

# Walk Again 2015 in 札幌

## 次世代の脊髄損傷療法

2015年9月5日(日)

主催:NPO法人日本せきずい基金

於:北海道大学医学部学友会館フラテホール

### プログラム

- 12:00 開場
- 12:50 来賓あいさつ
- 13:00 報告① 中村 雅也(慶應義塾大学教授/整形外科)  
「肝細胞増殖因子(HGF)による急性期脊損治療」
- 13:30 報告② 須田 浩太(北海道中央労災病院せき損センター副院長)  
「HGFによる脊損急性期患者への臨床試験  
～北海道唯一の脊損センターからの報告」
- 14:00 報告③ 村上 正晃(北海道大学教授/分子神経免疫学)  
「神経シグナルによる炎症制御」
- 14:30 報告④ 岡野 栄之(慶應義塾大学教授/生理学)  
「iPS細胞による中枢神経系の再生戦略」
- 15:00 休憩(20分間)
- 15:20 パネルディスカッション「慢性期の治療研究を中心に」  
中村雅也、須田浩太、村上正晃、岡野栄之、  
大濱眞(日本せきずい基金理事長)
- 16:30 終了

# 肝細胞増殖因子による急性期脊損治療



## 慶應義塾大学医学部 教授（整形外科教室） 中村 雅也

本講演では、これまで我々が取り組んできた急性期脊髄損傷に対する肝細胞増殖因子（HGF）の基礎研究を紹介し、現在おこなっている治験の進捗状況にも言及したい。

HGFは成熟肝細胞の増殖因子として発見され、その受容体であるc-Metも続いて同定された。その後の研究で肝臓をはじめとするさまざまな実質臓器の障害時に内在性修復因子として重要な役割を果たすことが明らかになった。そこで私たちは、まずラット脊髄損傷に対するHGFの治療効果を検討した。その結果、対照群と比較してHGF治療群において損傷部空洞形成の縮小、残存髄鞘面積の増加、脊髄前角部運動ニューロンの増加、新生血管の増加、さらに再生軸索の増加を認めた。これらの作用は急性期に損傷範囲を縮小することで軸索再生のより良い足場を提供し、その後の軸索再生を促進したものと考えられる。これらの複合的な作用により、有意に良好な運動機能の回復が得られた。

次に前臨床研究として、サル脊髄損傷に対するHGFの有効性と安全性を検討した。独自に開発したマーモセット頸髄圧挫損傷モデルを作製し、損傷直後から4週後までHGF蛋白をくも膜下腔に持続投与した。その結果、HGF治療群で有意に四肢運動機能が回復し、組織学的検討でもHGF治療群で、有意に損傷部空洞面積は縮小し、残存髄鞘面積は増加していた。また、観察期間中に痛覚過敏や異常行動、腫瘍形成も認めなかったことから、霊長類におけるHGF髄腔内投与の安全性と有効性を確認することができた。

これらの研究と同時進行で、HGFの髄腔内投与後の薬理動態試験、安全性試験も行い、2013（平成25）年より東北大学医学部神経内科で、筋萎縮性側索硬化症に対するHGFの第I相治験が開始した。この結果を踏まえて、急性期脊髄損傷に対するHGFの治験に関する医薬品医療機器総合機構との対面助言も終了し、2014（平成26）年7月より国内の脊髄損傷センターである2病院の協力のもとで第I/IIa相治験を開始した。

### ●略歴

1987年：慶應義塾大学医学部卒業。1998年：米国ジョージタウン大学客員研究員。2000年：慶應義塾大学医学部助手/整形外科。2004年：慶應義塾大学医学部専任講師/整形外科。2007年：京都大学再生医科学研究所非常勤講師兼務。2012年：慶應義塾大学医学部准教授/整形外科。2015年：慶應義塾大学医学部教授/整形外科、現在に至る。

### ●主な専門分野

脊椎・脊髄外科、脊髄再生、iPS細胞、神経幹細胞、神経栄養因子、Neuroimaging

### ●主な学会活動歴

日本整形外科学会（代議員・移植再生委員会委員長）、日本再生医療学会（評議員）、日本脊髄障害医学会（幹事・脊髄再生医療委員会委員長）、日本脊椎脊髄病学会（評議員）、日本運動器疼痛学会（理事）、東日本整形外科災害外科学会（評議員）、日本運動器移植・再生医学研究会（幹事）など

### ●受賞歴

1996年：慶應義塾大学医学部三四会・奨励賞。2006年：日本整形外科学会・学会奨励賞、慶應義塾大学医学部三四会・北島賞。2014年：第1回日本再生医療学会・学会賞、Journal of Orthopaedic Science, Best paper award 2013、第51回ベルツ賞（1等賞）。2004～2008年：Cervical spine research society Basic science research awardを4回受賞

### ●主なプロジェクト

2003年度：再生医療実現化プロジェクト第1期。2008年度：再生医療実現化プロジェクト第2期、先端医療開発特区/再生医療。2010年度：戦略的創造研究推進事業JST-CIRM国際共同研究（代表）。2011年度：再生医療実現化プロジェクト前臨床研究加速プログラム（代表）、研究成果展開事業研究成果最適展開支援プログラムA-STEP、実用化挑戦タイプ/創薬開発（代表）、再生医療の実現化プロジェクト/再生医療の実現化ハイウェイ、生命倫理等の課題の解決に関する研究/課題D。2013年度：再生医療実現ネットワークプロジェクト拠点A。2014年度、厚生労働科学研究費/難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業など

# HGFによる脊損急性期患者への臨床試験 ～北海道唯一の脊損センターからの報告



北海道中央労災せき損センター 副院長  
北海道大学医学部整形外科 客員准教授  
**須田 浩太**

当センターは「超急性期から社会復帰まで」包括的に治療をおこなう脊損専門施設です。このような脊損センターは全国に2つしかなく、もちろん北海道で唯一です。60年の歴史と3000例に及ぶ脊損患者の治療実績があります。急性期脊損患者の受け入れは年間100件で、道内の重症脊損患者の大半を治療しています。

脊損の超急性期治療は時間との勝負です。脊髄内損傷の広がりを防ぎ、後遺症を最小限に食い止めねばなりません。移送にはヘリコプターを活用し、当院到着後に検査・処置・手術が迅速におこなえるよう整備し、病院全体がチームとなって脊損治療を支えています。患者搬入から手術室入室まで最短で1時間を目指しており、これは世界最速と目されています。手術精度や治療成績も最高水準と自負しています。最善を尽くしてもなお脊髄損傷を完全に治すことは困難です。さらなる改善を目指して新たな治療法に夢と希望を抱いています。

HGF（肝細胞増殖因子）は生理活性蛋白質で、神経細胞に対して強力な保護・再生作用をもっています。脊髄損傷に対する治療効果は慶應義塾大学グループにより実証済みです。治験（第Ⅰ/Ⅱ相試験）が国内2施設で開始されました。その施設の一つとして、現状を紹介します。

## ●略歴

1991年:北海道大学医学部卒業、医学部整形外科入局。1992年:釧路労災病院。1993年:北海道大学医学部附属病院。1995年:斗南病院。1996年:俱知安厚生病院。1997年:北海道大学大学院卒業、医学博士。美唄労災病院。1998年:北海道大学医学部附属病院。2002年:美唄労災病院整形外科副部長。2003年:美唄労災病院整形外科部長、同リハビリ科部長。2007年:美唄労災病院勤労者腰痛・脊損センターセンター長（2008年に「北海道中央労災病院せき損センター」と名称変更）。2010年:北海道中央労災病院せき損センター副院長、現在に至る。

## ●所属学会

Cervical Spine Research Society(Corresponding Member)、Cervical Spine Research Society-Asia Pacific Section (Active Member)、日本整形外科学会、日本脊椎脊髄病学会(評議員)、日本脊髄障害医学会(評議員)、北海道整形災害外科学会(評議員)、北海道脊椎疾患研究会(監事・評議員)、北海道骨粗鬆症研究会(評議員)、北海道整形外傷研究会(評議員)、日本インストゥルメンテーション学会(評議員)、日本職業災害医学会(評議員)、日本リハビリテーション学会、東日本臨床整形外科学会、中部日本整形外科災害外科学会、西日本脊椎研究会

