

ろ、再発が誘導されたことから、IFN- γ を産生するヘルパーT細胞1型 (Th1細胞) が発症に重要と考えられるようになった¹⁰⁾。その後最近になって、IL-17を産生するTh17細胞が、自己免疫疾患の惹起に重要と考えられるようになり、MSにおいてもその関与が示唆されている¹¹⁾。以上のように、MSは中枢神経の抗原 (とくにミエリンが有力な候補であるが) を標的にした自己免疫性疾患であると考えられている。

また免疫反応と多発性硬化症の関係を示すさまざまな研究結果から、免疫システムに関連する遺伝子を候補に遺伝学的解析が行われた。この結果、欧米白色人種においてクラスII HLA分子をコードする特定のハプロタイプが遺伝学的リスクであることが明らかになった (DRB1*1501とDQB1*0601)。このことは抗原提示分子が病態に関与していることを示しており、CD4陽性T細胞のかかわりをさらに示唆する結果である。

免疫システムの調整異常がMSの病態に関与している可能性もある。これはEAEモデルで詳しい検討がなされているが、CD25を発現しているCD4陽性T細胞 (転写因子としてFoxp3を発現している) はIL-10を分泌し、直接的もしくはサイトカインを介して間接的に自己応答性T細胞を抑制している。このような制御性T細胞 (regulatory T cells : Treg) の異常がMSの発症に影響している可能性もある。MSの治療薬として欧米で使用されているglatiramer acetateは、4つのアミノ酸で構成されるポリペプチドの混合物であるが、CD8陽性T細胞のHLA-Eを介してCD4陽性T細胞を選択的に傷害していることが示されており¹²⁾、CD8陽性T細胞を介した病原性CD4陽性T細胞の除外システムも病態に関与している可能性がある。

しかしCD4陽性T細胞だけでなく、CD8陽性T細胞も病態形成に寄与していることが示唆されている。MS病変部では数の上ではCD8陽性T細胞のほうがCD4陽性T細胞より多く、少数例の検討ではあるが、T細胞受容体 (T cell receptor : TCR) の解析により病変部におけるCD8陽性T細胞のクローナルな増殖が報告されている¹³⁾。またCD8陽性T細胞により誘発されるEAEモデルも作製されており¹⁴⁾、これらの所見はCD8陽性T細胞の関与を支持する。現在のところ、CD8陽性T細胞はCD4陽性T細胞によって惹起された炎症反応の増強と組織傷害を仲介していると考えられている。とくに軸索障害については、HLAクラスI分子を発現した脱髄軸索をCD8陽性T細胞が切断する機序が提唱されている。

一方、古くからMSではオリゴクローナルバンドの存在やIgG indexの高値から髄液中の免疫グロブリン産生が亢進していることが示されており、これらはB細胞の関与を疑わせる所見である。MSでは髄液中にMBP、PLP、MOG、ミエリン関連糖蛋白質 (MAG) といったミエリン蛋白に対する自己抗体を認めることが多く¹⁵⁾、またミエリンだけでなく軸索に発現する蛋白であるneurofascin¹⁶⁾、contactin-2¹⁷⁾に対する抗体も報告されている。病理上も急性期病変に補体と免疫グロブリン (主にIgG) が認められている¹⁸⁾。一部のMS患者の髄膜には、B細胞からなるリンパ濾胞様構造がみられ、隣接する皮質の脱髄が観察されている¹⁹⁾。以上のような所見から病態に自己抗体が関与していると考えられ、B細胞の影響が示唆される。またCD20に対するモノクローナル抗体であるrituximabにより、急性期病変の迅速な改善が得られていることから、B細胞は当初考えられていたよりMSの病態に広範に関与している可能性がある。

4 画像所見

— キーポイント —

- MSの病変を検出する方法として、MRIの有用性が高く、診断基準の中でもその重要性は高く位置付けられている。
- 頭部MRI画像では、側脳室周囲から大脳白質に垂直方向に伸びる卵円形のプラーク（ovoid lesion）や脳梁病変などがみられる。
- 脊髄MRIでは、病巣は2椎体を越えず明瞭なT2高信号を呈することが特徴とされる。
- 急性期病巣は、ガドリニウムによって増強効果を認めることが多い。
- 初発時にすでに50～80%の患者は潜在的な病巣を有している。

MSの病変を検出する方法として、MRIは有用性が高い。McDonaldらによって提唱されている診断基準の中でも、近年改訂が行われたものの、その重要性は依然として高く位置付けられている（表2）²⁰⁾。一般にMSの頭部MRI画像では、側脳室周囲から大脳白質に垂直方向に伸びる卵円形のプラーク（ovoid lesion）や脳梁病変などがみられる（図4a）。皮質下白質に沿ったU-fiber病変、T1 black hole病変などが認められることもある。脊髄MRIでは、病巣は2椎体を越えず明瞭なT2高信号を呈することが特徴とされる。MSの急性期病巣は、ガドリニウムによって増強効果を認めることが多い（図4b）。とくに、頻度は低いものの、造影効果が完全にリング状である腫瘍や感染症と異なり、一部が途切れているopen-ring signはMSに特徴的であるとされる²¹⁾。また、MRIの進歩により初発時にすでに50～80%の患者は潜在的な病巣を持っていることが報告されており、その時点での早期治療開始が、その後の予後改善に寄与することも報告されている。

一方で、抗アクアポリン4（AQP4）抗体陽性の患者では、脊髄に3椎体以上の長大な病変を認めることが多く、眼窩の冠状断像では高度の視力障害を反映して視神経の腫脹を認めるこ

表2 McDonaldの多発性硬化症診断基準（2010年改訂版）

臨床像	診断に必要な追加事項
2回以上の増悪と2個以上の臨床的他覚的病巣	なし
2回以上の増悪と1個の臨床的他覚的病巣	空間的多発の基準（a）
1回の増悪と2個以上の臨床的他覚的病巣	時間的多発の基準（b）
1回の増悪と1個の臨床的他覚的病巣（CIS）	空間的多発の基準（a）＋時間的多発の基準（b）
MSを示唆する進行性の増悪（PPMS）	1年以上進行性の増悪を示し、かつ以下の3つのうち2つを満たす ①MRIにおいて、特徴的な領域（脳室周囲、皮下直下、テント下、脊髄）の2領域以上に1つ以上のT2病変。 ②2個以上の脊髄MRI病巣 ③髄液オリゴクローナルバンド陽性、もしくはIgG indexの上昇
(a) 次のいずれかを満たす。①MRIにおいて、特徴的な領域（脳室周囲、皮下直下、テント下、脊髄）の2領域以上に1つ以上のT2病変。②または他の病巣に由来する臨床的増悪（を持つ）。	
(b) 次のいずれかを満たす。①MRIで2つ以上のT2病変があり、1つ以上の造影病変と1つ以上の非造影病変。②再検したMRIで新たなT2病変の確認、あるいは新たな造影病変。③または2回目の臨床的増悪（を持つ）。	

（文献20より引用）

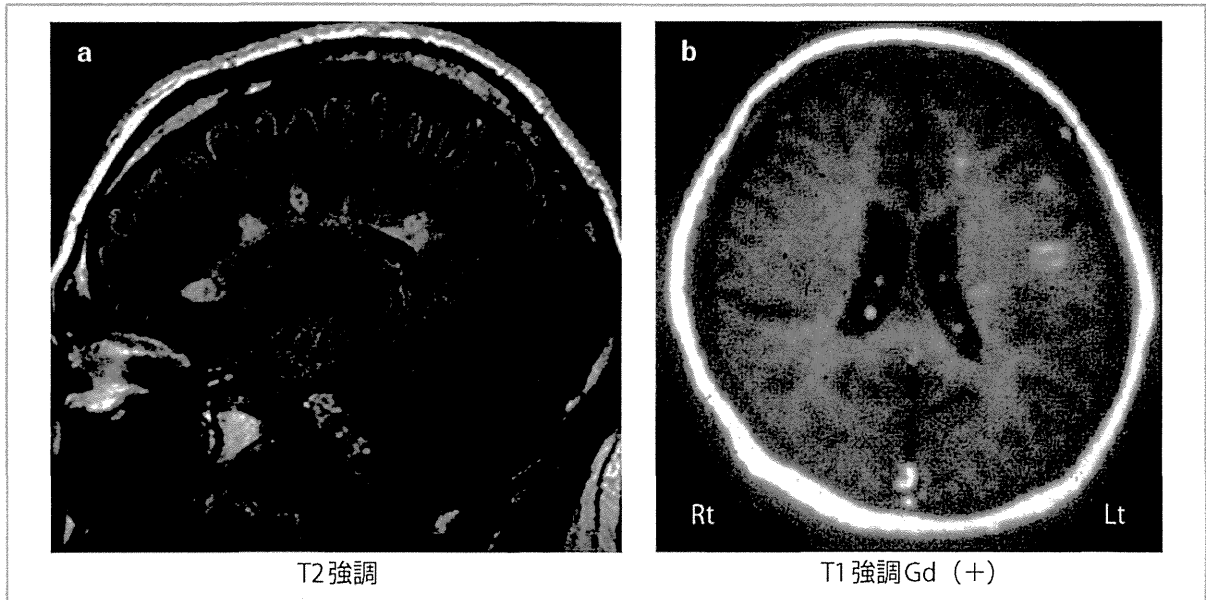


図4 MS患者の頭部MRI画像

- a : T2強調頭部MRI画像 (矢状断). 側脳室周囲から大脳白質に垂直方向に伸びる卵円形のプラークや脳梁病変などがみられる。
- b : Gd造影T1強調頭部MRI画像 (冠状断). ガドリニウムで増強される病巣が散見され, 急性期の病巣であることが示唆される。

