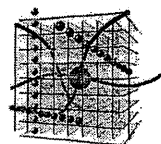


## 脳血管をターゲットにした 再生医療による認知症治療戦略

Akihiko Taguchi ◎ 田口明彦\*

Kenichi Yamahara ◎ 山原研一†

\*先端医療振興財団先端医療センター研究所再生医療研究部  
†国立循環器病研究センター研究所再生医療部



### Summary

脳血管性認知症や老年期アルツハイマー型認知症において脳血管病変が強く関与していることが知られており、多くの認知症に共通する治療ターゲットは脳血管であるとわれわれは考えている。本稿では、われわれが研究してきた造血幹細胞と脳神経機能に関する基礎的および臨床的知見について概説するとともに、造血幹細胞や間葉系幹細胞を用いた再生医療による認知症治療法開発の可能性・将来像を紹介する。

### Key words

- ◎脳血管性認知症
- ◎アルツハイマー型認知症
- ◎脳血管
- ◎造血幹細胞
- ◎間葉系幹細胞
- ◎再生医療

### はじめに

神経変性に伴う認知機能障害は多くの高齢者に発症するが、その根本的な原因は神経細胞自体の障害ではなく、神経細胞を取り巻く環境の老化・悪化であるとわれわれは考えている。われわれは、①脳血管障害患者の末梢血中に存在する造血幹細胞(CD34陽性細胞)の減少が脳微小循環障害や認知機能障害に相関していること<sup>1)2)</sup>、②急性期脳血管障害後の造血幹細胞移植が血管再生・血管保護を介して神経機能回復を促進すること<sup>3)</sup>、③慢性脳微小循環障害に対する造血幹細胞移植が微小循環動態改善効果や脳梗塞後機能回復促進作用があること<sup>4)</sup>、さらに④虚血脳における血管新生が末梢血中造血幹細胞の増加と関連していること<sup>5)</sup>、など、造血幹細胞・血管再生と脳神経機能に関する新しい知見を次々と世界に先駆けて示してきた。本稿では、われわれが明らかにしてきた造血幹細胞と脳神経機能に関する知見について概説するとともに、われわれが現在進めている造血幹細胞と間葉系幹細胞を用いた再生医療による認知症治療戦略を紹介する。

## 造血幹細胞の減少と血管障害

骨髄から末梢血中に動員される造血幹細胞は、各種成長因子や血管新生因子の放出とともに血管内皮や周皮細胞への分化能を有し、血管再生や微小血管維持に重要な役割を果たしていることが知られている(図1)。われわれは循環器疾患患者における末梢血中の造血幹細胞と病態との関連を検討し、その結果、末梢血中造血幹細胞の減少が、①脳梗塞の発症や脳循環代謝の低下と関連していること<sup>1)</sup>、②認知機能低下と関連していること<sup>2)3)</sup>、③前向き検討においても認知機能の経時的な低下と関連していること<sup>3)</sup>、また、脳血管障害患者以外においても末梢血中造血幹細胞の減少が、④糖尿病性心筋障害と関連していること<sup>9)</sup>、⑤透析患者における心血管障害発症リスクの増加と関連していること<sup>10)11)</sup>、⑥末糖尿病性腎症の悪化と関連していること<sup>12)</sup>、さらには、⑦末梢血中造血幹細胞の増加が、脳血管新生と関連していること<sup>7)</sup>、など、循環器疾患患者における末梢血中の造血幹細胞と微小循環障害・再生機転に関する重要なさまざまな臨床的な知見を発見・報告しており、骨髄造血幹細胞の疲弊・枯渇が脳血管障害や神経機能低下を引き起こす重要な因子であ

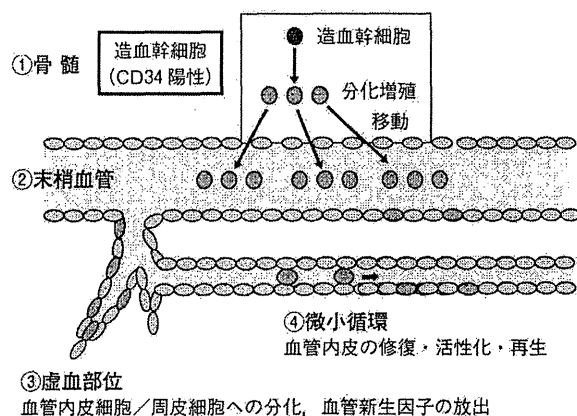


図1 骨髄造血幹細胞と血管再生/血管維持

骨髄造血幹細胞は末梢血中にも存在し、血管内皮細胞への分化や血管新生因子の分泌を介して、血管再生や血管維持に重要な役割を果たしている。

ることを示してきた(図2)。

## 造血幹細胞移植による血管再生治療

造血幹細胞を用いた血管再生治療に関して、われわれは四肢虚血患者における造血幹細胞移植により著明な治療効果を示してきたが<sup>13)</sup>(図3)、脳梗塞に関して、脳梗塞動物モデルにおける前臨床試験において、①亜急性期における造血幹細胞投与が梗塞周囲における血管再生を促進すること、②脳梗塞後の血管再生は内因性の神経再生に必須であること、③脳梗塞後の血管再生は脳機能の再生をもたらすことなど、血管再生と神経機能再生に関する知見を世界に先駆けて明らかにするとともに<sup>4)5)</sup>(図4)、それらの知見に基づき国立循環器病研究センターおよび先端医療センター病院において、脳梗塞患者を対象とした自己骨髄造血幹細胞を用いた機能回復促進に関する臨床試験を実施してきた(図5)。2013年2月には予定されていた12症例のすべてのエントリーが終了しており、細胞治療の治療効果に関しては、入院時・細胞治療時における神経機能予後の予想よりかなり良好な経過をたどった症例や、細胞治療後に明らかに脳循環・脳代謝が改善した症例

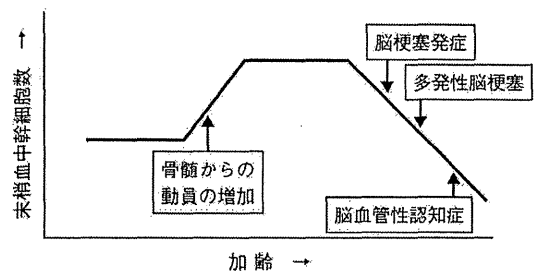


図2 造血幹細胞の枯渇と脳血管障害

微小循環障害がほとんどない若年者では、骨髄からの造血幹細胞(CD34陽性細胞)の動員は低いレベルであるが、加齢とともに徐々に上昇が認められ、造血幹細胞レベルが高い値に維持されている間は明らかな血管イベントは認められないが、骨髄からの造血幹細胞動員が十分なレベルを保てなくなることにより、血管疾患・認知機能障害発症リスクが高くなると考えている。

などがあるが、統計学的な検討に関しては、臨床研究グループとは独立した臨床統計家(兵庫医科大学医学部・大門貴志准教授)が現在解析を進めている。

### 細胞治療による認知症治療

脳血管障害患者における病態と末梢血中に存在する

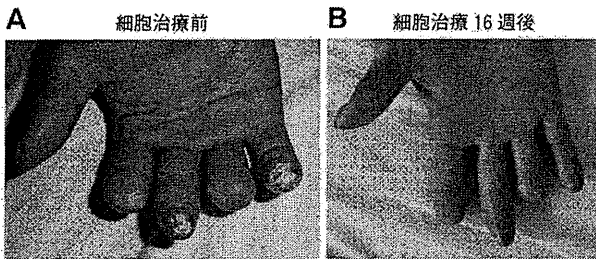


図3 四肢虚血患者に対する造血幹細胞移植による血管再生  
Burger病患者における難治性潰瘍(A)が、自己骨髄由来造血幹細胞の筋肉内移植治療後には完全に治癒した(B)。

(文献13より引用)

造血幹細胞動態に関する臨床的な知見より、造血幹細胞の枯渇・疲弊が脳血管障害を介して認知機能障害と関連していることをわれわれは示してきたが、さらにそれを検証するため、下記の手法を用いて、造血幹細胞を補充することによる微小循環改善作用、脳神経機能回復促進作用の検討を行ってきた<sup>6)</sup>。

脳微小循環が老化により著明に障害されるモデルとして、脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット(SHRSPラット)を用いた。SHRSPラットの高塩分負荷時における平均的な寿命は約60~80週であり、研究においては50週齢以降のラットを骨髄移植のレシピエントとして、またドナーとしては8週齢以前の同系繁殖で飼育している若齢SHRSPラットを使用した。造血幹細胞移植方法に関しては、放射線照射や化学療法などの前処置をせずに、静脈内投与に加え左脛骨骨髓内への投与(図6)を併用し、若齢造血幹細胞投与30日後には中大脳動脈の永久閉塞による脳梗塞を作成した。造血幹細胞の補充・若返りによる評価項目として、①