## ●資格

日本整形外科学会専門医、日本整形外科学会脊椎外科認定医、日本脊椎脊髄病学会脊椎脊髄外科指導医

## ●受賞歴

ベストドクターズ インジャパン2014-2015、日本インストゥルメンテーション学会賞、北海道整形災害外科学会学術奨励賞、北海道大学医学部整形外科同門会学術奨励賞、Cervical Spine Research Society European Section /Mario Boni Award

# 神経シグナルによる炎症制御



北海道大学遺伝子病制御研究所 大学院医学研究科 教授  
(分子神経免疫学分野)

村上 正晃

私たちは、“特異的な神経経路の活性化”（神経シグナル）が特定の血管でケモカイン遊走因子を産生して免疫細胞を呼び寄せ血液脳関門に免疫細胞の侵入口をつくること、もし、血液中に中枢神経系の抗原を認識する自己反応性T細胞が存在すれば、この部位に集まって、中枢神経系に侵入し炎症性疾患を誘導することを明らかにしてきた。定常状態の侵入口は、第5腰髄の背側血管にあり、その形成は重力刺激に伴うヒラメ筋の活性化に端を発する神経シグナルが重要であった。また、痛みで端を発する別の神経シグナルは別の部位の血管に侵入口を形成して中枢神経炎症の再発を誘導した。さらに、人為的な神経シグナルの導入でも特定血管に侵入口を形成できた。具体的には、大腿四頭筋由来の神経シグナルは第3腰髄の背側血管に、上腕三頭筋由来の神経シグナルは第5頸髄付近の背側血管に侵入口をつくった。

私たちは、血管への侵入口形成の分子メカニズムとして、血管内皮細胞でのケモカイン遊走因子の過剰産生機構“炎症回路”を見出した。血管内皮細胞で2つの転写因子、NFκBとSTAT3が同時に活性化すれば大過剰量のケモカイン遊走因子などが局所的に産生され、多くの免疫細胞が集積して、局所の恒常性を乱して、病気、病態を誘導する。神経シグナルは、ノルアドレナリンやATPなどの神経伝達物質を特定血管の局所にて産生して、炎症回路を過剰に活性化し免疫細胞の侵入口を形成した。

私たちは、神経シグナルの活性化に伴う特定血管の免疫細胞侵入口の形成機構を“ゲートウェイ反射”と呼んで研究を続けている。過剰な炎症は組織障害を引き起こし、適度な炎症は組織の修復を誘導するので、人為的な神経シグナルによるゲートウェイ反射の活性化のオンとオフの制御が、脊髄を含む中枢神経系の病気、病態の人為的制御につながると考えて実験をおこなっている。

私たちは、神経シグナルの活性化に伴う特定血管の免疫細胞侵入口の形成機構を“ゲートウェイ反射”と呼んで研究を続けている。過剰な炎症は組織障害を引き起こし、適度な炎症は組織の修復を誘導するので、人為的な神経シグナルによるゲートウェイ反射の活性化のオンとオフの制御が、脊髄を含む中枢神経系の病気、病態の人為的制御につながると考えて実験をおこなっている。

## ●関連論文

- 1) Arima, Y et al. A pain-mediated neural signal induces relapse in multiple sclerosis models. *eLife* 2015, in press.
- 2) Kamimura, D et al. KDEL receptor 1 regulates T-cell homeostasis via PP1 that is a key phosphatase for ISR. *Nat. Commun.* 6: Article number: 7474, 2015.
- 3) Harada, M et al. temporal Expression of Growth Factors Triggered by Epiregulin Regulates Inflammation Development. *J. Immunol.* 194:1039-46, 2015.
- 4) Atsumi, T et al. Inflammation amplifier, a new paradigm in cancer biology. *Cancer Research* 74: 8-14, 2014.
- 5) Murakami, M et al. Disease-Association Analysis of an Inflammation-Related Feedback Loop. *Cell Reports*. 3: 946-959, 2013.
- 6) Arima, Y et al. Regional Neural Activation Defines a Gateway for Autoreactive T Cells to Cross the Blood-Brain Barrier. *Cell*. 148: 447-457, 2012. ⇒ 資料4 (p.14~17) 参照
- 7) Lee, J et al. IL-6 Amplifier, NF-κB-Triggered Positive Feedback for IL-6 Signaling, in Grafts Is Involved in Allogeneic Rejection Responses. *J Immunol.* 189: 1928-1936, 2012.
- 8) Murakami, M et al. Local microbleeding facilitates IL-6- and IL-17-dependent arthritis in the absence of tissue antigen recognition by activated T cells. *J. Exp. Med.* 208: 103-114, 2011.
- 9) Sawa, Y et al. Hepatic Interleukin-7 Expression Regulates T Cell Responses. *Immunity* 30: 447-457, 2009.
- 10) Ogura, H et al. Interleukin-17 Promotes Autoimmunity by Triggering a Positive-Feedback Loop via Interleukin-6 Induction. *Immunity*, 29: 628-636, 2008.

## ●略歴

1989年:北海道大学獣医学部卒業。1994年:大阪大学大学院医学研究科博士課程修了。1994年:北海道大学免疫科学研究所助手。2000年:日本学術振興会 海外特別研究員。2002年:コロラド大学准教授(客員)。2003年:大阪大学大学院医学系研究科助教。2007年:大阪大学大学院生命機能研究科准教授。2014年:北海道大学遺伝子病制御研究所および大学院医学研究科教授、現在に至る

# iPS細胞による中枢神経系の再生戦略



慶應義塾大学医学部長 教授（生理学教室）

岡野 栄之

2012年にノーベル医学・生理学賞を受賞された京都大学の山中伸弥教授らの研究成果により、皮膚の繊維芽細胞などの体細胞に少数の転写因子の遺伝子を導入するだけで、体を構成するあらゆる細胞になる能力（＝多能性）をもつ人工多能性幹細胞（＝iPS細胞）を作成することが可能となり、細胞移植治療や疾患研究において大きな期待を集めています。ところが、実際の臨床応用には、腫瘍形成の問題等の安全性の問題をクリアする必要があります。私たちは、慶應義塾大学医学部整形外科学教室との共同研究で、マウスおよびヒトiPS細胞由来の神経前駆細胞をマウスおよびサルの脊髄損傷モデルへ移植することにより機能回復を誘導することに成功しました。今後これらの成果をどのように臨床の

現場へ応用するか、その道筋をお話いたします。

一方、iPS細胞技術のもう一つの応用例として疾患モデル研究が挙げられますが、私たちが取り組んでいるRett症候群<sup>1)</sup>、Pelizaeus-Merzbacher病<sup>2)</sup>、Prader-Willi症候群などの小児神経疾患、アルツハイマー病<sup>3)</sup>、パーキンソン病<sup>4)</sup>、ALS、球脊髄性筋萎縮症<sup>5)</sup>、統合失調症<sup>6)</sup>などの精神・神経疾患を対象とした疾患のモデル細胞作出による病態解明や創薬の研究<sup>7)</sup>に関する、最近の研究成果や世界的動向についてわかりやすく紹介いたします。

- 1) Andoh-Noda et al., *Mol Brain*, 2015.
- 2) Numasawa-Kuroiwa et al., *Hum Mol Genet*, 2014.
- 3) Yagi et al., *Hum Mol Genet*, 2011.
- 4) Imaizumi et al., *Molecular Brain*, 2012; Ohta et al., *Human Mol Genet*, 2015
- 5) Nihei et al., *J. Biol. Chem*, 2013.
- 6) Bundo et al., *Neuron*, 2014.
- 7) Ito et al., *Annals of Neurol.*, 2012 ; Okano and Yamanaka, *Mol Brain*, 2014.