とが多い。さらに、大脳白質に大病変を認める場合があり、その病巣は治療により可逆性であることから、単なる脱髄巣ではなく血管原性浮腫である可能性も報告されている^{22,23)}。

5 検査所見

— キーポイント —

- 血液検査では特異的な所見は乏しく、他疾患 (NMOや他の膠原病など) との鑑別目的、治療の副作用発見の目的に行われる。
- 髄液細胞数と総蛋白量は本症の約2/3では正常であるが、増悪期には軽度の細胞増多と総蛋白量増加がみられることがある。
- 髄液ではMBPの上昇、IgG indexの上昇、髄液中のオリゴクローナルバンド陽性などがみられるが、OSMSの場合はオリゴクローナルバンド陽性率が低い。
- 誘発電位検査はMRIでは描出されない病変の証明において非常に有用であり、視覚誘発電位 (VEP)、体性感覚誘発電位 (SEP)、運動誘発電位 (MEP) などが用いられる。
- 誘発電位検査は、臨床的には改善がみられた場合でも、検査所見の改善は緩徐である。

a 血液検査

MSに特異的な血液所見は乏しく、通常NMOや他の膠原病などとの鑑別目的、治療の副作用発見のために行われる。近年NMOとの鑑別などを目的に抗AQP4抗体を測定するケースが増加している。

b 髄液検査

細胞数と総蛋白量は本症の約2/3では正常である。ただし、増悪期には軽度の細胞増多（単核球で細胞数50/ μ L以下）と総蛋白量増加（総蛋白質量100mg/L以下）がみられることがある。増悪期には髄液中にMBPが上昇し、(9ng/mL以上)、髄鞘崩壊を反映する。IgG indexは以下で計算する（正常では0.73以下）。

$$\text{IgG index} = [(\text{髄液IgG} / \text{血清IgG}) / (\text{髄液アルブミン} / \text{血清アルブミン})]$$

欧米のMSでは髄液中のオリゴクローナルバンドが90%以上に出現すると報告されているが、国内のMSでも欧米型のMSで60~70%が陽性となる。2本以上を陽性とする。一度陽性になると、その後は陰性化することはない。PPMSでは診断に参考になる。オリゴクローナルIgMバンド陽性例では進行が速いと報告もある。

ただし、CMSではオリゴクローナルIgGバンドを認める割合は77%だが、OSMSやNMOでは10%と低いことが報告されており、臨床病型に注意を要する²⁴⁾。また、OSMSやNMOは好中球優位の細胞増多を認めることがあるのも特徴である。

c 神経生理学的検査

MSでよく用いられる神経生理学的検査は誘発電位検査である。MSは空間的多発性病変を特徴とするが、臨床症状や神経学的所見からは局所的な病変部位が推定されながらも、MRIでは明らかな病変が描出されないことは日常の診療でしばしば経験される。それは、MRIが組織学的な変化を示しているに過ぎず、必ずしも機能的変化を反映していないことに起因している。誘発電位検査はこうしたMRIでは描出されない病変の証明において不可欠な存在である。また、明らかな臨床徴候を伴わない潜在性病変の検出にも優れており、MRIと併用することにより空間的多発性病変の証明に大きく寄与する。MSの臨床でよく用いられる誘発電位検査には、視覚誘発電位（visual evoked potentials: VEP）、体性感覚誘発電位（somatosensory evoked potentials: SEP）、運動誘発電位（motor evoked potentials: MEP）がある。

1) 視覚誘発電位（VEP）

VEPはMSによる視神経障害を検出する目的で行われる。視神経障害はMSを特徴付ける臨床症状の1つであるが、通常の撮影条件のMRIでは異常を検出しえないことがしばしばであり、視機能障害の程度とMRI所見の間には必ずしも相関がないことが多い。また、通常の視力・視野検査で異常がない場合においても、VEPにより潜在的な視神経の機能的障害を確認できることがあり（図5）²⁵⁾。VEPはMSの診断の過程において重要な検査である²⁶⁾。脊髄炎など、視神経以外の症状で初発する場合のclinically isolated syndrome（CIS）や、MS以外の疾患の検査目的で施行されたMRIで偶然MS様病変が見つかった場合（radiologically isolated syndrome: RIS）²⁷⁾では、潜在性病巣の検出にはVEPの有用性が高いと考えられる。ルーチンで行われるVEPは白黒の格子縞パターン（checkerboard pattern）刺激によるVEPであり、P100潜時の延長の有無を視神経障害（脱髄による視神経の伝導遅延）の判定の指標としている（図5）。注意すべき点として、臨床的に視力が改善してもVEP所見の変化は緩慢であり、治療効果の速やかな判定は難しいことが多い点が挙げられる（図5）²⁵⁾。

2) 体性感覚誘発電位（SEP）

SEPは体性感覚系の機能的な評価を行う検査であり、他の誘発電位検査と同様に画像で検出

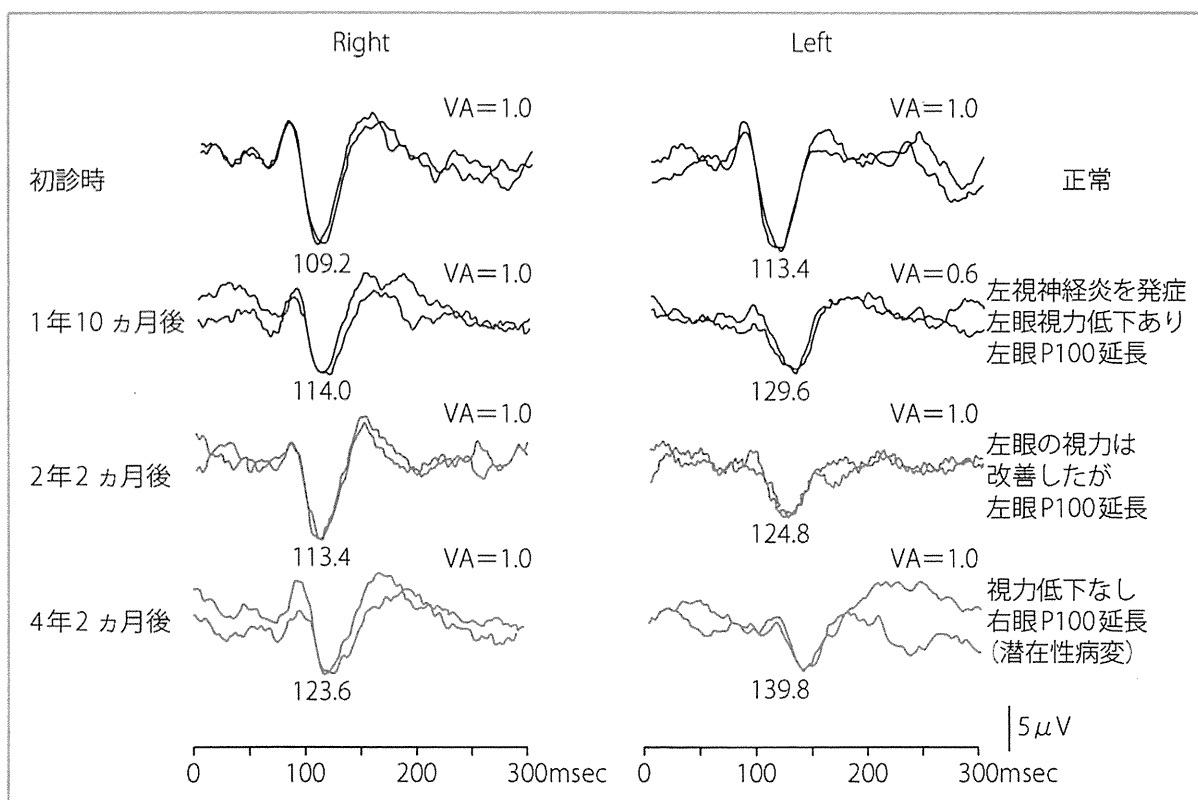


図5 VEP所見と臨床症状との対応

症状の出現に伴いP100の延長が認められる。一方、臨床症状改善後も、VEP所見にはあまり影響を与えていない。

(文献25より引用改変)

しえない病変の検出に有用である。SEPは、上肢（正中、尺骨神経）あるいは下肢（後脛骨、総腓骨神経）の末梢神経を皮膚表面から電気刺激して記録する。求心性感覚経路には後索-内側毛帯系と脊髓視床路系があり、前者は主に識別性の触覚・振動覚・関節位置覚を伝え、後者は痛覚・温度覚を伝えているが、電気刺激で行うルーチンのSEPで評価できるのは前者の経路である。正中神経を手根部で刺激すると、Erb点に設置した電極からN9、頸椎棘突起上ではN13、手の感覚野に対応する頭皮上ではN20が記録される。N9、N13、N20の発生源はそれぞれ上腕神経叢、頸髄後角、大脳皮質感覚野（中心後回皮質3b野）とされている^{28,29}。後脛骨神経刺激を足関節部で刺激すると、第4腰椎棘突起上からN17、第12胸椎棘突起上からN20、足の感覚野に対応する頭皮上からP37が記録される。N17、N20、P37の発生源はそれぞれ馬尾、腰～仙髄後角、大脳皮質感覚野（中心後回皮質3b野）である^{28,29}。各誘発成分の頂点潜時・振幅、およびN20とN13の潜時差から中枢感覚伝導時間（central sensory conduction time: CSCT）を測定して感覚障害の高位診断を行うことができる（図6）³⁰。MSで重要となるのはCSCTであるが、脊髓病変によりN13や下肢SEPのN20において異常を認めるパターンもある。

3) 運動誘発電位 (MEP)

磁気刺激を用いて運動神経遠心路の神経伝導時間を評価する検査法である。磁気刺激では電気刺激のような痛みを伴わず、頭皮・頭蓋骨・脳脊髄液などの電気抵抗の影響を受けずに大脳