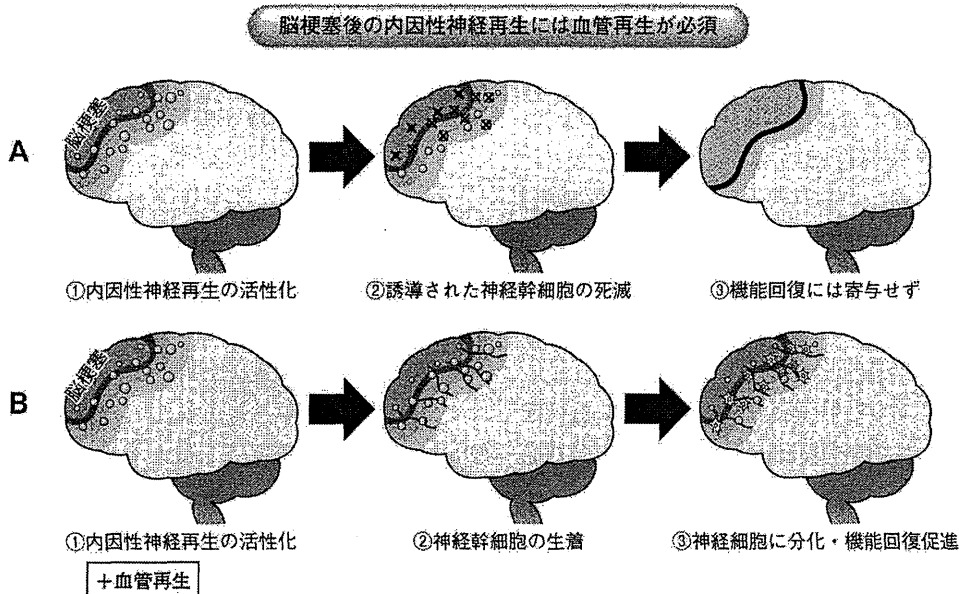


図4 脳梗塞後の内因性神経再生と血管再生

脳梗塞後には内因性の神経再生が活性化されるが、血管再生がなければ誘導されてきた神経幹細胞はほとんど死滅する(A)。一方、造血幹細胞投与などにより血管再生を活性化すると、これらの誘導されてきた神経幹細胞は生着、成熟、機能し、神経機能向上に寄与する(B)。

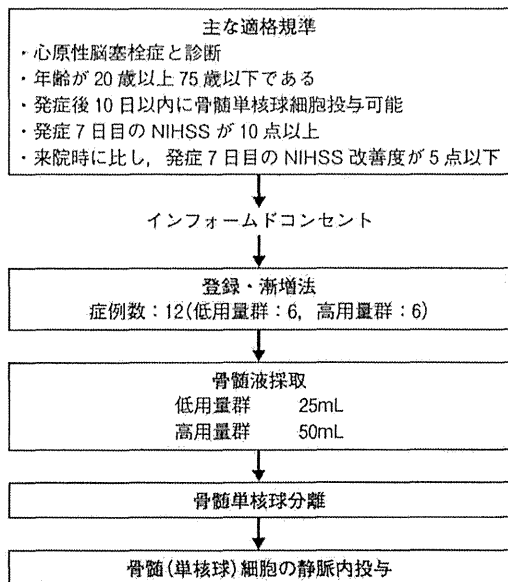


図5 脳梗塞患者に対する造血幹細胞移植による血管再生治療プロトコール

国立循環器病研究センターおよび先端医療センター病院において、重症心原性脳塞栓症患者を対象にした臨床試験を実施してきた。

末梢血中白血球分画の変化，②中大脳動脈閉塞時における脳梗塞体積の変化，③脳梗塞誘導後の神経機能に与える影響，④微小循環の構造的変化に関する免疫組織学的評価，⑤血中および脳虚血周囲におけるIL-1, IL-6, MCP-1, TNF濃度変化の定量，などを行った。その結果，①移植後も末梢血中の各白血球分画の変化はないものの，②移植30日後における移植細胞のキメラ率は5%，であり，若齢造血幹細胞移植による治療効果として，③造血幹細胞移植後60日間(移植30日後に脳梗塞作成)での高齢ラット死亡率の低下，④中大脳動脈閉塞による梗塞体積の減少，⑤脳梗塞後の大脳皮質機能の改善効果，⑥皮膚損傷後の毛細血管活性化促進，を認めた。また，若齢造血幹細胞移植の障害された微小血管に与える効果の組織学的な変化として，⑦脳梗塞周囲の毛細血管密度の上昇，⑧血液脳関門を構成する血管内皮細胞と周細胞の乖離の抑制，⑨血管内皮細胞の細胞死の抑制，が観察された。また，サイトカイン評価に関しては，若齢造血幹細胞移植に

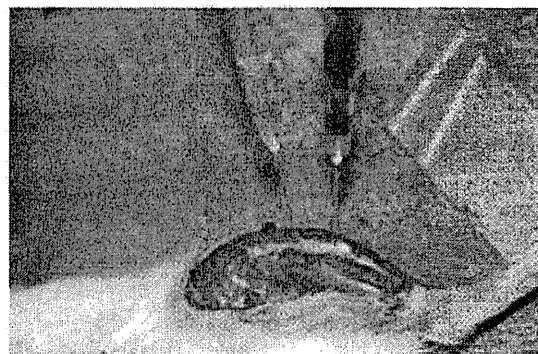


図6 造血幹細胞の骨髄内移植  
造血幹細胞の静脈内移植に加え，骨髄内移植を併用することにより，末梢血中の移植細胞キメラ率が上昇する。  
(文献6より引用)

より，⑩脳梗塞部におけるIL-1 $\beta$ ，MLP-1の上昇，が認められた。さらにこれらの知見を裏付けるため，ヒト臍帯静脈内皮細胞(human umbilical vein endothelial cells：HUVEC)と若齢／老齢SHRSP由来造血幹細胞を用いた*in vitro* 共培養の実験系においては，若齢SHRSP由来造血幹細胞は老齢由来細胞に比し，⑪HUVECのeNOS活性化作用が強いこと，⑫アポトーシス誘導に関連するp38 MAPキナーゼのリン酸化抑制作用が強いこと，などを明らかにした。脳梗塞患者においても若齢者は老齢者に比し，①末梢血中白血球分画には大きな違いはないものの，②中大脳動脈閉塞時においても側副血行路が発達しているため脳梗塞体積が比較的小さくて済む症例が存在し，また，③脳梗塞後の神経機能回復の良好な症例が多いこと，などより，老齢SHRSPに対する若齢SHRSP由来造血幹細胞移植は，実際の脳血管障害患者の病態をかなり忠実に再現できており，臨床的にも造血幹細胞の補充は脳血管病変を劇的に改善する可能性が高いと考えている。

### おわりに

われわれは脳微小循環改善効果や $\beta$ アミロイド排泄

促進作用を有するシロスタゾール(プレタル<sup>®</sup>)が、高齢の軽度認知障害(mild cognitive impairment : MCI)患者の認知機能を向上させることを最近発見し報告した<sup>14)</sup>。神経変性に伴う認知機能障害は多くの高齢者に発症するが、その根本的な原因は神経細胞自体の障害ではなく神経細胞を取り巻く環境の老化に問題があり、造血幹細胞や薬剤を用いた脳血管病変をターゲットにした再生治療により、認知症の予防やMCI患者における神経機能再生療法を開発・確立することが可能であると考えている。

さらにより効果的な認知症予防法/治療法の開発には、①エネルギー供給の源である脳微小循環、とともに②老廃物排出システムである血管周囲ドレナージ経路(血管網と並行して存在し、脳内のリンパ系システムとも言える脳間質流)<sup>15)</sup>、③神経細胞の活動・生存に大きな影響を与えることが知られている慢性炎症/免疫系、が重要であり(図7)、これらの要素すべてを再生/制御する必要がある。近年、間葉系幹細胞は強力な免疫調整作用を持つことが示され、海外では移植

片対宿主病(graft-versus-host disease : GVHD)に対する治療薬としてすでに認可されているが、老化に伴う自己免疫関連の慢性炎症も間葉系幹細胞を用いることによりそのコントロールが可能になるとわれわれは考えており、造血幹細胞/薬剤による脳微小循環や脳間質流の機能維持・再生と併用することにより、適切な神経細胞環境の再生が可能となると考えている。不可逆的な神経変性/神経細胞死が神経組織全体に及んでいる症例での神経機能再生は現時点では非常に困難であるが、MCI患者などでは認知機能の向上・再生は可能であり、“認知症への先制医療を神戸から世界へ”広げていくことを目標に、多くの環境因子が関与している認知症に対して、造血幹細胞、間葉系幹細胞、薬剤などを適切に組み合わせた研究を今後も続けていく予定である。