## ●略歴

1983年：慶應義塾大学医学部卒業、同医学部助手/生理学。1985年：大阪大学蛋白質研究所助手。1989年：ジョンズ・ホプキンス大学医学部留学/生物化学。1991年：大阪大学蛋白質研究所助手。1992年：東京大学医科学研究所化学研究部助手。1994年：筑波大学基礎医学系教授/分子神経生物学。1997年：大阪大学医学部教授/神経機能解剖学研究所（1999年：同大学院医学系研究科教授）。2001年：慶應義塾大学医学部教授/生理学教室、現在に至る。2007年：慶應義塾大学大学院医学研究科委員長。2008年：オーストラリア・Queensland大学客員教授、現在に至る。2015年：慶應義塾大学医学部長、現在に至る

## ●主な研究領域

分子神経生物学、発生生物学、再生医学

## ●主なプロジェクト

2003年：21世紀型COEプログラム/幹細胞医学と免疫学の基礎-臨床一体型拠点(拠点リーダー)。2008年：グローバルCOEプログラム/幹細胞医学のための教育研究拠点(拠点リーダー)。2010年：内閣府・最先端研究開発支援プログラム(FIRSTプログラム)/心を生み出す神経基盤の遺伝学的解析の戦略的展開(中心研究者)。2013年：JST・再生医療実現拠点ネットワークプログラム(拠点A)/iPS細胞由来神経前駆細胞を用いた脊髄損傷・脳梗塞の再生医療(拠点長)。2014年：文部科学省・革新的技術による脳機能ネットワーク全容解明プロジェクト(代表研究者)

## ●受賞歴

1988年：慶應義塾大学医学部三四会・三四会賞。1995年：加藤淑裕記念事業団・加藤淑裕賞。1998年：慶應義塾大学医学部・北里賞。2001年：ブレインサイエンス振興財団・塚原伸晃賞。2004年：東京テクノフォーラム21・ゴールドメダル賞、イタリアCatania大学・Distinguished Scientists Award、日本医師会・日本医師会医学賞。2006年：文部科学大臣表彰・科学技術賞。2007年：Stem Cells誌・Lead Reviewer Award。2008年：井上科学振興財団・井上學術賞。2009年：紫綬褒章/神経科学。2011年：日本再生医療学会・Johnson & Johnson Innovation Award。2013年：GeneExpression Systems & Apasani Research Conference USA・Stem Cell Innovator Award。2014年：第51回ベルツ賞(1等賞)

# HGF(肝細胞増殖因子)について

(JSCF事務局まとめ)

## ■クリングルファーマ株式会社のHPより

<http://www.kringle-pharma.com/hgf.html>

### 2つの再生システム

生体のもつ再生・修復能は大きく2つのシステムによって支えられています。その一つは、骨髄の造血系で代表されるような自己増殖能と多分化能を備える幹細胞が一定の増殖後、それぞれの機能細胞に最終分化するシステムです。一方、もう一つは肝臓、腎臓、肺、消化管、膵臓、皮膚、血管系などを含む多くの組織や臓器でみられるように、すでに機能的な細胞に分化した細胞(例えば、肝細胞、尿細管上皮細胞、血管内皮細胞など)が、傷害に应答して速やかに増殖し、傷ついた組織や失われた組織が再生修復するシステムで、これはsimple duplicationシステムと呼ばれています。

再生医学というと直ちにES細胞や幹細胞の生物学と誤解されていますが、成体の多くの組織や臓器の再生・修復はsimple duplicationシステムに依存しています。したがってsimple duplicationシステムの仕組みを解明することは、とりわけ多くの臓器疾患の治癒にも直結することが期待されます。

### 再生・修復因子としてのHGF

高等動物における再生現象の中でも最もドラマチックなものとして古くから知られていたのが肝再生で

す。事実、生体肝移植によって移植された約400gの肝臓は1か月もすると約1kgに再生します。肝再生を促す液性因子の実体は長い間謎とされていましたが、その実体は、成熟肝細胞に対する増殖促進因子として中村ら(大阪大学)によって発見・単離・ク

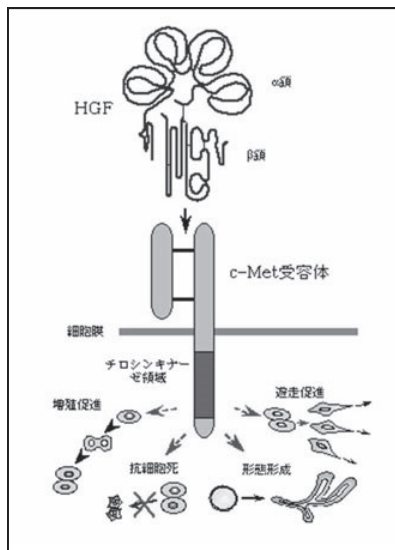


図1 HGFの生物活性

ローニングされたHGF(hepatocyte growth factor; 肝細胞増殖因子)です。HGFは分子量85kDaのタンパク質で、標的細胞に発現されているc-Met受容体を介して生物活性を発揮します(図1)。

HGFは肝細胞のみならずさまざまな細胞に対して、細胞増殖促進、細胞運動促進、抗アポトーシス(細胞死)、形態形成誘導、血管新生など組織・臓器の再生と保護を担う多才な生理活性を有していることがわかりました。肝臓の再生を例にすると、部分肝切除、肝炎、肝虚血などさまざまな急性傷害に伴い、傷害を受けた肝臓に加え遠隔の肺や腎臓など無傷の臓器においてもHGFの発現が高まり、これにより血中HGFレベルが上昇します。

このように傷害に応じて動員されるHGFが肝臓の保護や再生を担っています。事実、肝傷害を引き起こしたラットやマウスにHGFの活性を中和する抗体を投与すると、肝傷害の著しい拡大と肝再生不全に陥ります。同様の結果は他の臓器傷害でも認められており、HGFは肝臓、腎臓、肺、心・血管系、神経系などを含むさまざまな組織・臓器の再生・保護を担う内因性因子であることが明らかにされています(図2)。

### 難治性疾患の再生・治癒

HGFは生体のもつ自然治癒力を支える実行分子といえます。しかしながら、組織・臓器の傷害や細菌・ウイルスの感染が急速かつ広範囲に及ぶことによって、組織傷害が自然治癒力を上回るレベルに到達すると重篤な急性疾患の発症に至ります。また、肝硬変や慢性腎不全(腎硬化症)に代表されるような慢性線維性疾患におきましては、再生因子として機能すべきHGFの発現低下を来しています。言い換えれば再生システムの不全(あるいは自然治癒力の低下)が慢性線維性疾患の発症・進展につながっています。従って、急性、慢性を問わず、HGFを外因的に補充し生体の修復能を高めることが、さまざまな疾患の発症阻止あるいは治療につながることを期待されます。これまでにさまざまな疾患モデル動物でなされてきたHGF投与の結果は、いずれも、HGFが著しい発症阻止あるいは治癒作用をもつことを示しています。それらの実験結果に基づいてHGFの臨床応用が期待される疾患を表にまとめました。劇症肝炎、心筋梗塞、急性腎不全、脳梗塞などの

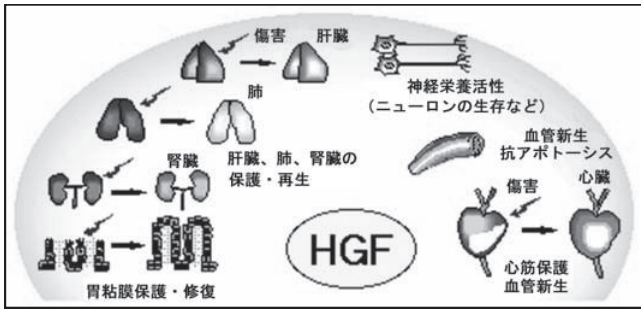


図2 HGFが再生・修復を担うさまざまな組織と臓器

急性臓器疾患の発症には、それぞれ肝細胞、心筋細胞、ニューロンなど組織の特異機能を担っている分化細胞のアポトーシスが関与することが明らかにされており、これら難治性急性疾患では細胞死の急激な増加をいかにくい止めるかが初期治療の決め手となります。劇症肝炎、心筋梗塞、急性腎不全、腎移植、急性肺傷害、脳梗塞を引き起こした実験動物に組換えHGFタンパク質を投与すると強力な抗細胞死作用や再生促進作用による発症阻止や臓器の治癒促進が認められま

肝疾患	急性肝炎、劇症肝炎、肝硬変、胆道閉鎖症、脂肪肝、肝移植
腎疾患	急性腎不全、慢性腎不全、腎移植、糖尿病性腎臓症
肺疾患	急性肺炎、肺線維症、肺移植
循環器系	血管障害(閉塞性動脈硬化症、血管再狭窄防止など)、心筋梗塞、拡張型心筋症
他の疾患	皮膚潰瘍、脳梗塞、筋萎縮性側索硬化症