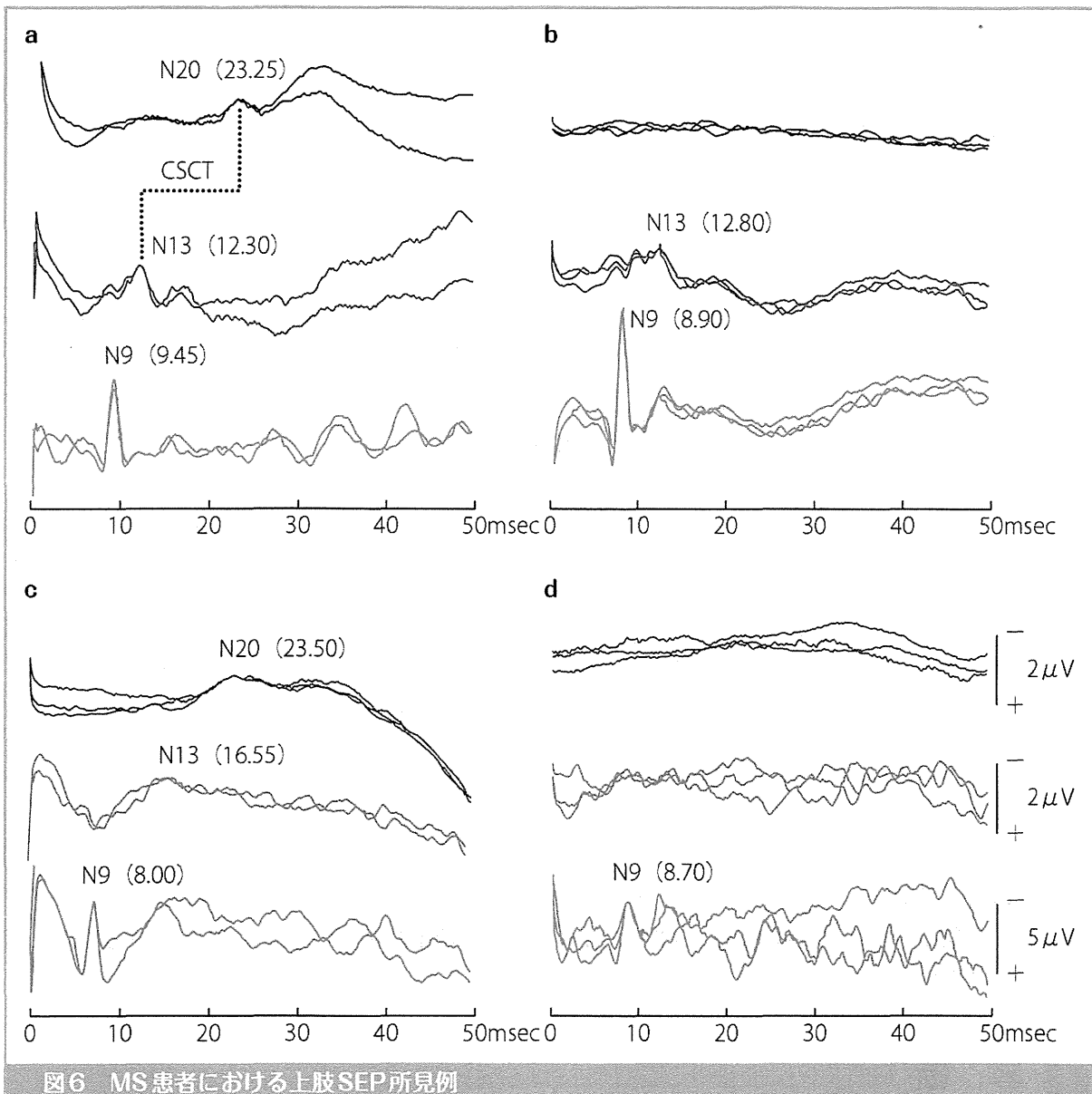


図6 MS患者における上肢SEP所見例

- a : 下部頸髄より上位の中樞病変. N20潜時の延長 (> 21.45 msec) およびCSCTの延長 (23.25 - 12.30 = 10.95 msec > 7.33 msec) を認める.
- b : 下部頸髄より上位の中樞病変 (高度). N20が誘発されない.
- c : 下部頸髄病変. N13およびN20が延長しているが, CSCTは正常.
- d : 下部頸髄病変 (高度). N13およびN20消失.

(文献30より引用改変)

皮質運動野を興奮させることが可能である。上肢MEPでは肘部正中神経 (Elbow), Erb点, 頸部 (C7), 手の運動野 (Scalp) を順に刺激し, 短母指外転筋からMEPを記録する。それぞれの刺激部位についてMEPの立ち上がり潜時を計測し, 運動機能障害の高位診断を行うことができる。とくに頸部 (C7) 刺激と手の運動野刺激 (Scalp) のMEP潜時の差から求められる中枢運動伝導時間 (central motor conduction time : CMCT) は, 錐体路障害の指標としてMSでは重要である (図7)。下肢MEPでは腰部神経根 (L4) と足の運動野を刺激して母指外転筋

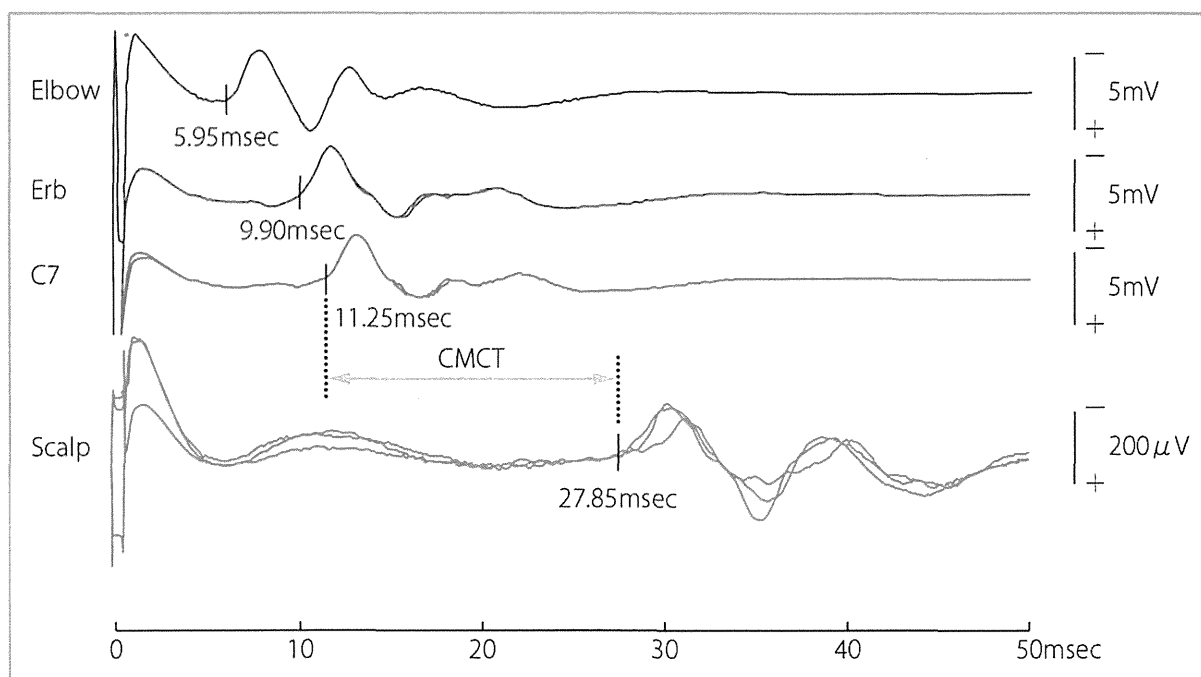


図7 MS患者における上肢MEP所見

Elbow刺激, Erb点刺激, 頸部 (C7) 刺激における各MEP潜時は正常であるが, C7刺激からScalp刺激までの中枢運動伝導時間 (CMCT) が $27.85 - 11.25 = 16.60$ msec (> 10.67 msec) と延長しており, 錘体路における伝導遅延が示唆される。

(文献30より引用改変)

においてMEP潜時を計測する。MEPはVEPやSEPと比較して感度 (異常検出率) の高い検査であるとされている^{31,32)}。ただし, 腱反射の亢進や病的反射の出現とMEP所見の間には必ずしも相関がみられないことや, VEPやSEPと同様に治療に対する変化は緩慢であることに留意する必要がある。

6 診断

— キーポイント —

- 診断には, 中枢神経症候の時間的・空間的多発性を臨床的に証明することがもっとも重要である。
- 診断基準として国際的に用いられているのは, McDonaldの診断基準である。
- 病型には, 臨床経過によりRRMS, PPMS, SPMSがある。
- RRMSにおいて, 病変分布の特徴により, 大脳, 小脳, 脳幹を含む中枢神経系全般において広範に病変をきたすCMSと, 視神経, 脊髄に比較的選択的に病変をきたすOSMSと従来より分類しており, OSMSはアジア人種に多くみられる。
- 炎症性脱髄性疾患を示唆する中枢神経病巣を呈する状態が24時間以上続く急性のエピソードで, それ以前には脱髄性疾患を示唆するエピソードがないものをclinically isolated syndrome (CIS) という。