◎References

- 1) Taguchi A, Matsuyama T, Moriwaki H, et al : Circulating CD34-positive cells provide an index of cerebrovascular function. *Circulation* 109 : 2972-2975, 2004
- 2) Taguchi A, Matsuyama T, Nakagomi T, et al : Circulating CD34-positive cells provide a marker of vascular risk associated with cognitive impairment. *J Cereb Blood Flow Metab* 28 : 445-449, 2008
- 3) Taguchi A, Nakagomi N, Matsuyama T, et al : Circulating CD34-positive cells have prognostic value for neurologic function in patients with past cerebral infarction. *J Cereb Blood Flow Metab* 29 : 34-38, 2009
- 4) Taguchi A, Soma T, Tanaka H, et al : Administration of CD34+ cells after stroke enhances neurogenesis via angiogenesis in a mouse model. *J Clin Invest* 114 : 330-338, 2004
- 5) Nakano-Doi A, Nakagomi T, Fujikawa M, et al : Bone marrow mononuclear cells promote proliferation of endogenous neural stem cells through vascular niches after cerebral infarction. *Stem Cells* 28 : 1292-1302, 2010
- 6) Taguchi A, Zhu P, Cao F, et al : Reduced ischemic brain injury by partial rejuvenation of bone marrow cells in aged rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 31 :

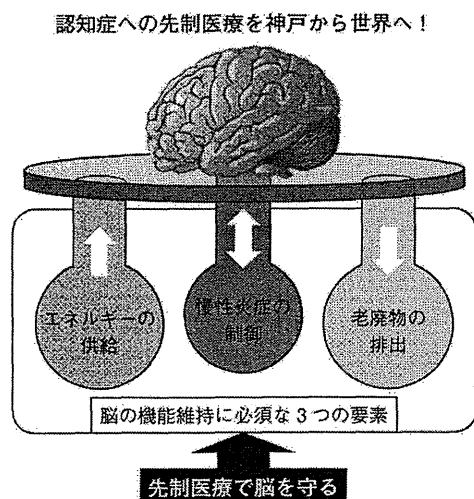


図7 脳の機能維持・再生に不可欠な要素  
脳や神経細胞の機能の維持には、エネルギーの供給、老廃物の排出、慢性炎症の制御が必要不可欠であり、これらの要素をコントロールすることにより、神経細胞変性に伴う認知症に対する先制医療が達成できると考えている。

- 855-867, 2011
- 7) Yoshihara T, Taguchi A, Matsuyama T, et al : Increase in circulating CD34-positive cells in patients with angiographic evidence of moyamoya-like vessels. *J Cereb Blood Flow Metab* **28** : 1086-1089, 2008
  - 8) Taguchi A : Vascular factors in diabetes and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* **16** : 859-864, 2009
  - 9) Okada S, Makino H, Nagumo A, et al : Circulating CD34-positive cell number is associated with brain natriuretic peptide level in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* **31** : 157-158, 2008
  - 10) Maruyama S, Taguchi A, Iwashima S, et al : Low circulating CD34+ cell count is associated with poor prognosis in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int* **74** : 1603-1609, 2008
  - 11) Fadini GP, Maruyama S, Ozaki T, et al : Circulating progenitor cell count for cardiovascular risk stratification : a pooled analysis. *PLoS One* **5** : e11488, 2010
  - 12) Makino H, Okada S, Nagumo A, et al : Decreased circulating CD34+ cells are associated with progression of diabetic nephropathy. *Diabet Med* **26** : 171-173, 2009
  - 13) Taguchi A, Ohtani M, Soma T, et al : Therapeutic angiogenesis by autologous bone-marrow transplantation in a general hospital setting. *Eur J Vasc Endovasc Surg* **25** : 276-278, 2003
  - 14) Taguchi A, Takata Y, Ihara M, et al : Cilostazol improves cognitive function in patients with mild cognitive impairment : a retrospective analysis. *Psychogeriatrics* **13** : 164-169, 2013
  - 15) 猪原匡史, 田口明彦 :  $\beta$ -アミロイドの血管周囲リンパ排水路を介したクリアランス. *細胞工学* **31** : 1113-1118, 2012

## 心原性脳塞栓症患者に対する自己骨髄単核球移植治療とその発展

田口 明彦<sup>1)</sup>

**要旨：**脳梗塞後には内因性神経幹細胞が梗塞周辺部に誘導されるが、我々はその生着・機能には血管再生が必要不可欠であり、造血幹細胞や骨髄単核球投与で血管再生・神経機能回復が促進することを報告してきた。これらの知見に基づき、脳梗塞患者に対する自己骨髄単核球細胞移植の臨床試験を実施中である。

**Key words:** stroke, cell-based therapy, neurogenesis, angiogenesis

### はじめに

脳梗塞は要介護者発生原因の第1位であり、脳梗塞後遺症に苦しむ非常に多くの患者が存在する。脳梗塞患者の機能予後改善を目的に、神経系幹細胞を用いた様々な基礎研究・臨床試験が行われてきたが、単なる神経幹細胞移植では脳梗塞後遺症に対しては治療効果がほとんどないことが、基礎研究および臨床試験の両者より明らかにされている。一方、微小血管の再生/保護作用を有する造血幹細胞移植や骨髄単核球細胞移植は、心筋梗塞患者や四肢虚血患者において、その臨床的な治療効果が既に明らかにされている。我々は脳梗塞モデルマウスにおいて、脳梗塞後に大量に誘導/動員される内因性神経幹細胞の生着やその機能には血管再生が必要不可欠であり、造血幹細胞投与で血管再生・神経機能回復が著明に促進することを世界に先駆けて明らかにしてきた<sup>1)</sup>。現在それらの知見を基に、脳梗塞患者に対する自己骨髄単核球移植治療の臨床試験を、国立循環器病研究センターおよび先端医療振興財団病院において実施している。

### 脳梗塞患者に対する自己骨髄幹細胞を用いた細胞治療の臨床試験

本臨床試験は、脳梗塞発症7~10日後の重症心原性脳塞栓症患者に対し、自己骨髄細胞を採取し、骨髄単核球分画を精製後静脈内への投与を行い、その安全性および神経機能回復効果を明らかにすることを目的としたものであり、「厚生労働省ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」による認可を経て、臨床試験を実施中である (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01028794)。

臨床試験のプロトコルの概略を Fig. 1 に示す。主な適格

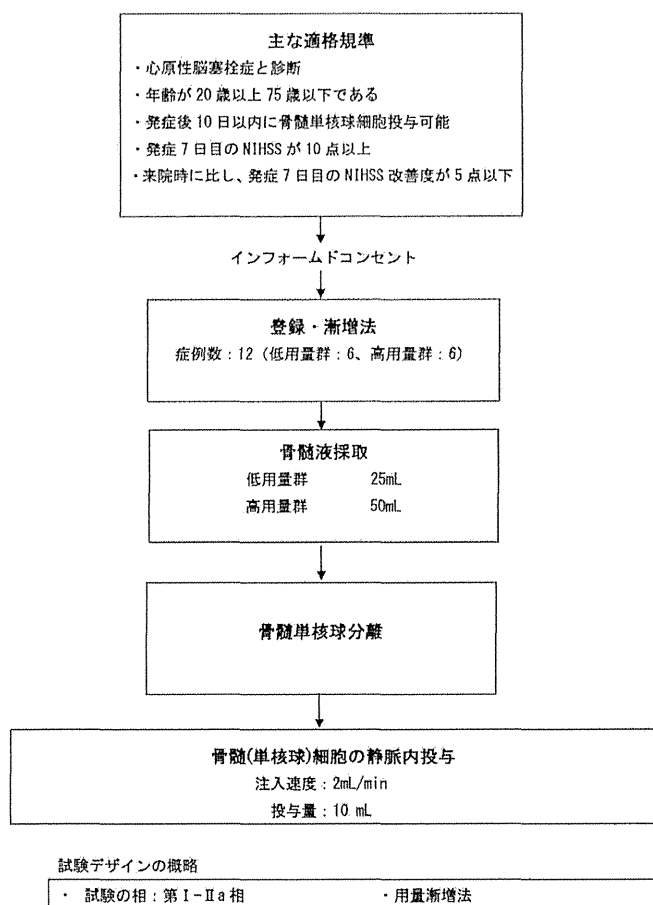
基準は、①心原性脳塞栓症と診断されている、②年齢が20歳以上75歳以下である、③発症後7日目の時点でNIHSSが10点以上である、④来院時に比し、発症7日後のNIHSS改善度が5点以下である、⑤コントロールされていない糖尿病性網膜症を有さない、であり重症の心原性脳塞栓症症例で、かつ脳梗塞1週間後においても神経機能回復が十分ではない患者群のみを対象としている。国立循環器病研究センターにおける過去のデータより、これらの適格基準に合致する患者群は、ほとんど内頸動脈閉塞や中大脳動脈起始部の閉塞による脳梗塞であり、その予後は極めて悪く、また脳梗塞に伴う合併症が高頻度で起こることが知られている。