表 HGFの臨床応用が期待される疾患

す。一方、とりわけ患者数も多くしかも不治の病としてとり残されているのが慢性線維性疾患です。HGFは肝硬変、慢性腎不全、肺線維症、心筋症など慢性線維性疾患に対し強力な治療効果を示しています。急性臓器疾患や慢性線維性疾患に対する HGFの治癒作用は、高次組織の再生や保護を担うHGFの多彩な生理活性によって発揮されるものであり、組織・臓器が異なってもHGFによる治癒作用のメカニズムは基本的に共通であると考えられます。

■報道 2014年6月、脊髄損傷急性期に対するHGFの第I/II相試験の開始がTV、新聞各紙で報じられました。以下、その一部を転載します。

毎日新聞(2014年6月17日朝刊) 慶大など 脊髄損傷に新治療 肝細胞増殖因子を注射

事故などで脊髄を損傷してから78時間以内に、神経を保護するたんぱく質を投与し、機能回復を目指す新薬の臨床試験(治験)を始めると岡野栄之・慶応大教授(再生医学)とベンチャー企業「クリングルファーマ」(大阪府)のチームが16日発表した。国内で年間約5000人の新規患者の約8割で症状の改善を期待できるといい、安全性を確かめる。

治験は月内に国内2カ所の病院で実施し、2016年10月まで続ける。対象は、重度の急性期患者48人。患者の同意を得て、2班に分けて神経細胞を保護する機能を持った「肝細胞増殖因子(HGF)」か疑似薬を腰から注射する。1週間ごとに計5回投与し、機能回復の効果を比較する。

脊髄損傷は外傷による損傷に加え、生き残った神経細胞も炎症で死滅し、運動機能や感覚がまひする。有効な治療薬はない。HGFは炎症を抑制したり、神経や血管の再生を促したりする効果がある。チームは、ラットやサルの間中モセットの実験では、正常の8割程度まで機能が回復する効果を確認した。

脊髄損傷の累積患者数は国内10万人以上。慶大の中村雅也准教授(整形外科)は「完全に神経が切れていない急性期患者の生活の質を改善する画期的な治療法になる」と話した。今後、慢性期の患者を対象に人工多能性幹細胞(iPS細胞)から作る神経幹細胞の移植も目指している。

HGFを使った治験では、東北大や慶大が、筋萎縮性側索硬化症(ALS)の患者で始めている。脊髄損傷では、札幌医科大が今年1月、患者から採取した幹細胞を培養し、神経を再生する治験を始めた。【千葉紀和】

読売新聞(2014年6月17日朝刊) 脊髄損傷 薬で治す 慶大 今月から治験開始

慶大の研究チームは16日、脊髄損傷を負った直後の患者を治療する薬の臨床試験を今月から始めると発表した。安全性と有効性が確認できれば、神経機能を再生させる世界初の脊髄損傷の治療薬となる。研究チームは5年以内の実用化を目指す。

脊髄損傷は、交通事故やスポーツで背骨の中樞神経が傷つき、手足が動かせなくなる病気。慶大の岡野栄之教授と中村雅也准教授らは、肝細胞の増殖にかかわるたんぱく質「HGF」に、神経を修復する特性があることに着目。HGFを製剤化した製薬会社「クリングルファーマ」(大阪府)と連携して治験を計画した。

頸椎を損傷して運動機能も感覚もほぼ失った48人を対象に、事故の3日後に、腰周辺にHGFを注射して、HGFを使わなかった場合と、神経機能の回復具合などを比較する。

HGFには、炎症による傷の広がりを抑え、神経が再びつながりやすくする働きがあると期待される。将来は年間約5000人の新規患者のうち、8割強がこの治療の対象になる可能性がある。脊髄を傷つけたサルの実験では、運動機能が2倍近く回復した。東北大は、HGFを使って、全身の筋肉が徐々に動かなくなる筋萎縮性側索硬化症(ALS)の治験が行われている。岡野教授らはiPS細胞(人工多能性幹細胞)を使って脊髄損傷を治療する臨床研究も計画している。

# iPS細胞を用いた脊髄再生医療の実現に向けて

中村雅也、岡野栄之、戸山芳昭

## はじめに

20世紀初頭の神経解剖学の巨星Ramon S Cajalも、晩年の著書の中で“Once development was ended, the fonts of growth and regeneration…, dried up irrevocably”と述べているように、成体哺乳類の中枢神経系は最も再生が困難な臓器の一つである<sup>1)</sup>。脊髄損傷とはその中枢神経である脊髄実質が外傷などを契機として、損傷部以下の知覚・運動・自律神経系の麻痺を呈する病態である。我が国では毎年約5000人の患者が新たに発生しており、総患者数は10万人以上に達しているにもかかわらず<sup>16)</sup>、いまだ有効な治療法は確立されていないのが現状である<sup>1) 13)</sup>。しかし、最近の神経科学、特に幹細胞生物学と再生医学研究の発展はCajalの通説を覆しつつある。本稿では、「iPS細胞を用いた脊髄損傷の再生医療の実現」に向けて行ってきた我々の研究を紹介し、今後の展望について概説する。

## 損傷脊髄に対する神経幹細胞移植

神経幹細胞(neural stem cell: NSC)は中枢神経系に存在する体性幹細胞であり、多分化能と自己複製能を併せ持った細胞であり、ニューロスフェア培養法により単一細胞に由来したニューロスフェアからニューロン、アストログリア、オリゴデンドロサイトへの分化が報告されている<sup>12)</sup>。また、NSCは多分化能を有した未分化なまま分裂することができ、この性質が自己複製能である。

まず、成体ラット頸髄圧挫損傷モデルを作製し、同種ラット胎仔脊髄由来NSCを移植した<sup>9)</sup>。移植細胞は良好に生着し、3系統に分化した。さらに、移植細胞由来ニューロンとホストニューロン間でのシナプス形成を免疫電顕で捉えることに成功した。前肢運動機能評価である餌取り試験でも、移植群で有意な運動機能の回復がみられた。本研究成果は、世界で初めて胎仔脊髄由来NSC移植の脊髄損傷への有効性を立証したものであり、その後の脊髄再生研究の礎となった。

しかし、齧歯類と霊長類では脊髄の解剖学的構造と機能は大きく異なるため、ヒトNSC移植の有効性を示

す前臨床研究として、サル脊髄損傷モデルを用いた検証が重要と考えた。そこで、コモンマーモセット(*Callithrix jacchus*)を用いて、損傷程度の異なる頸髄圧挫損傷モデルを世界に先駆けて開発し<sup>2)</sup>、このモデルを用いてヒト胎児脊髄組織由来NSCを損傷後9日に損傷中心部に移植した<sup>3)</sup>。移植細胞は損傷脊髄内で良好に生着し、3系統に分化していた。また、独自に開発した運動機能評価では、いずれの評価でも移植群で対照群より有意に良好な回復を認めた。以上の結果より、サル脊髄損傷に対するヒトNSC移植の有効性が明らかになり、臨床応用に向けた大きな一歩となった<sup>3)</sup>。

## 損傷脊髄に対するiPS細胞由来神経幹細胞移植

### 1) マウス脊髄損傷に対するマウスiPS細胞由来神経幹細胞移植

前述の通り、齧歯類さらに霊長類であるマーモセット脊髄損傷に対するヒト胎児由来NSC移植の有効性と安全性を報告したが、その臨床応用を阻む要因として、中絶胎児組織を使用するという倫理的問題があった。そのため、2006年に厚生労働省から出された“ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針”において胎児由来細胞とES細胞が対象外となり、臨床応用への道は事実上閉ざされてしまった。

このような膠着状態の突破口となったのが、山中教授らにより樹立されたマウスiPS細胞であった<sup>10) 14)</sup>。そこで我々は、論文発表直後からマウスiPS細胞の譲渡を受けNSCへの分化誘導を試みた。まず、再生医療における安全性と関連付けるために、体細胞の種類、導入遺伝子の組み合わせ(c-Mycの有無)、さらにはiPS細胞の選択方法が異なる様々なマウスiPS細胞(計36株)をNSCへ分化誘導し、分化能、分化抵抗性細胞の有無、さらに造腫瘍性の検討を行った<sup>5)</sup>。神経分化能に有意差はなかったが、未分化細胞の混入率はiPS細胞の由来となる体細胞の種類に大きく影響を受けていることが明らかになった。次に造腫瘍性については、奇形腫発生率とNSC中の未分化細胞の残存率に強い正の相関を認め、さらにiPS細胞の由来となる体細胞の種類と関連が深く、iPS細胞樹立におけるc-Myc使用の有無、細胞選抜工程の有無には関係がないことが明らか