MSでは中枢神経病変によるあらゆる症状をきたすため、単独の病変のみでMSと診断するのは難しい。また、臨床の場でMSを鑑別診断に挙げる場合、MSの初発であるのか、あるいは再発であるのかを分けて考える必要がある。初発の場合、その鑑別診断は非常に重要であり、急性散在性脳脊髄炎、球後性視神経炎や急性脊髄炎をきたす自己免疫疾患など、各種疾患を鑑別しなければならない。明らかな他疾患による原因がない場合、CISとして分類される。すでにMSと診断されている場合、再発時における診断は比較的容易であるが、MSを示唆するMRI画像所見や脳脊髄液検査所見を知っておく必要がある。

a MSの診断基準と病型

MSの診断には、中枢神経症候の時間的・空間的多発性を臨床的に証明することがもっとも重要である。画像所見の欄でも述べたが、MSの診断にはMRIの有用性が高い。MSの診断基準は、2001年に国際ナショナルパネルにより発表されたMcDonaldの診断基準が国際的に用いられている³³⁾。その後2005年と2010年に改訂が加えられた(表2)³⁴⁾。MRI上の診断基準を用いて早期にMSと診断し、すぐに疾患修飾薬の服用を始めることを目指している。「増悪」とは、炎症性脱髄性の機序が想定される神経学的障害が24時間以上続いていることが、自覚的(ただし、客観的所見も伴う)あるいは他覚的に確認されるもの、とされる³⁵⁾。

MSの病型には前述のように臨床経過により、RRMS、PPMSがある。PPMSは、病初期から慢性進行性の経過をとり、再発のないものをいう。MS全体の5~10%を占める。そしてRRMSが再発寛解を繰り返す過程で進行型へ移行するSPMSがある。まれに初期から進行型で、ときに急性の再発をきたす進行性再発型MS(progressive relapsing MS: PRMS)の報告もみられる³⁶⁾。臨床的には神経学的な増悪を繰り返すRRMSがほとんどだが、経過中に再発とは無関係に神経症状が慢性的に悪化するSPMSに移行することが多い。RRMSからSPMSへの移行については、脱髄を中心とする炎症から神経変性へと病態が変化していることを反映していると考えられている。またRRMSにおいて、病変分布の特徴により、大脳、小脳、脳幹を含む中枢神経系全般において広範に病変をきたすCMSと、視神経、脊髄に比較的選択的に病変をきたすOSMSと従来より分類しているのも前述のとおりである。

b clinically isolated syndrome (CIS) の診断基準

CISとは炎症性脱髄性疾患を示唆する中枢神経病巣を呈する状態が24時間以上続く急性の発作(エピソード)で、それ以前には脱髄性疾患を示唆するエピソードがないものをいう³³⁾。MSと診断できる時間的な多巣性は臨床的にもMRI上も認められない。MS以外の疾患が除外されていることが必要である。なお国際ナショナルパネル(National MS Society Task Force)は、以下の5つのタイプを挙げている³⁴⁾。

- ① Type 1 CIS: 臨床的に単巣性病巣(1ヵ所の病巣)があり、MRI上少なくとも1つの無症候性病巣を有する。
- ② Type 2 CIS: 臨床的に多巣性病巣(複数ヵ所の病巣)があり、MRI上少なくとも1つの無症候性病巣を有する。
- ③ Type 3 CIS: 臨床的に単巣性病巣(1ヵ所の病巣)があるが、MRIは正常なもの。
- ④ Type 4 CIS: 臨床的に多巣性病巣(複数ヵ所の病巣)があるが、MRIは正常なもの。

⑤ Type 5 CIS：脱髄性疾患を示唆する臨床所見はないが、MRI所見がMSを示唆するもの。CISの鑑別診断の方法に関しては、国際パネルが詳細な報告を発表している³⁴⁾。

7 治療と予後

— キーポイント —

- 日本ではMS治療ガイドラインが2010年にまとめられた。
- 急性期の加療としては、副腎皮質ステロイド薬の使用が一般的であり、効果不十分な場合や使用ができない場合に血漿交換療法が考慮される。
- 再発、障害進行防止目的の治療法としては、IFN- β 治療がまず挙げられるが、免疫抑制薬を使用することもあり、また近年経口薬であるfingolimodが使用可能となった。
- 抗AQP4抗体陽性患者、膠原病合併患者、OSMS患者については病態がやや異なり、また妊娠・出産患者についても児への影響という観点から、治療において注意が必要である。
- MSは再発寛解を繰り返しながら症状が蓄積し、少なからず進行性の経過に転じていく疾患であり、脱髄疾患であるものの、変性疾患的な要素も含んでいる。

日本の多発性硬化症の治療ガイドラインが2010年にまとめられた。治療については、本ガイドラインを踏襲しつつ、近年国内でも発売となったfingolimodについても記す。

a 主に急性期の治療

1) 副腎皮質ステロイド

副腎皮質ステロイド薬は、MSの急性増悪に対して短期的な機能改善を促進し、再発時の治療として確立した方法である³⁷⁾。ステロイドパルス療法としては、methylprednisolone 500mg/日以上を3~5日間点滴静注する。通常1,000mg/日を3日間投与することが多い。効果がなければ5日間まで延長する。第1クールのパルス療法が無効の場合、第2クールの治療の追加も多く行われているが、その有効性について明らかなエビデンスはない。

後療法として経口prednisoloneを漸減投与することが一般的に行われているものの、その意義に関してはエビデンスがないのが現状である³⁸⁾。なお、副腎皮質ステロイド薬の長期的な機能改善作用は明らかでなく、定期的なパルス療法の実施について十分な科学的根拠はない³⁸⁾。

2) 血漿交換療法

急性増悪期でステロイドパルス療法を行ったにもかかわらず十分な治療効果が得られなかった場合や、合併症やステロイドの副作用のためにステロイド薬の投与が困難な場合には、血漿交換療法が勧められる³⁹⁾。使用方法としては、隔日2~3回/週、7回/月まで保険適用があり、低血圧、溶血、低蛋白血症、低カルシウム血症、血小板減少、出血傾向などに留意し、実施間隔を調整する。出血症状、循環不全、感染症がある場合には相対的禁忌である。MSの長期的な予後には血漿交換療法は影響がないとされる。また、慢性進行型MSにおいては、血漿交換療法の有効性は認められていない⁴⁰⁾。

⑥ 主に再発、障害進行の防止

1) IFN- β

RRMSの再発予防には、IFN- β の有効性が証明されており^{41,42)}、身体機能障害の進行を抑制する効果も確認されている^{41,43)}。IFN- β 1bの場合は800万単位隔日皮下注、IFN- β 1aの場合は30 μ gを週1回筋注することが通常の使用方法である。IFN- β で治療中でも再発予防効果が認められないnon-responderは、欧米人においても日本人の全国臨床疫学調査結果でも、約30%に上るといわれている。

近年、IFN- β 治療における早期導入の有効性が明らかになってきた。いずれの製剤においても、CISを対象にIFN- β を導入すると、2年の時点で臨床的に確定されたMS (clinically definite MS : CDMS)へ移行した割合がプラセボ群と比較して有意に低いことが確認された^{44,45)}。また、2年の観察後にプラセボ群にもIFN- β 投与を開始し、5年の時点で早期治療群と遅延治療群で比較すると、CDMSへ移行した割合は5年の時点においても有意差が認められた^{46,47)}。IFN- β 1bについては認知機能テストの一部において早期治療群と遅延治療群で有意な差があり、治療導入の遅れがその後の機能障害に影響する可能性が示唆されている⁴⁶⁾。CISの時点で治療を導入する重要性が明らかになったことから、現在のMSの診断基準ではMRI所見と組み合わせることで、CISについてもMSと診断することが可能となっている²⁰⁾。

CMSについては、臨床的あるいは画像上の再発を認めるSPMSでは再発予防効果が認められ、身体機能障害の進行を抑制する効果が期待できるので、投与を行うことが勧められている。一方、病初期から慢性進行性の経過をとるPPMSでは、進行を防止する効果は認められなかった^{48,49)}。ただし、病歴上、初期の再発が明確でないことも少なくないため、PPMSかSPMSかの鑑別が難しい症例では、MRI上で造影病巣などの活動性病巣を認める場合は、投与を考慮してもよいと考えられている。

投与方法については、1/4量などの少量から開始し、有害事象の発現状況を観察しながら漸増する方法が勧められる。IFN- β では、副作用としてインフルエンザ様症状や注射部位反応、うつ症状、頭痛、白血球数や肝機能などの臨床検査値異常が高率にみられる。しかし、10年以上の長期投与でも重篤な副作用の発現は少なく、長期間投与後においても再発防止効果が期待できるので、服薬アドヒアランスを上げることが大切である。

2) fingolimod (FTY720)

fingolimod (FTY720)はT細胞のスフィンゴシン1リン酸のレセプター (sphingosine-1-phosphate type 1 receptor : S1P1R)に作用することでこれを内在化させ、胸腺や二次リンパ系組織からのT細胞の移出を抑制し、MSの再発を抑制する。MSに対するfingolimodの効果は、末梢血中へのT細胞の移出抑制だけではなく、中枢神経系への直接的な作用が影響している可能性も考えられている。RRMSを対象とした2年間の第3相試験の結果、優れた再発、障害度進行の抑制効果が確認され、画像的にも活動性脳病巣数の有意な減少、脳容積減少の抑制効果が確認された⁵⁰⁾。IFN- β 1a治療群との比較でも再発抑制効果、活動性脳病巣抑制効果はfingolimod治療群で高かった¹⁸⁾。薬剤に関連した有害事象としては徐脈の頻度が高く、導入初期は脈のモニターが推奨されている。fingolimodは製剤が経口内服薬であり、治療コンプライアンスの面では従来のIFN- β などの疾患修飾治療薬より有利である。国内でも2011年より処方可能となっている。

3) azathioprine

再発頻度を低下させるものの、障害度の進行を抑制する効果は限定的で、効果発現まで長時間を要する。他の免疫抑制薬と比べて、重篤な副作用が少なく、耐用性に優れているので、CMSでIFN- β が無効ないしは副作用のために使用できない例などで実施されている。通常50~100mg/日を投与する。

