を認めた(図1)。右L5，S1領域を中心とする疼痛，感覚鈍麻があり，筋力は右前脛骨筋，右腓腹筋，右長母趾屈筋でMMT4程度の筋力低下を認めた。両アキレス腱反射は低下し，尿失禁などの膀胱直腸障害も認めた。歩行は階段昇降にて手すりを必要とし，JOAスコアは11点満点中6.5点であった。

画像所見：CTではL5-S1に二分脊椎を認めた(図2)。MRIにて脊髓円錐部は第4腰椎レベルまで達し，下垂した脊髓円錐部が皮下脂肪腫と連続する，榊原分類 Grade III の脊髓髄膜瘤を呈していた(図3)。

経過：初診時の段階では本人が手術については

決断できず経過観察としたが，53歳時(初診後1年6か月経過)，右下肢筋力低下がMMT0-1程度まで進行し，S1領域以下がほぼanalgesiaとなり，同部の疼痛も増強した。この時点でも手術は決断できず，やむなく本人と相談の上G-CSF神経保護療法を開始した。

G-CSF神経保護療法は，フィルグラスチム10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ を連続5日間点滴静注にて行った。投与直後より疼痛は著明改善，感覚・筋力も軽度ではあるが改善を認めたが，その効果は3か月程度

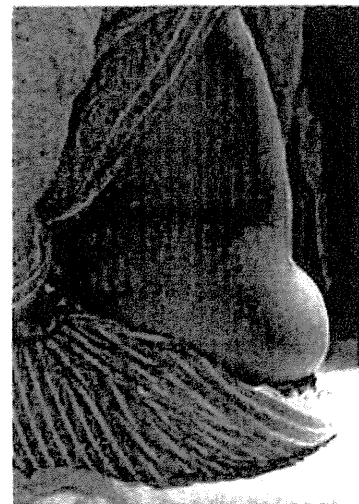


図1 臀部中央に弾性軟，可動性に乏しい児頭大の腫瘤を認める



図2 (a)CT矢状断再構築像 (b)水平断像(L5) (c)水平断像(S1)



図3 (a)MRIT2矢状断像 (b)水平断像(S1)

であった。その後症状が再燃したため、初回 G-CSF 投与 1 年経過の後、再度同療法を施行した。効果は 1 回目同様、投与後早期の疼痛改善と神経症状の改善を認めたが、改善期間は 3 か月間程度であった。この時点で本人が手術を希望したため、脊柱短縮術を施行した。

手術：前後合併手術とし、後方進入にて T9 から L2 の範囲で椎弓根スクリューを用いた後方固定を行い、T11, 12 椎弓、両側 12 肋骨頭を切除し、T12 頭側 1/3 を開削して約 20mm、硬膜管がたわむ程度短縮した。さらに前方進入にて、ケージを使用し T12/L1 椎体間固定を行った(図 4)。

術後経過：後療法は外固定として胸腰椎硬性コルセットを作成し、コルセット装着下に離床訓練を開始した。術後 1 か月の時点で、右下肢痛は G-CSF 療法後と同等の程度まで改善、下肢筋力も MMT1-2 程度と軽度改善を認めた。

## 考 察

脊髄脂肪腫による脊髄係留症候群に対する手術治療は、従来、脊髄解離術により脊髄の緊張を解除する方法が行われてきたが、脂肪と脊髄の解離困難や再癒着にともなう再発も指摘されている<sup>1)</sup>。一方、脊柱短縮術は硬膜内の操作を行わず脊柱を短縮して脊髄の緊張を緩める方法であり、1995 年国分らが初めて報告した<sup>6)</sup>。その後、田中らは脊髄係留症候群の 9 例に対し脊柱短縮術を施行し、8 例で神経学的改善が得られ良好な成績を