治療プロトコルの概略は、①脳梗塞発症7~10日目に、局所麻酔(あるいは全身麻酔)下で骨髄細胞の採取(低用量群:骨髄25ml採取, 高用量群:骨髄50ml採取)、②国立循環器病研究センター/先端医療振興財団セルプロセッシングセンターにて、比重遠心法を用いて単核球分画の分離、③静脈内に5分間で全量投与、という、非常にシンプルな手技で構成されており、本臨床試験において、ある程度以上の有効性を示すことができれば、多くの病院・施設でも実施可能であると考えている。なお低用量群および高用量群とも各6症例である。

プライマリエンドポイントは、①脳梗塞7日後と比し投与1カ月後におけるNIHSS悪化症例の頻度(安全性)、②脳梗塞7日後と細胞投与1カ月後におけるNIHSSの改善度(有効性)、であり、比較対照群としては国立循環器病研究センター脳卒中内科データベースに含まれる症例で、本臨床試験の適格基準に合致する患者群をHistorical Controlとして用いる。

臨床試験開始時は国立循環器病研究センター(大阪府吹田市)入院患者のみであったが、2011年より先端医療振興財団病院(兵庫県神戸市)での患者受け入れも開始しており、2013年2月には予定されている12症例の全てのエントリーが終

<sup>1)</sup>公益財団法人先端医療振興財団再生医療研究部  
(2013年10月30日受付, 2013年10月31日受理)



**Fig. 1** 心原性脳塞栓症患者に対する自己骨髄単核球移植治療の概略  
回復の見込みの低い重症の心原性脳塞栓症患者を対象にした臨床試験を実施している。

了している。

細胞治療の治療効果に関しては、入院時・細胞治療時における神経機能予後の予想よりかなり良好な経過をたどった症例や、細胞治療後に明らかに脳循環・脳代謝が改善した症例などがあるが、統計学的な検討に関しては、臨床研究グループとは独立した臨床統計家(兵庫医科大学医学部大門貴志講師)により解析を進めていく予定である。

#### 脳梗塞に対する今後の再生医療

脳梗塞においては、神経細胞だけでなく脳脊髄関門を形成する微小血管系なども障害されるため、脳の組織修復および脳神経機能のさらなる改善には神経組織全体の再構築が必要である。我々は脳梗塞後の神経再生には血管の再生が必要不可欠であることを明らかにしてきたが、神経幹細胞の生着、

成熟のための新生血管床の形成、その血管床への神経幹細胞移植、および薬剤などを用いた移植神経幹細胞の分化、成熟、機能の促進、さらにはこれらの再生機転にたいする内因性阻害因子の抑制、など生理的なメカニズムに基づいた、治療法の発展・開発を現在進めている。また、脳梗塞患者の予後予測が臨床試験には必須であるため、現在MRIトラクトグラフィーおよび電気生理学的手法を用いた予後予測アルゴリズムの開発を並行して実施中であり、さらに、より直接的な治療効果を得るため、虚血再開通後の中大脳動脈内にCD133陽性細胞を投与する臨床試験の準備を行っている。

#### 参考文献

- 1) Taguchi A, Soma T, Tanaka H, et al: Administration of CD34+ cells after stroke enhances neurogenesis via angiogenesis in a mouse model. J Clin Invest 114: 330-338, 2004



**Abstract****Autologous bone marrow mononuclear cell transplantation for patients with severe cerebral embolism**Akihiko Taguchi, M.D., Ph.D.<sup>1)</sup><sup>1)</sup>Department of Regenerative Medicine Research, Institute of Biomedical Research and Innovation

We had demonstrated that intravenous administration of bone marrow-derived mononuclear cells improves functional recovery through enhanced angiogenesis in experimental stroke models. Based on these observations, we have started phase Ⅱ, a clinical trial of cell-based therapy for patients with cardiogenic cerebral embolism (ClinicalTrials.gov ID: NCT01028794). Major inclusion criteria is the patient diagnosed with severe cardiogenic cerebral embolism (NIHSS≥10 at day 10 after onset of stroke). Patient has 25 ml (low dose group, n=6) or 50 ml (high dose group, n=6) bone marrow aspiration on day 7–10 after onset of stroke. Autologous bone marrow derived mononuclear cells are purified by density gradient method and administrated intravenously on the day of cell aspiration. Primary endpoint is the safety and improvement of NIHSS, compared with our historical control. We have treated 12 patients and no adverse effects were observed. Most of the patients showed significant improvement of neurological function at 6 months after cell transplantation. Autologous bone marrow mononuclear cells transplantation is likely to be safe, feasible and improve functional recovery.

**Key words:** stroke, cell-based therapy, neurogenesis, angiogenesis

(Jpn J Stroke 36: 131–133, 2014)

## 1. 脳梗塞患者に対する再生医療の現状とその未来

田口 明彦

**要約 目的：**現在わが国では急速な高齢化社会を迎えており、それに伴う高齢身体障害者の増加が極めて深刻な社会問題となっている。平成 20 年度厚生労働白書によると、65 歳以上の身体障害者は 216 万人と依然上昇傾向で、寝たきり者の約 1/3 が脳血管障害患者であり、脳血管障害に対する新規治療法開発は我が国にとり非常に重要な課題である。**方法：**我々は脳梗塞後に誘導された神経幹細胞の生着・機能には血管再生が必要不可欠であり、骨髄単核球投与で血管再生・神経機能回復が促進することを報告してきた。これらの知見に基づき自己骨髄単核球細胞移植による臨床試験を実施中である。プロトコルの概要は、①75 歳以下の重症心原性脳塞栓症患者が対象、②脳梗塞発症 7 日～10 日目に骨髄細胞を採取（低用量群 25 ml、高用量群 50 ml）、③比重遠心法による単核球分画の分離、④同日に静脈内に全量投与である。**結果：**既に低用量群は終了しているが重篤な有害事象は観察されておらず、また脳梗塞のサイズ・部位に比し良好な機能回復を示す症例も観察されている。**結論：**現在、治療対象群を拡大した多施設共同臨床試験に向けたプロトコル作成および安全で簡単な細胞治療用骨髄単核球精製デバイスの開発を行っており、細胞治療をより普遍的な治療法として普及させるための研究を行っている。

**Key words：**神経再生, 血管再生, 脳梗塞, 細胞治療, 神経幹細胞

(日老医誌 2013 ; 50 : 359-361)

### 緒言

わが国では急速な高齢化社会を迎えており、それに伴う高齢身体障害者の増加が極めて深刻な社会問題となっており、社会医療・福祉制度の崩壊にもつながりかねない状態である。平成 20 年度厚生労働白書によると、65 歳以上の身体障害者は 216 万人と依然上昇傾向にあり、寝たきり者の約 1/3 以上が脳血管障害患者である。我々は脳虚血により障害された神経細胞の保護・再生には脳微小血管の保護・再生が必要不可欠であることを世界に先駆けて明らかにするとともに<sup>1)</sup>、血管再生医療的手法を用いた治療法開発を進めている。

### 目的

自己骨髄単核球を用いた血管再生療法は、四肢末梢動脈閉塞患者だけでなく急性心筋梗塞患者においても二重盲検試験<sup>2)</sup>やメタ解析<sup>3)</sup>にても既にその有効が報告されており、全く新しい機序に基づく治療法として注目されている。我々は、脳梗塞動物モデルにおいて脳梗塞後の骨

髄単核球移植が、血管再生を介して内因性神経幹細胞生着促進および神経機能回復をもたらすこと<sup>14)</sup>、また脳梗塞患者において脳梗塞亜急性期には動物モデルと同様に神経幹細胞が誘導されることを示してきた<sup>5)</sup>。これらの基礎的および臨床的知見さらに霊長類における前臨床試験での結果を基に脳梗塞患者に対する再生医療に関するプロトコルを作成し、厚生労働省「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」による認可を受けた後、先端医療センターおよび国立循環器病研究センターでは「急性期心原性脳塞栓症患者に対する自己骨髄単核球静脈内投与に関する臨床研究 (ClinicalTrials.govID : NCT 01028794)」を進めている。本臨床試験は、脳梗塞発症 7～10 日後の特に重症な心原性脳塞栓症患者に対し、自己骨髄細胞を採取し、骨髄単核球分画を精製後静脈内への投与を行い、その安全性および神経機能回復効果を明らかにすることを目的としている。