4) cyclophosphamide

高用量の点滴静注がMSの障害度の進行防止に軽度有効といわれている。CMSでIFN- β が無効ないしは副作用のために使用できない例や、進行型MSで他の治療で効果がない場合に実施が考慮される。しかし、副作用としては骨髄抑制、出血性膀胱炎、二次性腫瘍、不妊など重篤なものが少なくない。投与は1~2ヵ月に1回700~800mg/体表面積 (m^2) の点滴静注が推奨される。

5) mitoxantrone

RRMSやSPMSで再発率の減少や障害度の進行の抑制効果が認められている。活動性の高いRRMSやSPMSでIFN- β が無効な場合に投与を考慮する。しかし副作用としては、心機能低下や白血病の発生などの重篤なものが認められている。毎回白血球の減少をみながら投与量を決定する必要がある。初回に10または12mg/体表面積 (m^2) を点滴静注し、以降は3ヵ月ごとに毎月5または10mg/体表面積 (m^2) を投与する。白血球、とくに好中球の減少は必発で、投与10~14日後に認められ、ほぼ3週間以内に回復する。頻脈、不整脈、うっ血性心不全などの心毒性がみられ、点滴速度が速いと心毒性を呈しやすいので、30分以上かけて投与する。

6) methotrexate

IFN- β 1aとの併用での優位な追加効果は認められていない。また、進行型MSの上肢機能の進行に対して軽度有効との報告がある。一方、骨髄抑制、肝・腎機能障害、間質性肺炎、肺線維症などの重篤な副作用が出現するリスクがある。

◎ 病態ごとの治療

1) 抗AQP4抗体陽性患者

抗AQP4抗体が陽性である場合は、IFN- β の新規投与は推奨されない。すでに使用している患者で、後で抗AQP4抗体が陽性であると判明した際には、臨床的にIFN- β の効果が認められている場合は中止する必要はない。免疫抑制薬としてazathioprineを併用することでステロイド薬の減量を勧める意見もある。azathioprineで効果が不十分な場合にmitoxantroneが有効であったとする少数例での報告もある。保険適用外であるが、免疫グロブリン大量静注 (intravenous immunoglobulin : IVIg) や抗CD20抗体であるrituximabがNMOの再発防止に有効であったとする報告がある。

2) OSMS患者の治療

OSMSでは、1クールステロイドパルス療法では改善の得られない再発をしばしば経験する。このような場合、同治療を1~2クール追加することで症状の軽快が得られる場合がある。さらに、髄液やMRI画像所見で強い炎症所見が存在する証拠があれば、5日間の点滴静注のほうが回復促進に役立つ可能性がある。再発予防に関しては、CMSと同様、IFN- β の効果が認められているが、IFN- β 1b療法での調査では、OSMS患者のほうがCMS患者より再発頻度が

高かったと報告されている⁵¹⁾。OSMSにはIFN- β 無効症例が少なからず含まれていると考えられ、導入前に抗AQP4抗体の測定を行っておくことが望ましい。

3) 膠原病合併例の治療

膠原病の中でも、関節リウマチ、Sjögren症候群、全身性エリテマトーデスの合併がある場合は、IFN- β は合併する膠原病を増悪させる可能性があるため、その投与は勧められない。

MS患者では自己免疫性甲状腺疾患の合併頻度が有意に高いとする報告がある。とくにIFN- β 開始前に抗甲状腺抗体が陽性であったり、自己免疫性甲状腺炎を合併していたりすると、IFN- β の投与により甲状腺機能異常が発現するリスクが高くなるとされており⁵²⁾、自己免疫性甲状腺疾患を合併する場合は、IFN- β の慎重な投与が勧められる。

再発性NMOの10~40%では、Sjögren症候群、全身性エリテマトーデスなどの膠原病や自己免疫性甲状腺疾患を合併しているため、長大な脊髄病巣がみられた場合は抗AQP4抗体を測定することが望ましい。

4) 妊娠・出産時の対応

妊娠中は、MSの発症と再発は低下する。とくに妊娠第3三半期には有意に年間再発率が低下するが、出産後3ヵ月間は有意に再発率が増加する^{53,54)}。しかし、長期的にみると、妊娠自体はMSの障害度の進行には影響を及ぼさない⁵⁵⁾。MSの罹患による妊娠中毒や流産の増加はみられないとされており⁵⁶⁾、MSに罹患していても妊娠・出産は可能である。ただし、IFN- β の使用は、流産や新生児の低体重のリスクを高くするため⁵⁷⁾、妊娠時には禁忌である。妊娠希望の際には漸減中止することが望ましい。

その他の薬剤についても、妊娠時にはmethotrexateは禁忌、cyclophosphamide、mitoxantrone、azathioprineも原則的に使用しない。glatiramerは再発減少作用の十分なエビデンスがあり、ヒト胎児への危険性の証拠がないとされる薬剤であるが、日本では未承認である。

妊娠中に再発した場合は、副腎皮質ステロイド薬投与は妊娠第1三半期以降ならば可能である。血液浄化療法やIVIgも可能であるが、後者の急性期治療効果はエビデンスが確立されていない。

なお、出産後は速やかにIFN- β を再開することが望ましい。IFN- β は母乳への移行が認められているので、初乳を与えた後にIFN- β を再開し、それ以降は人工乳とすることが勧められる。

d 予 後

MSは上述のように、再発寛解を繰り返しながら症状が蓄積し、少なからず進行性の経過に転じていく疾患であり、脱髄疾患であるものの、変性疾患的な要素も含んでいる。RRMSからSPMSに移行する確率はおよそ50%に近く、いったん進行期に至れば、ほぼ半数の患者は5~6年以内に補助具なしでは歩行できなくなるという報告もある⁵⁸⁾。一方、生命予後の点からみると、70歳未満のMS患者は、同年代の健常者と比べて約5年程度平均余命が短いといわれている。しかし近年、早期診断、早期治療介入による予後の改善も実証されてきており、また分子標的治療など、新治療法の開発が目立っている。これらの進歩により、本疾患の予後の改善が期待される。

■ 文 献

- 1) Kurtzke JF : Epidemiologic contributions to multiple sclerosis : an overview. *Neurology* **30** : 61-79, 1980
- 2) Kira J : Multiple sclerosis in the Japanese population. *Lancet Neurol* **2** : 117-127, 2003
- 3) Osoegawa M et al : Temporal changes and geographical differences in multiple sclerosis phenotypes in Japanese : nationwide survey results over 30 years. *Mult Scler* **15** : 159-173, 2009
- 4) Lennon VA et al : IgG marker of optic-spinal multiple sclerosis binds to the aquaporin-4 water channel. *J Exp Med* **202** : 473-477, 2005
- 5) Ishizu T et al : Heterogeneity and continuum of multiple sclerosis phenotypes in Japanese according to the results of the fourth nationwide survey. *J Neurol Sci* **280** : 22-28, 2009
- 6) 磯部紀子ほか : 日本のMS, NMOの疫学的特徴 : 全国臨床疫学調査の解析結果から. *Brain Med* **22** : 303-310, 2010
- 7) Henderson AP et al : Multiple sclerosis : distribution of inflammatory cells in newly forming lesions. *Ann Neurol* **66** : 739-753, 2009
- 8) Lovett-Racke AE et al : Decreased dependence of myelin basic protein-reactive T cells on CD28-mediated costimulation in multiple sclerosis patients : a marker of activated/memory T cells. *J Clin Invest* **101** : 725-730, 1998
- 9) Scholz C et al : Expansion of autoreactive T cells in multiple sclerosis is independent of exogenous B7 costimulation. *J Immunol* **160** : 1532-1538, 1998
- 10) Panitch HS et al : Exacerbations of multiple sclerosis in patients treated with gamma interferon. *Lancet* **1** : 893-895, 1987
- 11) Ishizu T et al : Intrathecal activation of the IL-17/IL-8 axis in opticospinal multiple sclerosis. *Brain* **128** : 988-1002, 2005
- 12) Tennakoon DK et al : Therapeutic induction of regulatory, cytotoxic CD8⁺ T cells in multiple sclerosis. *J Immunol* **176** : 7119-7129, 2006
- 13) Babbe H et al : Clonal expansions of CD8⁺ T cells dominate the T cell infiltrate in active multiple sclerosis lesions as shown by micromanipulation and single cell polymerase chain reaction. *J Exp Med* **192** : 393-404, 2000
- 14) Ji Q et al : Experimental autoimmune encephalomyelitis mediated by CD8⁺ T cells. *Ann N Y Acad Sci* **1103** : 157-166, 2007
- 15) Cross AH et al : B cells and antibodies in CNS demyelinating disease. *J Neuroimmunol* **112** : 1-14, 2001
- 16) Mathey EK et al : Neurofascin as a novel target for autoantibody-mediated axonal injury. *J Exp Med* **204** : 2363-2372, 2007
- 17) Derfuss T et al : Contactin-2/TAG-1-directed autoimmunity is identified in multiple sclerosis patients and mediates gray matter pathology in animals. *Proc Natl Acad Sci USA* **106** : 8302-8307, 2009
- 18) Lucchinetti C et al : Heterogeneity of multiple sclerosis lesions : implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol* **47** : 707-717, 2000
- 19) Howell OW et al : Meningeal inflammation is widespread and linked to cortical pathology in multiple sclerosis. *Brain* **134** : 2755-2771, 2011
- 20) Polman CH et al : Diagnostic criteria for multiple sclerosis : 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol* **69** : 292-302, 2011
- 21) Masdeu JC et al : Open-ring imaging sign : highly specific for atypical brain demyelination. *Neurology* **54** : 1427-1433, 2000
- 22) Magaña SM et al : Posterior reversible encephalopathy syndrome in neuromyelitis optica