となった。この研究はマウスiPS細胞を用いた解析であるが、ヒトiPS細胞の安全性に関しても、体細胞の由来が異なるiPS細胞の特性を吟味することの重要性を示すとともに、数多くのiPS細胞株の中から安全性に優れた株を評価、選抜する方法の重要性と方向性を明示するものと言える。

前述の造腫瘍性の評価により“安全な”iPS細胞と確認できた細胞株である38C2株から分化誘導されたNSC(38C2-NSC)を用いて、マウス脊髄損傷モデルへの移植実験を行った<sup>15)</sup>。移植細胞は移植後5週の時点で約20%が生着し、3系統へ分化しており、腫瘍形成を認めなかった。移植細胞は成熟オリゴデンドロサイトへ分化し、軸索の再髄鞘化に寄与していた。38C2-NSC移植群において移植部脊髄内の髄鞘面積は、対照群と比較して有意に増加していた。さらに、移植細胞由来の幼若アストロサイトの近傍には運動機能に重要なセロトニン作動性神経線維が多数存在しており、損傷尾側部のセロトニン作動性神経線維数の定量的評価でも、移植群では対照群よりも有意に増加していた。移植細胞由来幼若アストロサイトが軸索再生のガイドランスとして働いた可能性が考えられた。その結果、38C2-NSC移植群では対照群と比較して有意な後肢運動機能の回復がみられた。

## 2) 免疫不全マウス損傷脊髄へのヒトiPS細胞由来神経幹細胞移植

臨床応用に向けた次の一歩として、ヒトiPS細胞を用いた検討を行った。細胞源として成人顔面皮膚由来線維芽細胞にレトロウイルスベクターを用いて*Oct3/4*, *Sox2*, *Klf4*, *c-Myc*を導入して作製したiPS細胞株のうち、造腫瘍性評価で安全性が確認できた201B7細胞株を、マウスiPS細胞と同様の方法でNSCへ分化誘導した(201B7-NSC)。次に、免疫不全マウス損傷脊髄に201B7-NSCを移植し、有効性と安全性を評価した<sup>7)</sup>。移植細胞はマウス脊髄内で良好に生着し、3系統へ分化していた。約50%の移植細胞がニューロンへと分化しており、そのうちの約70%がGABA作動性ニューロンへと分化していた。また、免疫組織学的解析および電子顕微鏡による解析から、移植細胞由来ニューロンと宿主ニューロン間でシナプス形成を確認し、電気生理学的にも対照群では検出できなかったmotor evoked potentialの波形を、移植群では検出することができた。これらの結果は、ヒトiPS細胞由来ニューロンがマウス損傷脊髄内で介在ニューロンとして機能し、神経回路の再構築に寄与している可能性を

示唆している。また、移植細胞由来アストロサイトは種々の神経栄養因子を発現しており、これらの自己分泌、傍分泌作用による血管新生神経再生組織保護作用も認められた。後肢運動機能評価において、移植群で対照群より有意に良好な回復を認めた。さらに、移植後長期にわたる安全性を確認するために損傷後112日まで経過観察したが、移植群では良好な後肢運動機能が維持され、腫瘍形成も認めなかった<sup>7)</sup>。

## 3) サル損傷脊髄へのヒトiPS細胞由来神経幹細胞移植

前述の結果を踏まえて、ヒトiPS細胞を用いた脊髄再生医療の実現に向けた前臨床研究の最終段階として、マーモセット脊髄損傷に対するヒトiPS細胞由来NSC移植の有効性と安全性を検証した<sup>4)</sup>。マーモセット頸髄圧挫損傷モデルを作製し<sup>2)</sup>、損傷後2週に前述の安全性を確認できた201B7-NSCを損傷中心部に移植した。移植後は免疫抑制剤を連日投与した。

移植後12週の組織学的検討では、移植群において損傷中心部の空洞面積の減少、髄鞘面積の増加を認めた。移植細胞は損傷脊髄内で良好に生着・移動し、3系統へ分化しており、腫瘍形成を認めなかった。また、移植群では対照群より有意に良好な皮質脊髄路神経線維の再生を認め、四肢運動機能評価においても有意に良好な改善を認めた。in vitroの解析で、201B7-NSCが種々の神経栄養因子と血管新生因子を分泌することも明らかになった。これらの結果より、ヒトと同じ霊長類であるマーモセット脊髄損傷に対するヒトiPS細胞由来NSCの有効性と安全性を明らかにし、臨床応用に向けたproof of conceptを確立することができた。

## 4) ヒトiPS細胞由来神経幹細胞の腫瘍原性

マウスiPS細胞由来NSC移植の実験結果は、「安全な」iPS細胞株を用いると腫瘍原性はなく、長期にわたって脊髄損傷後の運動機能を回復させることができるとを示している。これはヒトiPS細胞株についても同様のことが言える。NOD/SCIDマウスの脊髄損傷モデルにおいて、「安全な」201B7-NSC移植により長期の運動機能回復に成功しているが<sup>7)</sup>、危険な253G1細胞株を用いて同じ実験を行うと造腫瘍性を認め、一度は改善した運動機能が腫瘍の増大に伴い再悪化することが判明した。そこで、201B7と253G1株iPS細胞とヒトES細胞の遺伝子発現を網羅的に比較検討した。253G1-iPS細胞の幾つかの遺伝子の発現パターンは、ヒトES細胞とはかけ離れており、その一方で、由来と

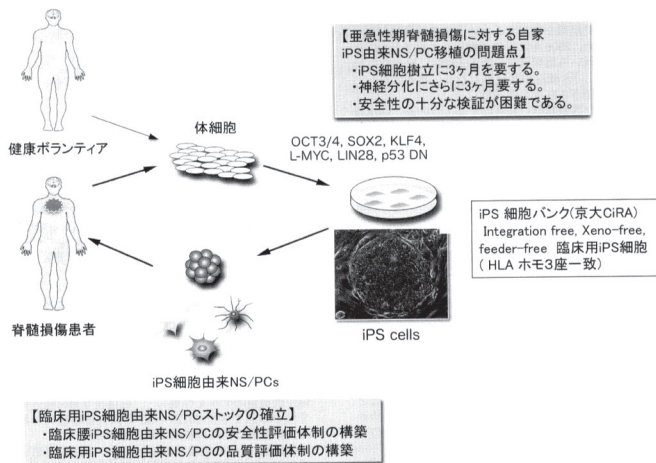


図1 亜急性期脊髄損傷に対するiPS細胞由来NSC移植の課題と対策

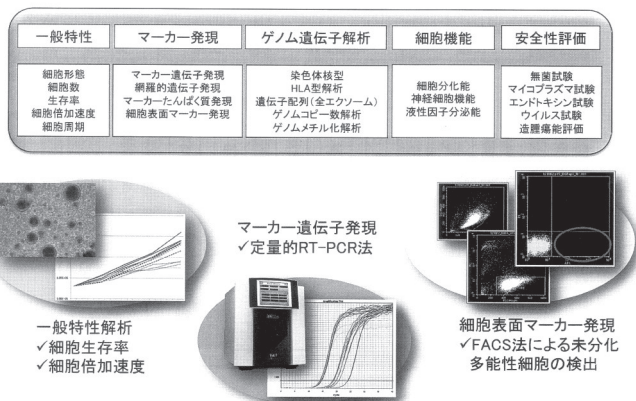


図2 iPS細胞由来NSCの品質評価体制の構築に向けた取り組み

なる皮膚線維芽細胞に近いパターンを示したことから、リプログラミングが不完全であることが判明した。マウスとヒトのiPS細胞由来NSCの腫瘍化メカニズムは、共通点も多いが異なる点も多々あることが明らかになってきた。マウスiPS細胞の場合は、分化抵抗性の未分化な多能性幹細胞の残存による奇形腫形成であったが、ヒトiPS細胞由来NSCの腫瘍化は分化誘導後にできたNSCの過剰な増殖を伴う腫瘍であることが判った。また、ゲノムの不安定性に関する解析の結果、253G1株のような不完全にリプログラミングされたiPS細胞株は神経分化誘導に伴い、ゲノムの不安定性を介して造腫瘍性を示すと考えている。またこのヒトiPS細胞由来NSCの腫瘍化は、レトロウイルスベクターを用いて作製したiPS細胞に特有な現象ではなく、エピゾーマルベクターにより作製したヒトiPS細胞でも造腫瘍性のリスクがあることが明らかとなった。これらの結果は、今後の臨床応用を考えると、完全にリプログラミングされた良質なiPS細胞株を選択することが必須であり、選択した遺伝子発現プロファイルにより、未分化状態で迅速・簡便に良質な細胞株を選別する方法の開発と未分化状態のみならず、分化誘導後のゲノム安定性を確認することが重要である。