### 方法

臨床試験プロトコルの概略を図 1 に示す。本臨床試験での対象疾患は脳梗塞後 1 週間後においても神経機能回復が十分でない重症の心原性脳塞栓症症例で、①脳梗塞発症 7 日～10 日目に骨髄細胞の採取、②比重遠心法

A. Taguchi : 先端医療振興財団先端医療センター再生医療研究部

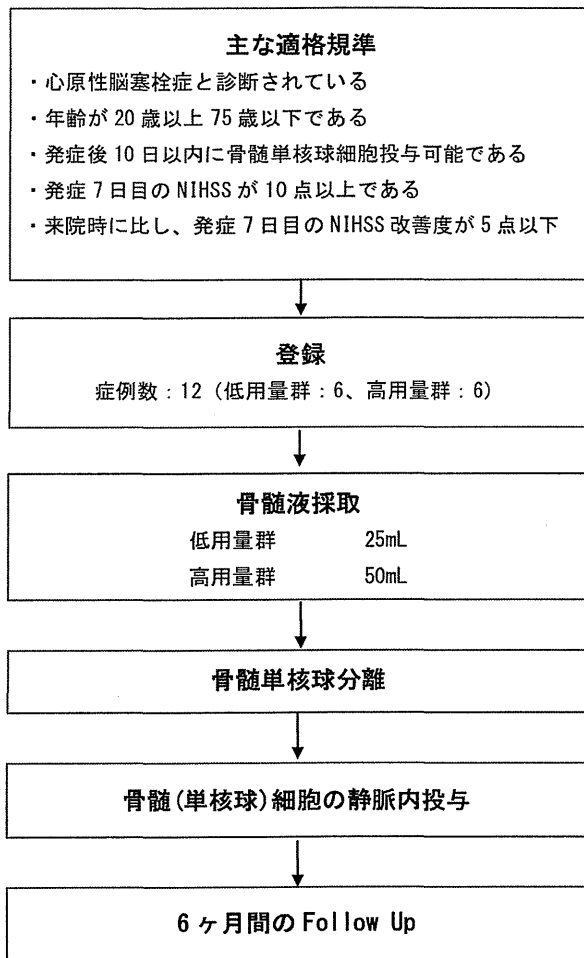


図1 脳梗塞患者に対する細胞治療臨床試験の概略。

を用いて単核球分画の分離, ③静脈内に10分間で全量投与, という, 非常にシンプルな手技で構成されており, 本臨床試験において, ある程度以上の有効性を示すことができれば, 多くの病院・施設でも実施可能であると考えている。

## 結 果

平成24年5月現在, 低用量群6症例での細胞治療が終了しているが, 細胞治療後にNIHSSが悪化した症例はなく, 6例中5症例では順調な機能回復が観察されている。また, PET等による脳循環動態の解析においても, 脳梗塞周囲あるいは対側大脳半球において, 細胞治

療後に明らかに脳循環代謝が改善した症例が存在している。高用量群に関しては4症例が終了しているが, 統計学的な治療効果の検討に関しては, 全12症例終了時に外部の臨床統計家により解析を進めていく予定である。

## 結 論

本細胞治療はその機序からも脳梗塞がより軽度の患者群において, さらに強い治療効果が期待できると考えており, 治療対象群を拡大した多施設共同臨床試験に向けたプロトコルを現在作成中である。また再生医療の普及を目的に, 操作が安全で簡単な細胞治療用骨髄単核球精製デバイスの開発を並行して実施している。神戸では先端医療センターを中心に, 脳血管障害の超急性期(血管内治療), 急性期(再生医療), 脳血管性認知症(薬物治療)患者に対する治療法開発を並行して強力に推進しており, 今後は多くの脳血管障害患者の神経機能の再生が可能となると考えている。

## 文 献

- 1) Taguchi A, Soma T, Tanaka H, Kanda T, Nishimura H, Yoshikawa H, et al: Administration of CD34+ cells after stroke enhances neurogenesis via angiogenesis in a mouse model. *J Clin Invest* 2004; 114: 330-338.
- 2) Herbots L, D'Hooge J, Eroglu E, Thijs D, Ganame J, Claus P, et al: Improved regional function after autologous bone marrow-derived stem cell transfer in patients with acute myocardial infarction: a randomized, double-blind strain rate imaging study. *Eur Heart J* 2009; 30: 662-670.
- 3) Zhang SN, Sun AJ, Ge JB, Yao K, Huang ZY, Wang KQ, et al: Intracoronary autologous bone marrow stem cells transfer for patients with acute myocardial infarction: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Int J Cardiol* 2009; 136: 178-185.
- 4) Nakano-Doi A, Nakagomi T, Fujikawa M, Nakagomi N, Kubo S, Lu S, et al: Bone marrow mononuclear cells promote proliferation of endogenous neural stem cells through vascular niches after cerebral infarction. *Stem Cells* 2010; 28: 1292-1302.
- 5) Nakayama D, Matsuyama T, Ishibashi-Ueda H, Nakagomi T, Kasahara Y, Hirose H, et al: Injury-induced neural stem/progenitor cells in post-stroke human cerebral cortex. *Eur J Neurosci* 2010; 31: 90-98.
- 6) Nakagomi N, Nakagomi T, Kubo S, Nakano-Doi A, Saino O, Takata M, et al: Endothelial cells support survival, proliferation, and neuronal differentiation of transplanted adult ischemia-induced neural stem/progenitor cells after cerebral infarction. *Stem Cells* 2009; 27: 2185-2195.

## Current status and future of cell-based therapy for patients with cardiogenic cerebral embolism

Akihiko Taguchi

### Abstract

**Background and aim:** Cerebral infarction causes permanent neurological damage. Recently, the intravenous administration of bone marrow-derived mononuclear cells has been shown to improve functional recovery through enhanced angiogenesis in an experimental stroke model. Based on these observations, we have started a phase 1/2a clinical trial of cell-based therapy for patients with cardiogenic cerebral embolism.

**Methods:** The major inclusion criterion was patients in whom severe cerebral embolism was diagnosed (more than 9 in the NIHSS score on day 7 after the onset of stroke) at age 75 or younger. The patients received 25 ml (low-dose group, n=6) or 50 ml (high-dose group, n=6) of bone marrow aspirate on days 7-10 after the onset of stroke. Autologous bone marrow-derived mononuclear cells were purified by the density gradient method and administered intravenously on the day of cell aspiration. The primary endpoint was safety and improvement of the NIHSS score compared with our historical control.

**Results:** We treated 6 patients in the low-dose group and 4 patients in the high-dose group. No adverse effects were observed and most of the patients showed a significant improvement in neurological function at 6 months after cell transplantation. No enrolled patients showed worsening of the NIHSS score at 30 days after the treatment compared with the NIHSS score before the treatment.

**Conclusion:** Autologous bone marrow mononuclear cell transplantation is apparently safe and feasible, and it improves functional recovery.

**Key words:** *Neurogenesis, Angiogenesis, Cerebral infarction, Cell-based therapy, Neuronal stem cell*  
(Nippon Ronen Igakkai Zasshi 2013; 50: 359-361)

---

Department of Regenerative Medicine Research, Institute of Biomedical Research and Innovation

## 細胞移植療法による神経機能回復

猪原匡史, 笠原由紀子, 田口明彦

IHARA Masafumi, KASAHARA Yukiko, TAGUCHI Akihiko  
先端医療振興財団先端医療センター再生医療研究部

幹細胞は、連続的な自己再生能と適切な誘導下でさまざまな細胞種への分化能を示す。骨髄中の造血系幹細胞、間葉系幹細胞は、広範囲の細胞種に分化する能力をもっていることが判明している。これらの幹細胞を含む骨髄単核球による細胞治療は、げっ歯類や霊長類の脳血管障害モデルにおいて、血管再生・神経再生を誘導することが証明されており、脳卒中における臨床試験も開始された。脳卒中の再生治療が現実味を帯びつつある。

## Key Words

脳梗塞、細胞治療、血管再生、神経再生、骨髄単核球

## はじめに

高齢者における寝たきりの3分の1以上が脳血管障害によるものであり、脳血管障害に対する新規治療法の開発は超高齢社会を迎えたわが国の存亡にかかわりがねないきわめて重大な課題である。その治療はt-PA時代を迎えて変貌を遂げているとはいえ、その恩恵を得るのは短いtime windowの問題からわずか3%の患者にとどまる。残念ながら多くの患者に後遺症が残り、いったん症状が平衡状態に達すれば発症前の機能を取り戻すことは甚だ困難であるといわざるを得ない。したがって、神経保護療法もいまだ実現していないこの閉塞状況を打破する手段として、脳卒中治療におけるパラダイムシフトが切望されている。さまざまなニューロリハに加えて「神経再生」治療が注目されており、本稿では脳卒中からの