- spectrum disorders. *Neurology* **72** : 712-717, 2009
- 23) Matsuoka T et al : Heterogeneity of aquaporin-4 autoimmunity and spinal cord lesions in multiple sclerosis in Japanese. *Brain* **130** : 1206-1223, 2007
- 24) Nakashima I et al : Oligoclonal IgG bands in Japanese patients with multiple sclerosis : a comparative study between isoelectric focusing with IgG immunofixation and high-resolution agarose gel electrophoresis. *J Neuroimmunol* **159** : 133-136, 2005
- 25) 飛松省三 : 研修医のための誘発電位実践ガイド : 早わかり誘発電位 : 視覚誘発電位と聴覚脳幹誘発電位. *臨脳波* **47** : 638-648, 2005
- 26) Gronseth GS et al : Practice parameter : the usefulness of evoked potentials in identifying clinically silent lesions in patients with suspected multiple sclerosis (an evidence-based review) : Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* **54** : 1720-1725, 2000
- 27) Lebrun C et al : Association between clinical conversion to multiple sclerosis in radiologically isolated syndrome and magnetic resonance imaging, cerebrospinal fluid, and visual evoked potential : follow-up of 70 patients. *Arch Neurol* **66** : 841-846, 2009
- 28) Cruccu G et al : Recommendations for the clinical use of somatosensory-evoked potentials. *Clin Neurophysiol* **119** : 1705-1719, 2008
- 29) 飛松省三 : 研修医のための誘発電位実践ガイド : 早わかり誘発電位 : 体性感覚誘発電位と運動誘発電位. *臨脳波* **47** : 717-726, 2005
- 30) 萩原綱一ほか : 多発性硬化症の電気生理診断学. 多発性硬化症の診断と治療. 吉良潤一 (編). 新興医学出版社. 東京. p66-72, 2008
- 31) Mayr N et al : The sensitivity of transcranial cortical magnetic stimulation in detecting pyramidal tract lesions in clinically definite multiple sclerosis. *Neurology* **41** : 566-569, 1991
- 32) 黒川智美ほか : 検査・診断法の進歩 : 電気生理学的診断法. *日臨* **61** : 1347-1354, 2003
- 33) Dalton CM et al : Application of the new McDonald criteria to patients with clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis. *Ann Neurol* **52** : 47-53, 2002
- 34) Miller DH et al : Differential diagnosis of suspected multiple sclerosis : a consensus approach. *Mult Scler* **14** : 1157-1174, 2008
- 35) Polman CH et al : Diagnostic criteria for multiple sclerosis : 2005 revisions to the "McDonald Criteria". *Ann Neurol* **58** : 840-846, 2005
- 36) Tullman MJ et al : Clinical characteristics of progressive relapsing multiple sclerosis. *Mult Scler* **10** : 451-454, 2004
- 37) Miller DM et al : A meta-analysis of methylprednisolone in recovery from multiple sclerosis exacerbations. *Mult Scler* **6** : 267-273, 2000
- 38) Ciccone A et al : Corticosteroids for the long-term treatment in multiple sclerosis. *Cochrane Database Syst Rev* **23** : CD006264, 2008
- 39) Weinshenker BG et al : A randomized trial of plasma exchange in acute central nervous system inflammatory demyelinating disease. *Ann Neurol* **46** : 878-886, 1999
- 40) Weiner HL et al : Double-blind study of true vs. sham plasma exchange in patients treated with immunosuppression for acute attacks of multiple sclerosis. *Neurology* **39** : 1143-1149, 1989
- 41) Jacobs LD et al : The Multiple Sclerosis Collaborative Research Group (MSCRG) : Intramuscular interferon beta-1a for disease progression in relapsing multiple sclerosis. *Ann Neurol* **39** : 285-294, 1996
- 42) Zhao GJ et al : UBC MS/MRI Analysis Group and the MS Study Group : Effect of interferon beta-1b in MS : assessment of annual accumulation of PD/T2 activity on MRI. *Neurology*

54 : 200-206, 2000

- 43) Schwartz CE et al : The quality-of-life effects of interferon beta-1b in multiple sclerosis : an extended Q-TWiST analysis. *Arch Neurol* **54** : 1475-1480, 1997
- 44) Jacobs LD et al : CHAMPS Study Group : Intramuscular interferon beta-1a therapy initiated during a first demyelinating event in multiple sclerosis. *N Engl J Med* **343** : 898-904, 2000
- 45) Kappos L et al : Treatment with interferon beta-1b delays conversion to clinically definite and McDonald MS in patients with clinically isolated syndromes. *Neurology* **67** : 1242-1249, 2006
- 46) Kappos L et al : BENEFIT Study Group : Long-term effect of early treatment with interferon beta-1b after a first clinical event suggestive of multiple sclerosis : 5-year active treatment extension of the phase 3 BENEFIT trial. *Lancet Neurol* **8** : 987-997, 2009
- 47) Kinkel RP et al : CHAMPIONS Study Group : IM interferon beta-1a delays definite multiple sclerosis 5 years after a first demyelinating event. *Neurology* **66** : 678-684, 2006
- 48) Leary SM et al : Interferon beta-1a in primary progressive MS : an exploratory, randomized, controlled trial. *Neurology* **60** : 44-51, 2003
- 49) Montalban X : Overview of European pilot study of interferon beta-1b in primary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler* **10** [Suppl 1] : S62 : discussion 62-64, 2004
- 50) Kappos L et al : FREEDOMS Study Group : A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* **362** : 387-401, 2010
- 51) Ochi H et al : Time-dependent cytokine deviation toward the Th2 side in Japanese multiple sclerosis patients with interferon beta-1b. *J Neurol Sci* **222** : 65-73, 2004
- 52) Monzani F et al : Effect of 1-year treatment with interferon-beta1b on thyroid function and autoimmunity in patients with multiple sclerosis. *Eur J Endocrinol* **141** : 325-331, 1999
- 53) Confavreux C et al : Pregnancy in Multiple Sclerosis Group : Rate of pregnancy-related relapse in multiple sclerosis. *N Engl J Med* **339** : 285-291, 1998
- 54) Vukusic S et al : Pregnancy and multiple sclerosis (the PRIMIS study) : clinical predictors of post-partum relapse. *Brain* **127** : 1353-1360, 2004
- 55) Roullet E et al : Pregnancy and multiple sclerosis : a longitudinal study of 125 remittent patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **56** : 1062-1065, 1993
- 56) Damek DM et al : Pregnancy and multiple sclerosis. *Mayo Clin Proc* **72** : 977-989, 1997
- 57) Walther EU et al : Multiple sclerosis : side effects of interferon beta therapy and their management. *Neurology* **53** : 1622-1627, 1999
- 58) Runmarker B, Andersen O : Prognostic factors in a multiple sclerosis incidence cohort with twenty-five years of follow-up. *Brain* **116** (Pt 1) : 117-134, 1993

Mesenchymal Stem Cells as a Source of Schwann Cells: Their Anticipated Use in Peripheral Nerve Regeneration

Shohei Wakao^a Dai Matsuse^c Mari Dezawa^{a, b}

Departments of ^aStem Cell Biology and Histology and ^bAnatomy and Anthropology, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, and ^cDepartment of Neurology, Kyushu University Graduate School of Medicine, Fukuoka, Japan

Key Words

Schwann cells · Myelin · Mesenchymal stem cells · Umbilical cord · Bone marrow · Fat tissue

Abstract

Schwann cells form myelin, sustain axons and provide the microenvironment for nerve fibers, thereby playing a key role in the peripheral nervous system (PNS). Schwann cells also provide support for the damaged PNS by producing factors that strongly promote axonal regrowth and contribute to remyelination, which is crucial for the recovery of neural function. These advantages are not confined to the PNS and also apply to the central nervous system. Many diseases, including peripheral nerve injury, neuropathy, multiple sclerosis and spinal cord injury, are targets for Schwann cell therapy. The collection of Schwann cells, however, causes new damage to other peripheral nerve segments. Furthermore, the doubling time of Schwann cells is not very fast, and thus adequate amounts of Schwann cells for clinical use cannot be collected within a reasonable amount of time. Mesenchymal stem cells, which are highly proliferative, are easily accessible from various types of mesenchymal tissues, such as the bone marrow, umbilical cord and fat tissue. Because

these cells have the ability to cross oligolineage boundaries between mesodermal to ectodermal lineages, they are capable of differentiating into Schwann cells with step-by-step cytokine stimulation. In this review, we summarize the properties of mesenchymal stem cell-derived Schwann cells, which are comparable to authentic Schwann cells, and discuss future perspectives.