## 今後の計画と展望

### 1) 亜急性期脊髄損傷に対する臨床研究に向けた取り組み

当初我々は、脊髄損傷患者自身の体細胞からiPS細胞を樹立し、NSCへと分化誘導した後に、自家移植を行う方針であった。しかし、現在の技術では樹立と分化誘導で約半年を要するため、細胞移植の至適時期である亜急性期(損傷後2~4週)を逃してしまうことになる。さらに、造腫瘍性を含む十分な安全性の検証や品質管理などを考慮し、iPS細胞バンクと連携した他家移植を想定している(図1)。

臨床研究開始に向けて、CiRAから原材料として受入れられる再生医療用iPS細胞ストックの品質適格性に関しては、細胞の形態、表面抗原、遺伝子発現、神経分化能(残存多能性細胞が規定値以下)、変異解析(次世代シーケンサーによる全エクソーム解析)、コピー数多型、プラスミドの残存、核型、(微生物学的)汚染検査を行う。それに加えて、NSC製造用原材料としての品質適格性項目として、これまでの研究で明らかにしたiPS細胞由来NSCの腫瘍原性と関連性の高い遺伝子の発現を未分化iPS細胞で解析し、これらの遺伝子のリプログラミング状態が不完全なiPS細胞株を原材料から除外する品質管理体制を構築する(図2)。

次に、再生医療用iPS細胞ストックからのNSC製造は、第1工程で再生医療用iPS細胞ストックから神経系細胞への分化誘導を行い(神経分化誘導工程)、第2工程で分化誘導後の細胞を一定期間継代培養することで、NSCを増幅させ(神経前駆細胞増幅工程)、第3工程で作製細胞を凍結後に液体窒素を用いて保管し(凍結保管工程)、移植直前に最終工程として細胞を解凍し、洗浄後に移植する(治療用細胞準備工程)、合計4工程からなる製造管理体制の確立を目指す(図3)。

### 2) 慢性期脊髄損傷治療への取り組み

これまでの研究により、慢性期脊髄損傷に対するNSC移植のみでは機能回復は得られないことも明らかになっている<sup>6)</sup>。そこで、マウス慢性期脊髄損傷(損傷後6週)に対するNSC移植とトレッドミル訓練の併用効果を検討した。慢性期損傷脊髄内でも移植細胞は良好に生着し、3系統へ分化した。特筆すべきは、対照群・リハビリ単独群と比較して、細胞移植とリハビリの併用群でより後肢運動機能の有意な回復がみられた点である。慢性期脊髄損傷に対しNSC移植に歩行訓練

を併用することで、従来細胞移植単独では得られなかった運動機能の回復に成功した。組織学的検討から、移植細胞由来オリゴデンドロサイトによる残存軸索の再髓鞘化が運動機能回復に寄与したと考えており、ヒトiPS細胞から誘導したオリゴデンドロサイト前駆細胞<sup>8)</sup>の慢性期不全脊髄損傷への臨床応用が期待される。

## おわりに

これまで我々は、脊髄再生医療の実現に向けて、様々な角度から検討を行ってきた。2014年6月末には、ついに肝細胞増殖因子による急性期脊髄損傷患者への治験(Phase I/IIa)を開始するに至った。iPS細胞を用いた脊髄再生医療についても着々と準備を進めており、前臨床研究レベルにおいては、亜急性期脊髄損傷に対するiPS細胞由来NSCに関するproof of conceptは既に得られており、課題であった造腫瘍性も克服できつつある。

今後は、臨床研究で使用するヒトiPS細胞由来NSCストックを構築し、亜急性期脊髄損傷に対するiPS細胞由来NSCの他家移植の臨床研究(Phase I/IIa)を平成29年に開始する予定である。対象は、受傷後2~4週の運動完全損傷(ASIA分類のA/B)で、移植細胞はCiRAで樹立されたintegration-free iPS細胞由来NSC(600~800万個)を損傷中心部に移植する。評価項目は、神経学的評価(ASIA score)、画像評価(MRI: 拡散テンソル投射路撮影、PET)である。症例数は約20症例を想定している。

一方、現在脊髄損傷で苦しんでいる患者さんの多くは慢性期完全損傷である。これまでの慢性期脊髄損傷に対する有効な治療法はほとんど報告されていなかったが、我々は軸索伸長阻害因子抑制剤とリハビリ、またNSC移植とリハビリを併用することで、たとえ慢性期・完全損傷であっても、機能回復が得られることを明らかにしてきた。今後は、栄養因子やスカフォールドとの併用療法を行うことで機能回復をさらに促進し、慢性期脊髄損傷患者さんのquality of lifeが少しでも改善できる日が訪れることを願ってやまない。

## ●文献

- 1) Fawcett J W, Curt A, Steeves J D, et al. Guidelines for the conduct of clinical trials for spinal cord injury as developed by the ICCP panel: spontaneous recovery after spinal cord injury and statistical power needed for therapeutic clinical trials. *Spinal Cord* 2007;45:190-205
- 2) Iwanami A, Yamane J, Katoh H, et al. Establishment of Grad-

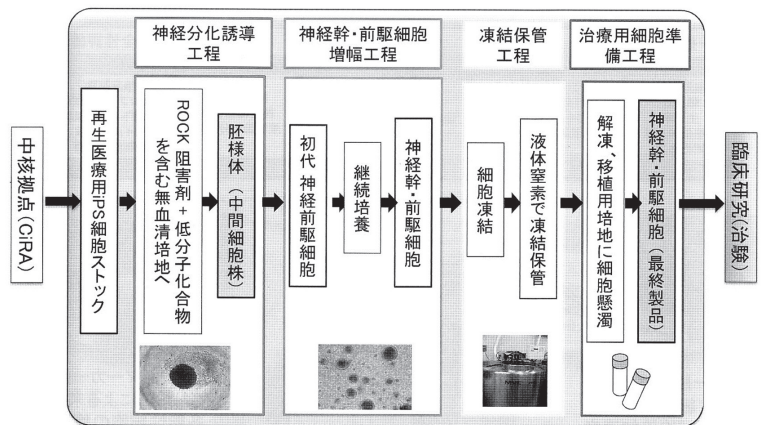


図3 iPS細胞由来NSCの安全性評価体制の構築に向けた取り組み

- ed Spinal Cord Injury Model in a Non-human Primate: the Common Marmoset. *J Neurosci Res* 2005; 80: 172-181
  - 3) Iwanami A, Kaneko S, Nakamura M, et al. Transplantation of human neural stem/progenitor cells promotes functional recovery after spinal cord injury in common marmoset. *J Neurosci Res* 2005;80:182-190
  - 4) Kobayashi Y, Okada Y, Itakura G, et al. Pre-evaluated safe human iPSC-driven neural stem cells promote functional recovery after spinal cord injury in common marmoset without tumorigenicity. *PLoS One* 2012;7: e52787-e52787
  - 5) Miura K, Okada Y, Aoi T, et al. Variation in the safety of induced pluripotent stem cell lines. *Nat Biotechnol* 2009;27:743-745
  - 6) Nishimura S, Yasuda A, Iwai H, et al. Time-dependent changes in the micro environment of injured spinal cord affects the therapeutic potential of neural stem cell transplantation for spinal cord injury. *Mol Brain* 2013;6: 3-3
  - 7) Nori S, Okada Y, Yasuda A, et al. Grafted human-induced pluripotent stem cell derived neurospheres promote motor functional recovery after spinal cord injury in mice. *Pro Nat Acad Sci USA* 2011;108:16825-16830
  - 8) Numasawa-Kuroiwa Y, Okada Y, Shibata S, et al. Involvement of ER Stress in Demyelination of Pelizaeus-Merzbacher Disease with PLP1 Missense Mutations Shown by iPSC-Derived Oligodendrocytes. *Stem Cell Reports* 2014;2:648-661
  - 9) Ogawa Y, Sawamoto K, Miyata T, et al. Transplantation of in vitro expanded fetal neural progenitor cells results in neurogenesis and functional recovery after spinal cord contusion injury in adult rats. *J Neurosci Res* 2002;69:925-933
  - 10) Okita K, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature* 2007;448:313-317
  - 11) Ramon C S. Degeneration and regeneration of the nervous system (Translated by R M Day from the 1913 Spanish edition). Oxford University Press, Oxford 1928
  - 12) Reynolds B A, Tetzlaff W, Weiss S. A multipotent EGF-responsive triatal embryonic progenitor cell produces neurons and astrocytes. *J Neurosci* 1992;12: 4565-4574
  - 13) Steeves J, Fawcett J, Tuszynski M. Report of international clinical trials workshop on spinal cord injury. *Spinal Cord* 2004;42:591-597
  - 14) Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006;126:663-676
  - 15) Tsuji O, Miura K, Okada Y, et al. Therapeutic potential of appropriately evaluated 'safe' induced pluripotent stem cells for spinal cord injury. *Pro Nat Acad Sci USA* 2010; 107:12704\_12709
  - 16) Tsukamoto A, Uchida N, Capela A, et al. Clinical translation of human neural stem cells. *Stem Cell Res Ther* 2013;4:102-102
- 利益相反無