回復を促進する細胞治療に焦点を当てて論じる。

## 1 細胞治療—概説

幹細胞研究は医学・医療を根底から覆すインパクトを与えつつけている。生物には生来の可塑性と柔軟性が備わっており、その貯蔵庫が幹細胞であることから、脳卒中中の細胞治療における究極のゴールは、死滅したニューロンの置換や神経回路の修復 (cell/circuit replacement) であろう。しかし、当面の目標は、栄養因子の放出による内因性の神経再生機構の賦活化 (molecular repair) であるとも考えられており、細胞治療による血管新生がそこに果たす役割は大きい。

循環器疾患に対する自己骨髄幹細胞 (単核球細胞) を用いた細胞治療は、四肢虚血<sup>1)</sup>および虚血性心疾患<sup>2)</sup>に対

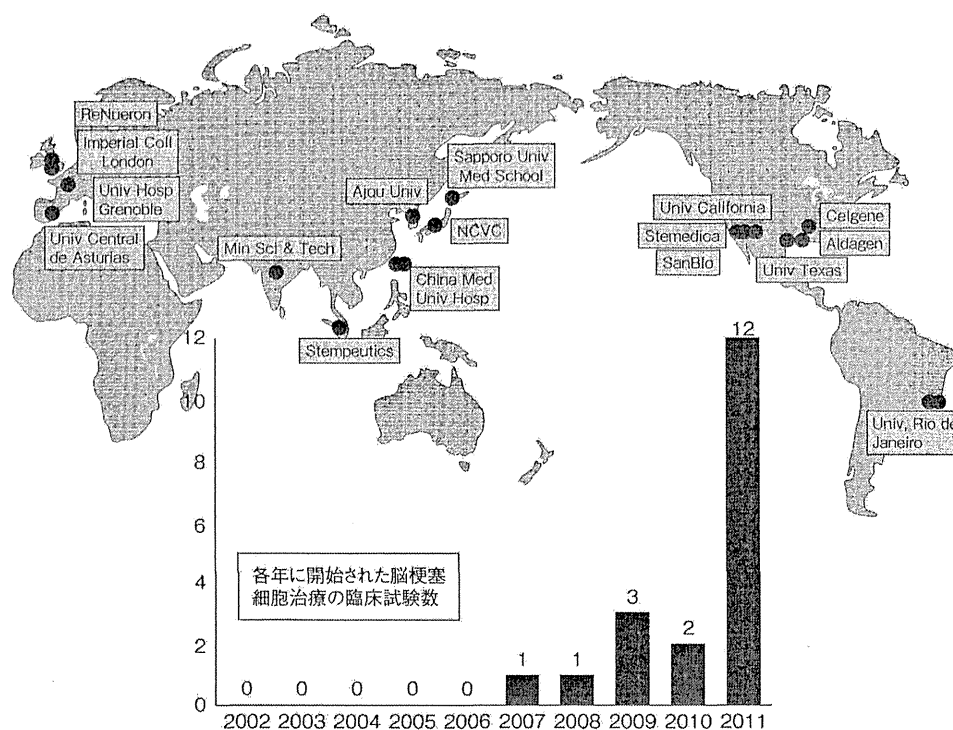


図1 脳卒中中の細胞治療  
世界では、ここ2、3年で脳梗塞に対する細胞療法を用いた臨床試験が急増してきている。われわれの臨床試験を含め、現時点で少なくとも19件の臨床試験がおこなわれている。

してはほぼ有効性が確認されており、脳血管障害に対しても米国の研究グループがその有効性を発表<sup>3)</sup>しているとともに、われわれの研究グループも治療効果および安全性を明らかにしている。世界では、ここ2、3年で脳梗塞に対する細胞療法を用いた臨床試験が急増してきている。われわれの臨床試験を含め、現時点で少なくとも19件の臨床試験がおこなわれた事実がある(図1)。

したがって、骨髄単核球細胞を用いた細胞治療は、現状ではニューロリハ以外にはまったく治療法が存在しない脳血管障害患者に対する再生医療を、“より有効に”かつ“より安全で”かつ“より多くの患者群に”普及させる可能性を有している。

## 2 細胞治療による脳梗塞予防法の開発

脳血管など全身の血管網の恒常性維持には、末梢血中に存在する骨髄由来血管血球系幹細胞(CD34陽性細胞など)の関与が明らかにされている(図2)<sup>4)</sup>。われわれは、末梢血中血管血球系幹細胞の動態と、患者病態との

関連について共同研究を展開してきた<sup>5)</sup>。その結果、①脳梗塞急性期において全身的な組織修復反応として末梢血中へ骨髄由来血管血球系幹細胞の動員がおこなわれること<sup>6)</sup>、②慢性期における末梢血中血管血球系幹細胞が、脳循環代謝と関連していること<sup>6)</sup>、③血管血球系幹細胞の減少が、認知機能の異常と関連していること<sup>7)</sup>、④前向き検討においても、血管血球系幹細胞の減少が認知機能の経時的な低下と関連していること<sup>8)</sup>、⑤脳血管障害の関与が弱いアルツハイマー型認知症においては、末梢血中血管血球系幹細胞の減少はみられないこと<sup>9)</sup>、さらに、⑥脳血管再生が促進されている病態では、末梢血中血管血球系幹細胞の増加がみられること<sup>10)</sup>、また脳血管障害以外の病態においても、末梢血中血管血球系幹細胞の減少が、⑦糖尿病性心筋障害<sup>11)</sup>、⑧糖尿病性腎症の経時的な悪化<sup>12)</sup>、さらに、⑨透析患者における死亡率の上昇や、循環器疾患の発症<sup>13)</sup>とも関連していること、また、⑩末梢血中血管血球系幹細胞の増加と高感度C反応蛋白(C-reactive protein:CRP)の減少・アディポネクチンの増加が関連していること<sup>14)</sup>など、末梢血中血管血球系

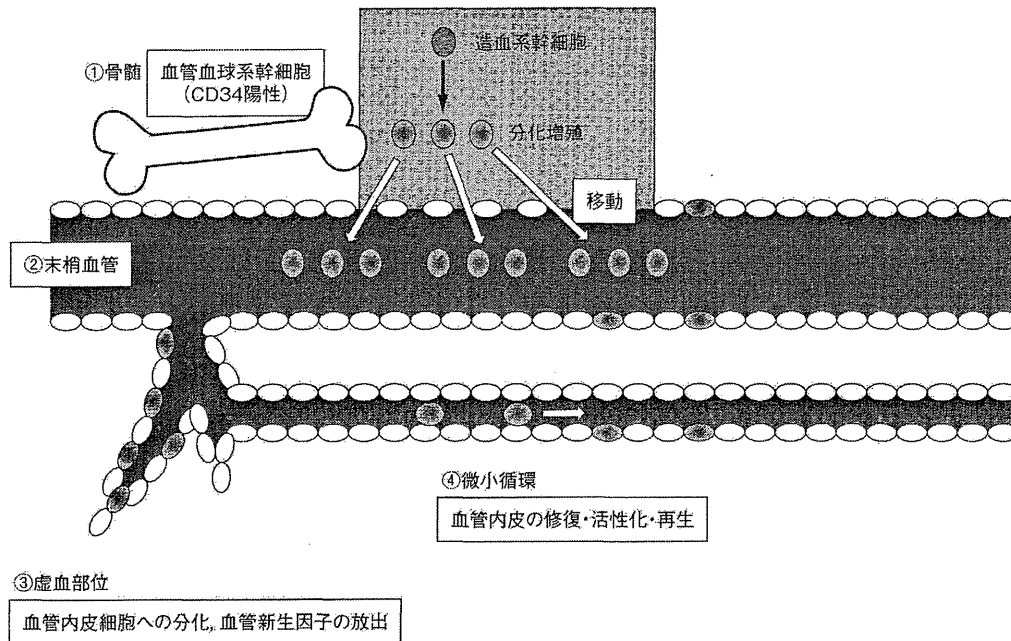


図2 骨髄由来血管血球系幹細胞と血管のメンテナンス  
(田口明彦ほか, 2009<sup>4)</sup>より引用)

骨髄中に存在する造血・血管系幹細胞は末梢血中に動員され、虚血部位において、血管内皮細胞への分化や血管新生因子の放出だけでなく、既存の血管内皮細胞の修復にも関与していると考えられている。

幹細胞と微小循環障害・再生機転に関するさまざまな知見を報告している。

またわれわれは、パージャー病患者に対する自己骨髄単核球移植においては、慢性微小循環障害に対する血管血球系幹細胞を含む骨髄単核球の治療をおこない、その治療効果を明らかにするとともに<sup>15)</sup>、高齢慢性脳血管障害動物モデルにおいて、血管血球系幹細胞移植（造血系幹細胞の入れ替え）が脳血管内皮細胞機能を改善させることを明らかにしている<sup>16)</sup>。現在われわれは、これらの臨床的観察研究、介入試験、および基礎研究による知見をもとに、自己血管血球系幹細胞や iPS 細胞を用いた脳血管障害・血管性認知症の予防の開発に向けて精力的な研究をおこなっている。