© 2015 S. Karger AG, Basel

Abbreviations used in this paper

ADSCs	adipose-derived stem cells
ADSC-Schwann cells	ADSC-derived Schwann cells
bFGF	basic fibroblast growth factor
BMSCs	bone marrow-derived MSCs
BMSC-Schwann cells	BMSC-derived Schwann cells
CNS	central nervous system
GFAP	glial fibrillary acidic protein
MSCs	mesenchymal stem cells
P0	protein 0
p75	low-affinity nerve growth factor receptor
PDGF	platelet-derived growth factor
PNS	peripheral nervous system
UC-MSCs	umbilical cord-derived MSCs
UC-Schwann cells	UC-MSC-derived Schwann cells

KARGER

© 2015 S. Karger AG, Basel
1422–6405/15/2001–0031\$39.50/0

E-Mail karger@karger.com
www.karger.com/cto

Mari Dezawa
Department of Stem Cell Biology and Histology
Tohoku University Graduate School of Medicine
2-1 Seiryō-machi, Aoba-ku, Sendai 980-8575 (Japan)
E-Mail mdezawa@med.tohoku.ac.jp

Introduction

Schwann cells are peripheral glia that form myelin, providing a favorable microenvironment for the repair of damaged nerve axons in the peripheral nervous system (PNS) [Martini, 1994; Hall, 2001; Bosse, 2012; Kidd et al., 2013; Kim et al., 2013]. Although nerve axons of the PNS are able to regenerate after injury, such regeneration does not generally occur in the central nervous system (CNS) [David and Aguayo, 1985]. In principle, however, CNS neurons also have the ability to regenerate in a proper microenvironment [So and Aguayo, 1985; Dezawa and Adachi-Usami, 2000]. The major differentiating factor between the regenerative capacity of the PNS and CNS is the type of glial cell involved [Dezawa and Adachi-Usami, 2000]. Although peripheral myelin and myelinating Schwann cells are not originally supportive of axonal regeneration, and rather inhibit axonal regeneration, the rapid removal of myelin debris by Schwann cells as well as by resident endoneurial macrophages and hematogenous monocytes/macrophages is the initial step toward PNS regeneration [Bruck, 1997; Monk et al., 2007]. Another preconditioning factor that enables regeneration in the PNS is the change of myelinated Schwann cells to a dedifferentiated Schwann cell state; in contrast to myelinating Schwann cells, dedifferentiated Schwann cells produce various kinds of trophic factors and cytokines, including neurotrophins, which provide regenerating axons with a molecular and cellular footfold as represented by cell adhesion molecules, an extracellular matrix and junctional channels [Dezawa and Adachi-Usami, 2000]. Together, these elements create a supportive milieu for regenerating axons, and eventually Schwann cells ensheath regenerated axons and reconstruct the myelin necessary for saltatory conduction, one of the most crucial functions of the PNS.

In contrast to Schwann cells, oligodendrocytes and astrocytes, which are the major glial cells in the CNS, strongly inhibit axonal regrowth. The oligodendrocyte surface contains inhibitory molecules for axonal regrowth, such as Nogo, oligodendrocyte-myelin glycoprotein and myelin-associated glycoprotein [Zorner and Schwab, 2010]. After injury, the proliferation of astrocytes is activated, and their cellular processes are extended to form glial scars, which physically and chemically obstruct axonal regeneration [Buffo et al., 2008; Llorens et al., 2011].

Schwann cells are deeply involved in PNS regeneration, but their ability to elicit nerve regeneration is not

confined to the PNS. Transplanted Schwann cells can also elicit nerve regeneration in the CNS. Particularly, in the spinal cord, transplanted Schwann cells alter the inhibitory glial environment of the CNS and elicit axonal regeneration [David and Aguayo, 1985; Bunge, 1994]. Therefore, these cells are considered a highly suitable cell type for inducing axonal regeneration in both the PNS and CNS.

Although Schwann cell transplantation is generally effective for neural regeneration, the cells must be collected from the PNS, creating a paradox in Schwann cell-based therapy. The isolation of Schwann cells causes new damage to other peripheral nerve segments, and thus undesirable iatrogenic injury to the donor PNS. Furthermore, obtaining a clinically sufficient number of Schwann cells within a reasonable time period is difficult due to their slow proliferation. Therefore, a method to induce easily accessible and highly proliferative cells to differentiate into cells with functional Schwann cell properties is highly desirable.

Since the first report in 1999 demonstrating the multipotency of mesenchymal stem cells (MSCs) of the bone marrow that transdifferentiate into osteocytes, chondrocytes and adipocytes, MSCs have been considered a major stem cell source for generating Schwann cells [Pittenger et al., 1999]. MSCs are easily accessible from various types of mesenchymal tissues and are highly proliferative so that an adequate number of cells can be obtained within a reasonable amount time, making their clinical application highly feasible. In this review we discuss recent reports that cells almost equivalent to authentic Schwann cells can be induced from several types of MSCs, and discuss their potential application for treating PNS as well as CNS damage.

Schwann Cells Generated from MSCs Function like Authentic Schwann Cells

MSCs are a current hot topic in regenerative medicine because they are easily obtained from patient- or donor-derived mesenchymal tissues, such as bone marrow, umbilical cord and adipose tissue, without posing ethical problems related to the use of fertilized eggs or embryos. MSCs belong to the mesodermal lineage, but are able to cross oligolineage boundaries from mesodermal to ectodermal/endodermal lineages, which were previously thought to be uncrossable [Pittenger et al., 1999]. These attractive features have stimulated MSC research. To date, various cell types that are of the same

mesodermal lineage (e.g. bone, adipocytes, cartilage and muscle cells) as well as cell types that are endodermal (e.g. hepatocytes and airway epithelial cells) and ectodermal lineage cells (e.g. neuronal cells) have been induced from MSCs, mostly by cytokine stimulation and/or gene introduction [Makino et al., 1999; Pittenger et al., 1999; Spees et al., 2003; Dezawa et al., 2004; Dezawa et al., 2005; Oyagi et al., 2006]. Furthermore, several studies have indicated that some adult bone marrow-derived MSCs (BMSCs) and adipose-derived stem cells (ADSCs) are derived from the neural crest, an ectodermal lineage, which might provide an explanation for the ability of MSCs to generate Schwann cells [Billon et al., 2007; Takashima et al., 2007; Nagoshi et al., 2008; Sowa et al., 2013]. These findings indicate that Schwann cells, which belong to the ectodermal lineage, could also be induced from MSCs.

Schwann Cell Induction from Rodent BMSCs

The first successful induction of functional Schwann cells from MSCs was reported by Dezawa et al. [2001] using rat BMSCs. In their report, step-by-step stimulation of BMSCs plated at a certain cell density ($2.5\sim 3.0 \times 10^3$ cells/cm²) with 1 mM β -mercaptoethanol for 1 day, followed by incubation with 35 ng/ml of all-trans-retinoic acid for 3 days, and then with a mixture of 5 μ M forskolin (which upregulates intracellular cAMP), 10 ng/ml basic fibroblast growth factor (bFGF), 5 ng/ml platelet-derived growth factor (PDGF) and 200 ng/ml neuregulin-1 (isoforms include type I NRG1, also called heregulin, type II NRG1, or glial growth factor-2) for 4–5 days successfully induced BMSCs to differentiate into a Schwann cell phenotype. BMSC-derived Schwann cells (BMSC-Schwann cells) had a Schwann cell morphology and expressed the Schwann cell markers protein zero (P0), low-affinity nerve growth factor receptor (p75), glial fibrillary acidic protein (GFAP), S-100 and O4. The induction efficiency was calculated to be as high as ~97% based on p75 expression [Dezawa et al., 2001] (fig. 1a–h).

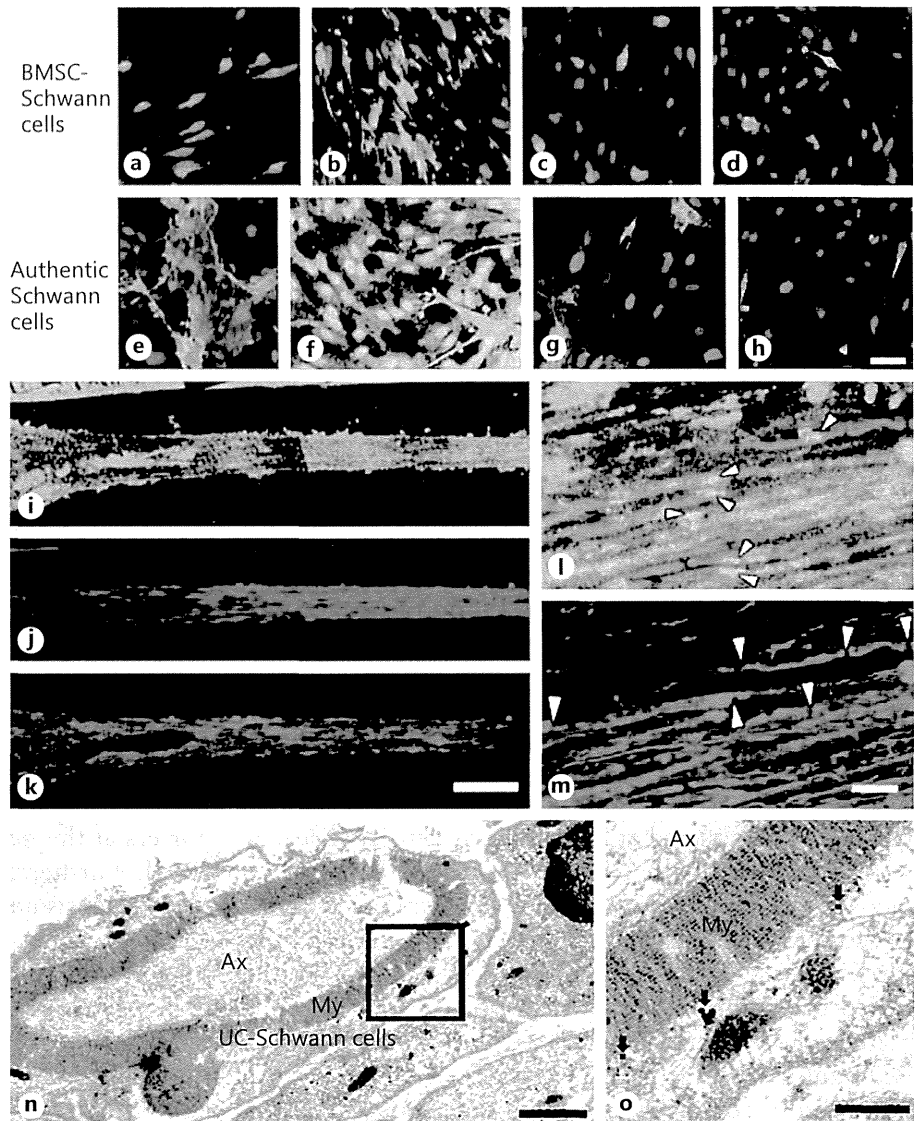
An important function of authentic Schwann cells in PNS regeneration is their ability to elicit axonal regeneration and enable saltatory conduction by remyelination. The latter is of particular interest because even if axons could reach the target, neural function in the true sense would not be actualized without remyelination. When rat BMSC-Schwann cells were transplanted into the gap between the proximal and distal segments of

transected rat sciatic nerve using an artificial graft (a transpermeable tube filled with a mixture of BMSC-Schwann cells and Matrigel), they successfully elicited nerve regeneration from the proximal segment, supported their regrowth within the tube to deliver them to the distal PNS segment and reconstructed myelin within 3 weeks after transplantation [Dezawa et al., 2001] (fig. 1i–n).