# 北海道中央労災病院せき損センターについて

(JSCF事務局まとめ)



◀道内各地からヘリコプターで脊髄損傷の患者が搬送される。最先端のせき損医療とともに、整形外科における腰痛治療など美唄地区の住民にも頼りにされている

## ■北海道中央労災病院せき損センターHPより

### ●病院概要

<http://www.hokkaidoh-s.rofuku.go.jp/about/hospital.html>

当院は、開設当初から脊髄疾患患者さんの治癒と早期の社会復帰を図ることを大きな目的とし、炭鉱災害等の脊髄損傷、頸椎損傷、外傷性骨折等の整形外科を主とした外科系病院として運営してきました。

これらの特色・専門性の充実・強化を図るため平成10年5月に「勤労者腰痛・脊損センター」を開設し、整形外科を中心に泌尿器科、脳神経外科、リハビリテーション科、形成外科等の関連科との連携のもと高度専門医療の実践を図っています。

さらに災害医療の充実を図るために、平成10年11月に病院敷地内にヘリポートを設置し、道内各地から患者さんが搬送され、道内における脊損・脊髄損傷の患者さんの専門医療センターの役割を果たしています。

労災疾病研究分室は労災疾病が単に業務上の疾病のみを指すのではなく、業務上か否かに関わりなく、医学研究・開発・普及事業に力を入れ、勤労者医療の質の向上を目指すため、当院では4分野の研究テーマを設置しており、せき損損傷研究室、職業性腰痛疾患研究室、振動障害研究室および職場復帰のリハビリテーション研究室からなっております。

## ●勤労者腰痛・脊損センターの概要

### 勤労者腰痛・脊損センターの活動の目的

当院は昭和30年の設立当初から長年にわたり、勤労者・高齢者を中心とした脊椎・脊髄疾患（背骨の病気や外傷）に対する専門的医療を提供してきました。そして救命・救急治療から慢性期のリハビリテーション・社会復帰に至る高度かつ包括的な脊椎疾患治療施設として高い評価を得てきました。これまで培った実績に基づき、より高度な医療サービスを提供するための専門センターとして、平成10年「勤労者腰痛・脊損センター」が開設されました。当センターの活動は、「勤労者医療の中核をなす「腰痛疾患の予防・診断・治療（保存療法、手術療法、リハビリテーション）」と「脊椎脊髄損傷に対する超急性期から社会復帰までの包括的医療」の提供という2本の柱から成り立っています。さらに、当センターでは、すべての脊椎疾患（頸椎、胸椎、腰椎、仙椎）に対する高度な専門的医療を行っております。

また、北海道中央労災病院せき損センターで行われている脊椎・脊髄疾患治療の実際と成果を国内関連学会はもとより、関連国際学会にて発表しています。私たちは、当センターの診療内容が国際水準を凌駕する確実なものであるよう関係医師一同、脊椎・脊髄の諸疾患・外傷に対する診療の実際と臨床医学研究を積極的に進めています。



◀ 作業療法室内には障害者対応の運転訓練車を設置している



◀ 車椅子も回転が楽な重度脊髄損傷患者用トイレ

### 勤労者腰痛・脊損センターの対象となる患者さん

当センターでは災害医療、勤労者医療の推進ばかりでなく、地域住民の方々の脊椎疾患に対する高度・専門的医療の提供も重要な使命であると考えております。したがって、勤労者は勿論、小児から高齢者までの脊椎・脊髄に障害を抱えたすべての方々が治療の対象となります。勤労者が休業する最も頻度の高い病気が各種原因による腰痛疾患です。

### 脊柱の機能と障害

脊骨/脊柱は、個々の脊椎が頸椎、胸椎、腰椎、仙椎と椎間板や関節で連結され、頭蓋骨と骨盤間をつなぎ体を支えているものです。その役割は、①体の骨盤から上、頭蓋までの体幹を屋台骨として支え、かつ首、背、腰に運動性を与えていること、②脊柱の中には管があり、脳からの重要な神経である脊髄と馬尾が入っていて、それを保護していることです。この脊柱が変性（老化）、外傷（けが）、感染・炎症（骨髄炎、リウマチなど）、先天性奇形、腫瘍などのさまざまな原因により傷害を受けた場合、「体を支える機能」や「神経を保護する機能」が障害され、痛みや麻痺の症状が出てきます。痛みは首・腰・背中のほか手足にまで及ぶこともあります。また、神経の麻痺により手足の動きが鈍くなったり感覚がなくなったりし、日常生活上で大きな障害が出現することになります。

### 勤労者腰痛・脊損センターが取り扱う主な疾患

**腰痛疾患** 腰椎椎間板ヘルニア、変性すべり症、分離症、分離すべり症、先天性すべり症、腰椎椎間板症、変形性腰椎症、脊椎腫瘍（原発性・転移性）、脊椎・椎間板炎、骨粗鬆症性椎体骨折、脊柱側弯症、腰椎捻挫、急性腰痛症（ぎっくり腰）など

**脊損：脊髄損傷** 脱臼骨折、破裂骨折などによる神経障害（脊髄損傷）、骨傷のない頸髄損傷、脊髄損傷による排尿障害（神経因性膀胱）など

**その他の脊椎疾患** 頸椎椎間板ヘルニア、変形性頸椎症、頸椎症性脊髄症・神経根症、リウマチ性脊椎疾患、頸椎・胸椎後縦靭帯、黄色靭帯骨化症、人工透折に伴う破壊性脊椎関節症、むち打ち症、頸肩腕症候群、胸郭出口症候群、脊髄腫瘍など

### ●サイト「HOME Dr.」より

**チーム医療による高度なせき損医療を提供し、地域医療にも貢献**

[http://www.home-dr.jp/hosp\\_data/sorachi/sekison/](http://www.home-dr.jp/hosp_data/sorachi/sekison/)

道内唯一の総合せき損センターとして、最先端のせき損医療を行う役割を担っている。せき損（脊髄損傷）は労働災害や交通事故、スポーツ事故などによって発症し、その治療は救命・救急の急性期医療からリハビリテーション、社会復帰まで、整形外科医や看護師、理学療法士、作業療法士など、高度に訓練されたチームによるトータルケアが求められ、年間約80～90人の患者が道内各地から救急車やドクターヘリで搬送されてくる。高齢社会を反映して、家庭内での転倒によるせき損事故も近年増えてきている。程度はさまざまだが、重篤な麻痺では全身が動かず感覚がなくなり、排尿・排便障害や食事の摂取、さらには自発呼吸もできなくなる。治療は損傷した脊椎を固定し、損傷された脊髄への圧迫を取り除きながら障害からの早期回復を図っていく。

もう一つの柱は整形外科における上肢や下肢関節（膝）、腰痛、背骨の治療で、年間約300件の手術を実施。椎間板ヘルニアや腰部脊柱管狭窄症に対してはマイクロサージャリーの技術を導入し患者の早期社会復帰に努めている。専門外来（センター）として、勤労者腰痛センター、関節外科センター、リウマチ・膠原病センター、ストーマ、血管、PEG、メタボ、禁煙の各種外来を設置。障害者病棟はアメニティー豊かで患者に優しく、社会復帰を視野に入れた明るい設計。退院後のADLや職能向上のため、リハビリ室には道内では珍しい障害者対応の運転訓練車を導入し、障害者住宅改造相談にも技師が専門的な立場から積極的に関われる機能訓練設備を有している。「道内唯一のせき損センターとして、手術治療、術後のリハビリ、社会復帰までをトータルとして最先端のせき損医療の提供を目指しています」（三浪明男院長）。

# 局所的な神経の活性化により 血液脳関門における免疫細胞のゲートが形成される

村上正晃

Arima Y., Harada M., Kamimura D., et al. :Regional neural activation defines a gateway for autoreactive T cells to cross the blood-brain barrier. *Cell*, 148, pp.447-457, 2012.