### 3 細胞治療による脳梗塞治療法の開発

#### ● 1. マウス脳梗塞モデルを用いた骨髄由来血管血球系細胞の投与効果

われわれが開発した再現性の高い動物モデルを用いて、脳梗塞 48 時間後のマウスに対し、骨髄由来血管血球系

幹細胞を尾静脈より単回投与し、血管再生の促進効果、内因性の神経再生促進効果、脳組織再生効果および神経機能再生効果に関して検討をおこなった。その結果、①脳梗塞後の血管血球系幹細胞投与は梗塞周囲における血管再生を促進し、血流の再建を誘導すること、②脳梗塞後の血管再生は内因性の神経再生を誘導するだけでなく、その生着に必須であること、③血管血球系幹細胞投与による脳梗塞後の血管再生は、脳神経組織の再生を誘導すること、④脳梗塞後の血管再生による脳組織再生は脳機能の再生をもたらすことを明らかにした<sup>17)</sup>。これらの知見は、骨髄単核球など血管血球系幹細胞の血管内移植による血管再生（あるいは微小循環保護）が、内因性の神経再生に必要不可欠であることを示唆するとともに、脳梗塞亜急性期患者に対する新しい細胞治療の可能性を示すものであると考えている。さらに、骨髄単核球との比較検討のため、ほかの細胞群の治療効果における検討をおこなったが、骨髄由来間葉系幹細胞投与では一定の治療効果を認めるものの、血管血球系幹細胞を骨髄から動員する作用のある顆粒球コロニー刺激因子（granulocyte colony-stimulating factor : G-CSF）の投与においては、

逆に脳萎縮や神経機能が低下することを明らかにしており<sup>17)</sup>、顆粒球を中心とした炎症系の活性化は、神経機能回復過程に負の影響を与えることを示唆していると考えられている。

さらに治療時期に関する検討では、マウス骨髄単核球細胞を脳梗塞 1, 2, 4, 7, 10, 14 日および 21 日後に投与し、その効果を検討した。その結果、脳梗塞後 2, 4, 7, 10 日および 14 日後の投与において、脳梗塞巣の減少および行動の改善を認めたが、脳梗塞後 1 日および 21 日後においてはこれらの改善効果を認めなかった。これらの結果は、内因性の神経幹細胞の動員など組織修復機構が活性化されている時期においては細胞投与による効果が期待できるものの、脳梗塞発生直後や脳梗塞慢性期においては骨髄単核球細胞移植による効果が期待できないことを示している。

## ●2. マウス血管性認知症モデルを用いた骨髄単核球細胞の投与効果

われわれが開発した脳循環不全を再現するマウスモデル<sup>18)19)</sup>においても、骨髄単核球細胞の効果を検討した。

マウスの両側総頸動脈狭窄処置 (bilateral common carotid artery stenosis : BCAS) 後 24 時間の時点で、高感度緑色蛍光蛋白質で標識をおこなった脾臓由来の単核球細胞、骨髄単核球細胞 (5×10<sup>6</sup> 細胞)、または陰性コントロールとして溶媒の経尾静脈投与をおこない、処置後 1, 30 日の時点で解析をおこなった<sup>20)</sup>。蛍光実体顕微鏡による直視下の脳表血管の観察により、高感度緑色蛍光蛋白質陽性細胞が脳表血管内の循環血液中に観察され、一部の標識細胞は血管壁に接着し、また血管壁をローリングしていた。その結果、①骨髄単核球細胞投与 6 時間後の早期に脳血流の顕著な増加がみられ、脾臓由来の単核球細胞投与群や溶媒投与群では血流増加はみられないこと、②この現象は、FITC-デキストラン灌流解析法で血管新生が観察される時期に先行すること、③骨髄単核球細胞投与後 1 日経過すると、血管内皮増殖因子と Ser1177 リン酸化 eNOS の上昇が観察されること、④投与したドナー骨髄単核球細胞が内皮細胞やオリゴデンドロサイトに直接分化・生着はしないが、ごく一部は血管壁の周皮細胞に分化していたこと、⑤BCAS によって 30 日後に誘導される脳白質病変は骨髄単核球細胞投与によって有意に軽減すること、⑥NOS 阻害薬 L-NAME を

投与することにより、骨髄単核球細胞投与による早期の脳血流回復効果や後期の血管新生作用や白質保護効果はいずれも消失することがわかり、骨髄単核球細胞投与による脳血流改善作用や血管新生作用はいずれも eNOS、血管内皮細胞増殖因子 (vascular endothelial growth factor : VEGF) を一部介していることが示唆された。また、一部の細胞が周皮細胞へ分化・生着しており、血管新生との関連で注目される。

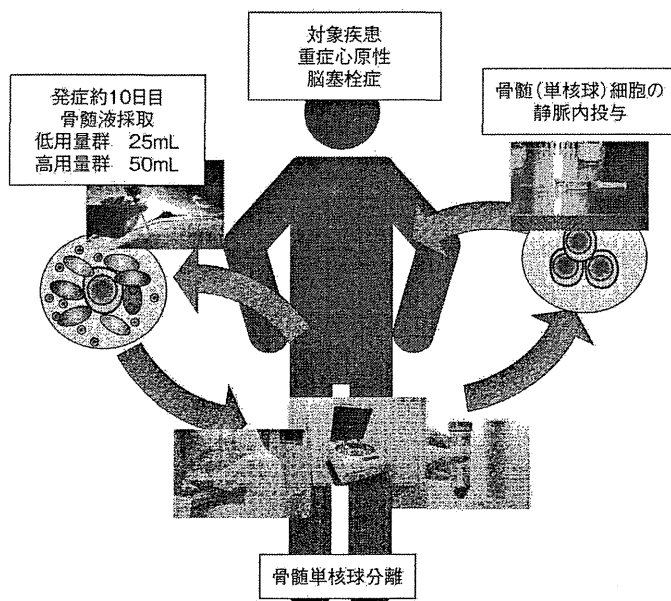
以上、灰白質と白質を病変の主座とする、二つの脳血管障害モデルマウスを用いて骨髄単核球細胞の有用性を示したことは、幹細胞治療を脳卒中に应用するための提言である Stem Cell Therapies as an Emerging Paradigm in Stroke (STEPS)<sup>21)</sup>が推奨するように、臨床応用への可能性を強く示唆するものである。

## ●3. 霊長類における脳梗塞後の自己骨髄単核球細胞投与

つぎにわれわれは、脳梗塞患者に対する自己骨髄単核球移植の臨床試験として、霊長類における脳梗塞後の骨髄採取、およびその静脈内投与に関する検討をおこなった。ヒトにおける臨床試験では、対象疾患を心原性脳塞栓症患者としているため、当動物実験モデルにおいてもヒト病態に近い自己血栓によるカニクイザル塞栓モデルを国立循環器病研究センター研究所放射線医学部とともに作製した。カニクイザルを用い、全身麻酔下に血管撮像装置を使用し、超選択的カテーテル法により自己血栓を中大脳動脈遠位部より投与し、PET による血流評価を併用して中大脳動脈領域の脳梗塞を作製した。脳梗塞の確認は MRI を用いておこない、脳梗塞後にはおもに左上肢を中心とした機能障害を確認した。脳梗塞作製後 7 日後に、腸骨骨髄より骨髄液 (10 mL) を採取し、臨床プロトコルに基づき Ficoll を使った単核球細胞の精製をおこない、静脈より自己骨髄由来単核球細胞の投与をおこなった。

投与骨髄単核球の体内分布の検討においては、骨髄単核球細胞の FDG ラベルをおこない、細胞投与 3 時間目における FDG 陽性細胞の分布を観察した。投与された細胞群は脾臓に多くの集積がみられるものの、肺にはほとんど集積がみられなかった。また一部は頭部における集積も観察された。さらに、骨髄単核球投与前後における末梢血中血管血球系幹細胞の定量的評価をおこなった





図④ 脳梗塞患者を対象とする自己骨髄細胞を用いた臨床試験  
対象患者群を重症心原性脳塞栓症患者（NIHSS 10 点以上かつ入院時からの回復が 5 点以下）とし、脳梗塞発症 7～10 日後に局所麻酔下において自己骨髄細胞を採取し、骨髄単核球分画を精製後に静脈内への投与をおこなう。

ところ、細胞投与 1 時間後においても末梢血中 CD34 陽性細胞数の約 2.5 倍の増加が観察された。現在のところ、再現性の十分高い霊長類の心原性脳塞栓症モデルは存在せず、われわれのモデルにおいても個体間の神経機能および脳梗塞領域に関する変動性が統計解析を妨げるものの、脳梗塞後の経時的神経学的評価においては、細胞投与後に順調な機能回復が観察された。また、細胞投与に伴う神経症状の悪化や脳出血は認められなかった。