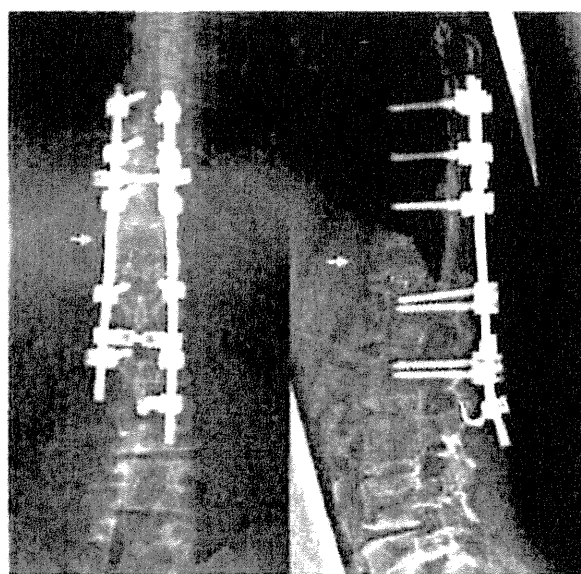


図4 術後単純レントゲン像(矢印：第12胸椎)

報告している<sup>10)</sup>。脊柱短縮術における安全な短縮の長さについては明確なエビデンスはないが、過去の報告では平均 20mm の短縮が安全に行えたとしている<sup>11)</sup>。本症例も 20mm 程度の短縮を行い、神経合併症なく症状の改善を得ることができた。

G-CSF は血液系に作用する増殖因子であり、本邦では白血球減少症に対してや造血幹細胞の末梢血への動員のための投与が臨床的に使用されている薬剤である。一方、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などが報告されている<sup>9)</sup>。そこで我々は損傷脊髄に対しても G-CSF の神経保護効果があるという仮説を立て、基礎実験において、G-CSF により動員された骨髄由



来細胞が脊髄損傷部に生着すること<sup>5)</sup>、直接的に脊髄損傷後神経細胞のアポトーシスを抑制すること<sup>7)</sup>、Oligodendrocyteの細胞死を抑制し髄鞘を保護すること、炎症性サイトカイン(TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ )発現を抑制すること<sup>2)</sup>、血管新生を促進すること<sup>1)</sup>などの効果を示してきた。トランスレーショナルリサーチとして急性脊髄損傷に対するG-CSF療法の自主臨床試験を開始し、Phase I/IIa試験でその安全性を確認<sup>10)</sup>し、圧迫性脊髄症急性増悪例に対するPhase IIb臨床試験の多施設前向き比較対照試験では、神経症状が投与後1か月で対照群と比較し有意に改善したことを報告した<sup>3)</sup>。さらに脊髄障害性疼痛に対するG-CSF療法の有用性も検討し、術後遺残性疼痛に対し一定の効果が示唆されることを報告した<sup>3)</sup>。脊髄係留症候群の病態生理については不明な点も多いが、腰仙髄の伸長による酸素代謝の異常が脊髄機能障害と関連するといった報告があり<sup>12)</sup>、G-CSFによる神経保護作用を期待し臨床試験を施行した。本症例においても投与後の疼痛軽減が著明であり、神経症状の改善が得られたことから、G-CSFが脊髄障害部位に直接作用し、神経症状の改善を得たことが考えられる。また、G-CSF投与により術前一定期間の疼痛の軽減効果、神経症状の改善を示し、術後G-CSF療法後と同等の症状の改善を得たことから、術後成績をある程度予測できる可能性が示唆された。

## 結 語

脊髄係留症候群に対し脊柱短縮術を施行した一例を経験した。術前G-CSF療法にて一定の神経症状の改善が得られ、T12レベルでの脊柱短縮術施行し、G-CSF療法と同程度の症状の改善が得られたことから、G-CSF療法は術後成績をある程度予測できる可能性がある。