In addition to the short-term evaluation, functional recovery and PNS tissue reconstruction were also confirmed over a longer period of observation, such as 6 months after transplantation of rat BMSC-Schwann cells into the gap of transected rat sciatic nerve [Mimura et al., 2004]. The 12-mm-long gap was consistently connected by transplantation of BMSC-Schwann cells, and a large number of myelinated axons was observed at the central portion of the connected parenchyma. Because the majority of myelin in the connected parenchyma expressed green fluorescent protein that was introduced into BMSC-Schwann cells prior to transplantation, BMSC-Schwann cells were considered to be directly involved in remyelination in the regenerated tissue. Regenerated axons were further confirmed to reach the target muscle and express acetylcholine transporters at the neuromuscular junction [Mimura et al., 2004]. Furthermore, significant recovery in walking track analysis and high mean motor nerve conduction velocity were both confirmed. These findings together suggest that BMSC-Schwann cells are able to support PNS regeneration, contribute to functional recovery by remyelination, and could be integrated into the tissue for up to 6 months [Mimura et al., 2004]. After the injury, the Schwann cells of the host might be activated, proliferate, migrate through the artificial graft, promote the transected axons to regrow and myelinate the axons. Although this process might be slow and inefficient, whether or not the transplanted cells promote this process, resulting in functional recovery, is still unknown.

This induction method was independently reproduced by several groups. In coculture with dorsal root ganglion neurons, BMSC-Schwann cells substantially supported neurite outgrowth [Mahay et al., 2008; Brohlin et al., 2009; Wang et al., 2011]. When BMSC-Schwann cells were transferred into artificial grafts and transplanted into the transected gap made in peripheral nerves, they sustained axonal regrowth and reconstructed myelin, leading to functional recovery in nerve conduction velocity, walking track analysis, average myelin area and myelination of regenerated axons [Wang et al., 2011].

Fig. 1. Rat BMSC- and human umbilical cord-derived Schwann cells. Both BMSC-Schwann cells (**a–d**) and authentic Schwann cells (**e–h**) collected from rat dorsal root ganglion expressed p75 (**a, e**), S-100 (**b, f**), GFAP (**c, g**) and O4 (**d, h**). When rat GFP-labeled BMSC-SCs were mixed with Matrigel, filled into an artificial tube and transplanted to the gap of transected rat sciatic nerve, nerve fibers (GAP-43+ nerve fibers; **j**) regenerated with support of BMSC-Schwann cells (GFP-positive BMSC-Schwann cells; **i**) and were myelinated by those BMSC-Schwann cells (myelin-associated glycoprotein; MAG; **k**). I MAG-positive (blue) myelin composed of GFP-BMSC-Schwann cells could be recognized. **m** Merged image of anti-neurofilament positive axons (red) and MAG. **n** Immunoelectron micrographs of a graft from the human umbilical cord-derived Schwann cell (GFP-labeled) transplanted group 3 weeks after transplantation in the rat sciatic nerve. Axons (Ax) are myelinated (My) by cells with gold particle- (anti-green fluorescent protein) labeled cytoplasm (arrows). The rectangle is shown at a higher magnification (**o**) and the lamellar structure of the myelin is evident. Scale bars: 50 μm (**a–h, l, m**), 500 μm (**i–k**), 1 μm (**n**), 250 nm (**o**). Pictures are reproduced from Dezawa et al. [2001] and Matsuse et al. [2010].



Schwann Cell Induction from Human BMSCs

As well as rodent BMSCs, human BMSCs also demonstrated that they can be induced into BMSC-Schwann cells that function as authentic Schwann cells by the same induction protocol; they expressed the Schwann cell markers S-100, P0, P75, O4 and GFAP, and cell adhesion molecules L1 after induction. Under the control of immunosuppressants, human BMSC-Schwann cells transplanted into the gap of rat sciatic nerve supported rat axonal regeneration and reconstructed the myelin sheath, leading to the recovery of sciatic nerve function as measured by walking track analysis [Shimizu et al., 2007]. It is noteworthy that human BMSCs can gener-

ate functional Schwann cells and that those human BMSC-Schwann cells can support PNS regeneration *in vivo*.

Preclinical Study of BMSC-Schwann Cells in Monkeys

Preclinical studies using cynomolgus monkeys demonstrated that autologous transplantation of BMSC-Schwann cells is effective and safe for regeneration and functional recovery of the PNS [Wakao et al., 2010]. Like rodent and human BMSCs, monkey BMSCs could also differentiate into Schwann cell types that express p75, GFAP, P0 and O4 at very high ratios (~99%), and they

also expressed Krox20 and myelin basic protein at the mRNA level. Those autologous BMSC-Schwann cells were transplanted into a 20-mm median nerve gap using an artificial graft and followed for up to 1 year. No abnormalities in the general conditions were observed over the entire follow-up period. A significant recovery in function occurred in compound muscle action potentials and distal velocity, and a higher number of regenerated axons were counted in the artificial graft. The safety of BMSC-Schwann cells was validated using multiple methods. For example, ki-67 immunostaining revealed no sign of massive cell proliferation in the artificial graft. Tumor markers in blood analysis also showed no sign of tumor formation after transplantation. In addition, ^{18}F -fluorodeoxyglucose-positron emission tomography demonstrated no abnormal accumulation of radioactivity except in regions with physiologic accumulation for up to 1 year, and thus confirmed the safety of this transplantation treatment [Wakao et al., 2010].

These results indicate that the practical advantages of BMSCs will make this system applicable for neurotrauma or peripheral nerve disorder patients where acceleration of regeneration is expected to enhance functional recovery.

Other MSCs as a Source for Generating Schwann Cells

With or without minor modifications in the content of a cytokine cocktail, subsequent reports conducted by independent groups confirmed successful Schwann cell induction from other kinds of MSCs, such as ADSCs and umbilical cord-derived MSCs (UC-MSCs). While BMSCs, ADSCs and UC-MSCs are all categorized as MSCs, their marker expression patterns are not identical. For example, CD10, CD13, CD29, CD44, CD29, CD73, CD90, CD105 and SSEA-4 are commonly expressed in these three types of MSCs, but ESG1, LIFr, SCF and Tra-1-60 are only expressed in UC-MSCs and CD9, CD34, CD55 and CD59 in ADSCs [Kuroda and Dezawa, 2014]. Nevertheless, the originally reported Schwann cell induction protocol seems to be generally applicable to MSCs.

UC-MSCs

UC-MSCs are advantageous as a potential source for cell-based therapies because of their easy accessibility from umbilical cord banks and the few ethical problems regarding their use. Cell collection is not an invasive procedure for donors or patients. In addition, UC-MSCs are proliferative cells, meaning they can be collected at a clinical scale. UC-MSCs also have the potential to differenti-

ate into a wide variety of cell types [Fu et al., 2004; Conconi et al., 2006; Wu et al., 2007]. For example, neural cells including neurons, oligodendrocytes and astrocytes [Mitchell et al., 2003] and even endodermal cell types such as hepatocytes and pancreatic β -cells can be differentiated from UC-MSCs using induction systems [Anzalone et al., 2010, 2011]. Along with BMSCs, UC-MSCs are considered one of the most practical sources for PNS regeneration.

With regard to UC-MSCs, several independent groups reported the induction of functional Schwann cells from human UC-MSCs. Matsuse et al. [2010] demonstrated that the method used for BMSCs, i.e. β -mercaptoethanol, retinoic acid and a mixture of bFGF, PDGF and the heregulin together with forskolin successfully induced the differentiation of Schwann cells from human UC-MSCs (UC-Schwann cells) with very high efficiency ($\sim 97\%$), and that UC-Schwann cell function is comparable to that of authentic human Schwann cells when they are transplanted into a PNS-transected gap [Matsuse et al., 2010]. Human UC-Schwann cells transplanted into rat transected sciatic nerve under the control of immunosuppressants could maintain their differentiated phenotype even *in vivo* after transplantation, elicit axonal regeneration from the proximal segment of transected sciatic nerve, myelinate axons and construct PNS tissue. UC-Schwann cells that were prelabeled with green fluorescent protein expressed myelin-associated glycoprotein, PMP22 and periaxin (a marker of peripheral myelin), and formed myelin. The formation of myelin by UC-Schwann cells was also confirmed by immunoelectron microscopy (fig. 1m–o). The most impressive point is the sciatic function index in walking track analysis of UC-Schwann cell-transplanted rats at 3 weeks: the score of the UC-Schwann cell-transplanted animals was almost identical to those transplanted with authentic human Schwann cells, suggesting that UC-Schwann cells are functionally equivalent to authentic Schwann cells [Matsuse et al., 2010].

Other groups demonstrated that UC-Schwann cells differentiated by the same method produced neurotrophic factors such as NFG and BDNF [Jiang et al., 2010; Peng et al., 2011; Xu et al., 2011]. Together, these findings indicated that UC-Schwann cells are a viable alternative to authentic Schwann cells and may be applied to PNS regenerative therapy.

ADSCs

The properties of ADSCs are similar to those of BMSCs, and ADSCs are also capable of differentiating into various kinds of cells [Gimble and Guilak, 2003]. As humans have abundant sources for ADSCs, as represented