#### ●4. 脳梗塞患者における神経再生に関する病理的検討

脳損傷後において、マウスなどげっ歯類だけでなく、脳梗塞患者においても神経再生機構が活性化されることが報告されている。われわれは脳梗塞患者における神経再生に関する病理的検討をおこない、血管再生および神経再生のピークはそれぞれ脳梗塞数日後、および 2～3 週間後であり、マウスにおける脳梗塞後の再生過程と類似していることを明らかにしている。これらの所見は、ヒトにおいても、脳梗塞急性期～亜急性期に内因性神経幹細胞誘導が起ることを示しており、ヒトにおける血管再生療法の可能性を示す重要な所見であると考えている。

#### ●5. 心原性脳塞栓症患者に対する自己骨髄単核球移植

自己骨髄単核球を用いた血管再生、あるいは組織修復促進を目的とした治療法は、四肢虚血性疾患だけでなく、虚血性心疾患に対する数百症例規模の double blind placebo-controlled study においてその有効性が報告されている。

われわれがおこなう脳梗塞患者を対象とする自己骨髄細胞を用いた臨床試験では、対象患者群を重症心原性脳塞栓症患者 [NIH Stroke Scale (NIHSS) 10 点以上かつ入院時からの回復が 5 点以下] とし、脳梗塞発症 7～10 日後に局所麻酔下において自己骨髄細胞を採取し、骨髄単核球分画を精製後に静脈内への投与をおこなうものである (図④)。一次エンドポイントは、①投与 1 ヶ月後の NIHSS の改善度 (有効性)、②NIHSS 悪化症例の頻度 (安全性) であり、2007 年 10 月“厚生労働省ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針”による認可を経て、臨床試験を開始している。予定症例数は低用量群 (骨髄液採取 25 mL) 6 名と高用量群 (骨髄液採取 50 mL) 6 名であり、過去に国立循環器病研究センターに重度心原性脳塞栓症で入院した患者群をヒストリカルコントロール

として用いる。すでに10名の患者のエントリーを終えており、自己骨髄単核球移植治療を心原性脳塞栓症の新しい治療法として確立したいと考えている。

## おわりに

脳梗塞においては、神経細胞だけでなく血液脳関門・血液脳脊髄液関門を形成する細胞群などが障害されるため、脳の組織修復および脳神経機能の改善にはこれらの支持細胞群を含む神経組織全体の再構築が望まれている。われわれは脳梗塞後の神経再生には血管の再生が必要不可欠であることを明らかにしてきたが、神経幹細胞の生着、成熟のための新生血管床の形成、その血管床への神経幹細胞移植、および薬剤などを用いた移植神経幹細胞の分化、成熟、機能の促進、さらにはこれらの再生機転に対する内因性阻害因子の抑制など、生理的なメカニズムに基づいた治療法の発展・開発を現在進めており、脳梗塞により誘導・動員される神経幹/前駆細胞の同定・分離<sup>22)</sup>、またそれらの神経幹/前駆細胞の新生血管床への移植による機能回復・治療効果<sup>23)</sup>など、血管新生を基盤としたより効果的、かつ安全な治療法開発に向けた研究を継続している。

また、脳血管障害・血管性認知症の予防に関しては、末梢血中のCD34陽性細胞などの血管血球系幹細胞の減少が脳梗塞の発症や神経組織の代謝や機能にまで影響を与え、高次神経機能の低下や認知症の発症とも関連していることをわれわれは示してきたが、血管血球系幹細胞を用いた治療法は急性期脳梗塞など急性虚血性疾患患者に対する有効な治療法となるだけでなく、血管性認知症や糖尿病性腎症における微小循環障害、糖尿病性心不全患者など、生活習慣病に伴う幅広い疾病群に対する根治的・普遍的な予防法として発展させることができるとわれわれは考えており、基礎・前臨床研究および臨床的疫学研究、病理解析、症例検討などの多方面からの研究を継続しながら、臨床試験をおこなっている。

## ●文献●

- 1) Tateishi-Yuyama E *et al*: Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet* **360**: 427-435, 2002
- 2) Zhang C *et al*: Efficacy and safety of intracoronary autologous bone marrow-derived cell transplantation in patients with acute myocardial infarction: insights from randomized controlled trials with 12 or more months follow-up. *Clin Cardiol* **33**: 353-360, 2010
- 3) Savitz SI *et al*: Intravenous autologous bone marrow mononuclear cells for ischemic stroke. *Ann Neurol* **70**: 59-69, 2011
- 4) 田口明彦ほか: 脳血管障害に対する幹細胞治療法の開発. *Clinical Neuroscience* **27**: 112-113, 2009
- 5) Kikuchi-Taura A *et al*: A new protocol for quantifying CD34 (+) cells in peripheral blood of patients with cardiovascular disease. *Tex Heart Inst J* **33**: 427-429, 2006
- 6) Taguchi A *et al*: Circulating CD34-positive cells provide an index of cerebrovascular function. *Circulation* **109**: 2972-2975, 2004
- 7) Taguchi A *et al*: Circulating CD34-positive cells provide a marker of vascular risk associated with cognitive impairment. *J Cereb Blood Flow Metab* **28**: 445-449, 2008
- 8) Taguchi A *et al*: Circulating CD34-positive cells have prognostic value for neurologic function in patients with past cerebral infarction. *J Cereb Blood Flow Metab* **29**: 34-38, 2009
- 9) Taguchi A: Vascular factors in diabetes and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* **16**: 859-864, 2009
- 10) Yoshihara T *et al*: Increase in circulating CD34-positive cells in patients with angiographic evidence of moyamoya-like vessels. *J Cereb Blood Flow Metab* **28**: 1086-1089, 2008
- 11) Okada S *et al*: Circulating CD34-positive cell number is associated with brain natriuretic peptide level in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* **31**: 157-158, 2008
- 12) Makino H *et al*: Decreased circulating CD34+ cells are associated with progression of diabetic nephropathy. *Diabet Med* **26**: 171-173, 2009
- 13) Maruyama S *et al*: Low circulating CD34+ cell count is associated with poor prognosis in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int* **74**: 1603-1609, 2008
- 14) Makino H *et al*: Pioglitazone treatment stimulates circulating CD34-positive cells in type 2 diabetes patients. *Diabetes Res Clin Pract* **81**: 327-330, 2008
- 15) Taguchi A *et al*: Therapeutic angiogenesis by autologous bone-marrow transplantation in a general hospital setting. *Eur J Vasc Endovasc Surg* **25**: 276-278, 2003
- 16) Taguchi A *et al*: Reduced ischemic brain injury by partial rejuvenation of bone marrow cells in aged rats. *J Cereb Blood Flow Metab* **31**: 855-867, 2011
- 17) Taguchi A *et al*: Granulocyte colony-stimulating factor has a negative effect on stroke outcome in a murine model. *Eur*

- J Neurosci* **26** : 126-133, 2007
- 18) Shibata M *et al* : White matter lesions and glial activation in a novel mouse model of chronic cerebral hypoperfusion. *Stroke* **35** : 2598-2603, 2004
- 19) Ihara M *et al* : Lessons from a mouse model characterizing features of vascular cognitive impairment with white matter changes. *J Aging Res* **2011** : 978761, 2011.
- 20) Fujita Y *et al* : Early protective effect of bone marrow mononuclear cells against ischemic white matter damage through augmentation of cerebral blood flow. *Stroke* **41** : 2938-2943, 2010
- 21) Savitz SI *et al* : Stem Cell Therapy as an Emerging Paradigm for Stroke (STEPS) II. *Stroke* **42** : 825-829, 2011
- 22) Nakagomi T *et al* : Isolation and characterization of neural stem/progenitor cells from post-stroke cerebral cortex in

- mice. *Eur J Neurosci* **29** : 1842-1852, 2009
- 23) Nakagomi N *et al* : Endothelial cells support survival, proliferation, and neuronal differentiation of transplanted adult ischemia-induced neural stem/progenitor cells after cerebral infarction. *Stem cells* **27** : 2185-2195, 2009

いはら・まさふみ

猪原匡史 先端医療振興財団先端医療センター再生医療研究部  
副部長

1970年、奈良県生まれ。  
1995年、京都大学医学部卒業。2003年、京都大学大学院医学研究科にて医学博士を取得。2004年、日本学術振興会特別研究員。2006年、英国ニューカッスル大学に留学。2008年、京都大学神経内科助教を経て、2012年より現職。専門は脳卒中、臨床神経学。研究テーマは、脳血管障害の再生医療と神経変性疾患における虚血の役割について。