## 文献

- 1) Hiittmann S, Krauss J, Collmann H et al : Surgical management of tethered spinal cord in adults : report of 54 cases. *J Neurosurg.* 2001 ; 95 : 173-178
- 2) Kadota R, Koda M, Kawabe J et al : Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) protects oligodendrocyte and promotes hindlimb functional recovery after spinal cord injury in rats. *PLoS One.* 2012 ; 7 : e50391
- 3) Kato K, Yamazaki M, Okawa A et al : Intravenous administration of granulocyte colony-stimulating factor for treating neuropathic pain associated with compression myelopathy : a phase I and IIa clinical trial. *Eur Spine J.* 2013 ; 22 : 197-204.
- 4) Kawabe J, Koda M, Hashimoto M et al : Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) exerts neuroprotective effects via promoting angiogenesis after spinal cord injury in rats. *J Neurosurg Spine.* 2011 ; 15 : 414-421
- 5) Koda M, Nishio Y, Kamada T et al : Granulocyte colony-stimulating factor(G-CSF) mobilizes bone marrow-derived cells into injured spinal cord and promotes functional recovery after compression-induced spinal cord injury in mice. *Brain Res.* 2007 ; 1149 : 223-231
- 6) 国分正一 : 成人脊髄係留症候群に対する脊柱短縮術。脊椎脊髄。1995 ; 8 : 199
- 7) Nishio Y, Koda M, Kamada T et al : Granulocyte colony-stimulating factor attenuates neuronal death and promotes functional recovery after spinal cord injury in mice. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2007 ; 66 : 724-731
- 8) Sakuma T, Yamazaki M, Okawa A et al : Neuroprotective Therapy Using Granulocyte Colony-Stimulating Factor for Patients With Worsening Symptoms of Thoracic Myelopathy. *Spine.* 2012 ; 37 : 1475-1478
- 9) Schneider A, Lin SZ, Lee CC et al : The hematopoietic factor G-CSF is neuronal ligand that counteracts programmed cell death and drives neurogenesis. *J Clin Invest.* 2005 ; 115 : 2083-2098
- 10) Takahashi H, Yamazaki M, Okawa A et al : Neuroprotective therapy using granulocyte colony-stimulating factor for acute spinal cord injury : a phase I/IIa clinical trial. *Eur Spine J.* 2012 ; 21 : 2580-2587
- 11) 田中端久, 国分正一, 小瀧浩司, 他 : 脊髄係留症候群に対する脊柱短縮術。臨整外。2005 ; 40 : 633-637
- 12) Tani S, Yamada S, Knighton RS et al : Extensibility of the lumbar and sacral cord. Pathophysiology of the tethered spinal cord in cats. *J Neurosurg.* 1987 ; 66 : 116-123



# NKT cells as an ideal anti-tumor immunotherapeutic

**Shin-ichiro Fujii<sup>1</sup>, Kanako Shimizu<sup>1</sup>, Yoshitaka Okamoto<sup>2</sup>, Naoki Kunii<sup>2</sup>, Toshinori Nakayama<sup>3</sup>, Shinichiro Motohashi<sup>4</sup> and Masaru Taniguchi<sup>5</sup>\***

<sup>1</sup> Laboratory for Immunotherapy, RCAI, RIKEN, Center for Integrative Medical Sciences (IMS-RCAI), Yokohama, Japan

<sup>2</sup> Department of Otorhinolaryngology, Graduate School of Medicine, Chiba University, Chiba, Japan

<sup>3</sup> Department of Immunology, Graduate School of Medicine, Chiba University, Chiba, Japan

<sup>4</sup> Department of Medical Immunology, Graduate School of Medicine, Chiba University, Chiba, Japan

<sup>5</sup> Laboratory of Immune Regulation, RCAI, RIKEN, Center for Integrative Medical Sciences (IMS-RCAI), Yokohama, Japan

## Edited by:

Kendall A. Smith, Cornell University, USA

## Reviewed by:

Kendall A. Smith, Cornell University, USA

Wolf Hervé Fridman, University Paris Descartes, France

## \*Correspondence:

Masaru Taniguchi, Laboratory of Immune Regulation, RCAI, RIKEN, Center for Integrative Medical Sciences (IMS-RCAI), 1-7-22 Suehiro-cho, Tsurumi-ku, Yokohama, Kanagawa 230-0045, Japan  
e-mail: taniguti@rcai.riken.jp

Human natural killer T (NKT) cells are characterized by their expression of an invariant T cell antigen receptor  $\alpha$  chain variable region encoded by a  $V\alpha 24J\alpha 18$  rearrangement. These NKT cells recognize  $\alpha$ -galactosylceramide ( $\alpha$ -GalCer) in conjunction with the MHC class I-like CD1d molecule and bridge the innate and acquired immune systems to mediate efficient and augmented immune responses. A prime example of one such function is adjuvant activity: NKT cells augment anti-tumor responses because they can rapidly produce large amounts of IFN- $\gamma$ , which acts on NK cells to eliminate MHC negative tumors and also on CD8 cytotoxic T cells to kill MHC positive tumors. Thus, upon administration of  $\alpha$ -GalCer-pulsed DCs, both MHC negative and positive tumor cells can be effectively eliminated, resulting in complete tumor eradication without tumor recurrence. Clinical trials have been completed in a cohort of 17 patients with advanced non-small cell lung cancers and 10 cases of head and neck tumors. Sixty percent of advanced lung cancer patients with high IFN- $\gamma$  production had significantly prolonged median survival times of 29.3 months with only the primary treatment. In the case of head and neck tumors, 10 patients who completed the trial all had stable disease or partial responses 5 weeks after the combination therapy of  $\alpha$ -GalCer-DCs and activated NKT cells. We now focus on two potential powerful treatment options for the future. One is to establish artificial adjuvant vector cells containing tumor mRNA and  $\alpha$ -GalCer/CD1d. This stimulates host NKT cells followed by DC maturation and NK cell activation but also induces tumor-specific long-term memory CD8 killer T cell responses, suppressing tumor metastasis even 1 year after the initial single injection. The other approach is to establish induced pluripotent stem (iPS) cells that can generate unlimited numbers of NKT cells with adjuvant activity. Such iPS-derived NKT cells produce IFN- $\gamma$  *in vitro* and *in vivo* upon stimulation with  $\alpha$ -GalCer/DCs, and mediated adjuvant effects, suppressing tumor growth *in vivo*.

**Keywords: NKT cells, adjuvant effects, clinical trial, induced pluripotent stem cells, artificial adjuvant vector cells**

## DISCOVERY OF NKT CELLS EXPRESSING AN INVARIANT $V\alpha 14J\alpha 18$ ANTIGEN RECEPTOR

Natural killer T (NKT) cells are characterized by the expression of an invariant antigen receptor encoded by  $V\alpha 14J\alpha 18$  in mice and  $V\alpha 24J\alpha 18$  in humans (1–3). The murine invariant  $V\alpha 14J\alpha 18$  NKT cell antigen receptor was identified by cloning of cDNAs encoding T cell antigen receptor (TCR) from 13 independently established hybridomas with regulatory functions (4, 5). Surprisingly at that time, Southern blot analysis of TCR usage by these 13 hybridomas had the same DNA restriction fragment length polymorphism (RFLP) patterns, even when three different enzymes, *EcoRI*, *BamHI*, and *HindIII* were used. Because of this unusual homogeneous DNA restriction pattern, the TCR cDNAs were cloned and could be classified into four types at the nucleotide level, all of which were composed of  $V\alpha 14$  and  $J\alpha 18$  with a 1-nt N region. The N region was different in each clone, a C, A, T, or G nucleotide. However, any nucleotide addition in the N region at this position becomes invariant at the amino

acid level, because this N region is the third base of a glycine codon (5).

By RNase protection assays using antisense  $V\alpha 14J\alpha 18$  of C57BL/6 (B6) origin as a probe, we detected a single 630 bp band in B6, a single 400 bp band in BALB/c, and 630/400 double bands in DBA/2 mice. Quite remarkably, this band(s) represented 2–4% in the total TCR $\alpha$  expression in these mice (6). The theoretical expression frequency of any one particular TCR $\alpha$  is calculated to be  $1/10^6$ , because the total TCR $\alpha$  chain repertoire is around  $10^8$  and there are 100  $V\alpha$  segments in the TCR $\alpha$  loci. Therefore, the  $V\alpha 14J\alpha 18$  expression frequency detected in unprimed mice was more than  $10^4$  times higher than expected, suggesting that  $V\alpha 14^+$  NKT cells are clonally expanded under physiological conditions, likely do to their intrinsic autoreactivity. Another interesting finding was that the invariant  $V\alpha 14J\alpha 18$  receptor is used only by NKT cells and not by conventional  $\alpha\beta$  T cells. This was shown conclusively when the invariant  $V\alpha 14J\alpha 18$  together with TCRV $\beta 8.2$  was introduced into RAG-knockout (KO) mice; only NKT cells and