## 要 約

中枢神経系である脳や脊髄の血管は、細菌やウイルスなどの影響を防ぐための特殊な関所として血液脳関門を形成している。免疫細胞はもとより大きなタンパク質なども血液脳関門を通過できない。しかし、中枢神経系にも細菌やウイルスが感染しがんや炎症などに起因する難病が発症する。こうした背景から、病原体や免疫細胞などが中枢神経系へと入るゲートの存在する可能性が考えられてきた。しかし、そのゲートがどこにあり、また、どのように形成されるのかなど、その実体は不明だった。筆者らは、中枢神経系の難病である多発性硬化症の動物モデルを用いて血液脳関門におけるゲートの部位とその形成機構を調べ、第5腰椎の背側の血管がそのゲートであることを世界ではじめてつきとめた。また、地球からの重力による日常的な刺激が第5腰椎の付近の神経を活性化させ、それが慢性炎症の誘導機構である“炎症回路”を活性化することでこのゲートが形成されることをつきとめた。今回の成果により、精神的なストレスによりさまざまな疾患が増悪するしくみなど、これまで不明であった神経や精神と免疫系との相互作用の分子基盤の解明が期待される。

## はじめに

脊椎動物の神経系は、脳や脊髄からなる中枢神経系と、体性神経系および自律神経系からなる末梢神経系とに分けられる。中枢神経系はニューロンの集まった塊であるのに対し、末梢神経系は神経節と神経繊維からなり、体の各部と中枢神経系とのあいだで神経刺激を伝達する役割をはたす。中枢神経系の臓器である脳や脊髄の血管は、細菌やウイルスなどの血液を介する影響を極力防ぐため、特殊な関所として血液脳関門を形成していることが判明していた。具体的には、血液脳関門は中枢神経系の血管に備わる、血液と中枢神経系の組織液とのあいだでの物質交換を制限する機構で、中枢神経系の血管を構成する内皮細胞が非常に強固に結合しあうことで、血液中の大きなタンパク質や免疫細胞などを中枢神経系へと通過させないよう機能している<sup>1) 2)</sup>。つまり、中枢神経系には末梢でのさまざまな出来事による血管内の変化が直接には伝わらないよう、血液脳関門により制御されているのである。しかし、ある状況では中枢神経系にも細菌やウイルスが感染し、がんや炎症などに起因する難病が発症する<sup>3) 4)</sup>。たとえば、インフルエンザでもHIVの感染でも脳

炎を生じることがある。また、血液に存在する免疫細胞はこのような病態や疾患を防ぐ一方で、あるときは過度な炎症の原因となったり悪化させたりすることもある。こうした背景から、血液脳関門には病原体や免疫細胞などが中枢神経系へと入るゲートの存在する可能性が示唆されていた<sup>2) 5)</sup>。しかし、そのゲートがどこにあるのか、また、どのように形成されるのかなど、その実体は不明であった。そこで今回、筆者らは、なお治療法のない中枢神経系の難病である多発性硬化症の動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎を用いて、血液脳関門に存在するゲートの位置とその形成機構を検討した。

## 1. 血液脳関門にある病原性T細胞のゲートの存在

中枢神経系に存在するミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質を正常マウスに免疫するとヘルパーT細胞が抗原に特異的に反応し、自己反応性ヘルパーT細胞(Th17細胞とTh1細胞)として機能することで実験的自己免疫性脳脊髄炎が誘導される。このミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質に特異的な自己反

応性のTh17細胞とTh1細胞を疾患マウスから採取して正常マウスの静脈に移入すると、正常マウスの中枢神経系に実験的自己免疫性脳脊髄炎が誘導される<sup>6) 7) 8)</sup>。これは、血液中の自己反応性をもつ病原性T細胞が血液脳関門をこえて中枢神経系に侵入し疾患を誘導したことを示すものである。そこで、この実験モデルを用いて血液脳関門におけるゲートの部位とその形成機構を調べることにした。

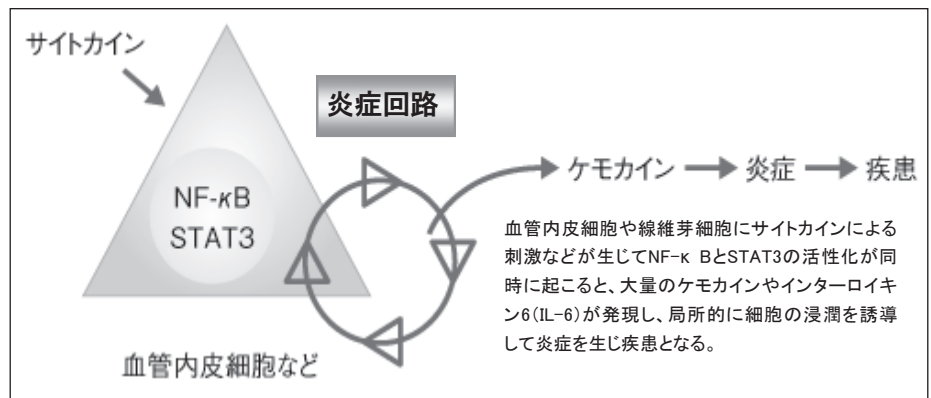


図1 炎症回路の機構

## 2. 病原性T細胞のゲートは第5腰椎の背側の血管にある

まず、正常マウスの血管に存在するミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質に特異的な病原性T細胞が、血管から中枢神経系へと入り込む部位を特定するため、自己反応性T細胞を移入してからまだ疾患の発症していない移入5日後に、マクロトームを用いて脊髄や脳を薄くスライスし、自己反応性T細胞の局在を蛍光顕微鏡により解析した。その結果、血管内の病原性T細胞は第5腰椎の背側の血管から脊髄に入ることをつきとめた。

## 3. 血管内皮細胞での炎症回路の活性化とゲートの形成

なぜその部位だけが自己反応性ヘルパーT細胞の中枢神経系へのゲートとなっているのか、そのしくみを調べた。はじめに、自己反応性ヘルパーT細胞のうち、インターロイキン17Aを発現するTh17細胞とインターフェロン $\gamma$ を発現するTh1細胞のどちらがこのゲートへの浸潤に関与しているかを、インターロイキン17Aやインターフェロン $\gamma$ をもたない自己反応性ヘルパーT細胞を準備して実験した。その結果、インターフェロン $\gamma$ をもたない自己反応性ヘルパーT細胞は浸潤するのに対し、インターロイキン17Aをもたない自己反応性ヘルパーT細胞は第5腰椎に浸潤できないことがわかった。筆者らは、これまで、インターロイキン17Aに依存性の炎症の誘導機構として、“炎症回路”を研究してきた。炎症回路とは、血管内皮細胞や線維芽細胞などの間葉系細胞にインターロイキン17Aやインターロイキン6 (IL-6) などのサイトカインが作用して相乗的なNF- $\kappa$ BおよびSTAT3の活性化が生じると、大量のケモカインが産生されてさまざまな細胞

がその局所に浸潤し、自己免疫疾患を含む慢性炎症を誘導するという機構である<sup>7) 8) 9)</sup> (図1)。細胞膜にあるシグナル伝達タンパク質gp130や細胞内におけるシグナル伝達タンパク質STAT3を欠損させることで間葉系細胞や血管内皮細胞において1型コラーゲンCreマウスを用いて特異的にインターロイキン6シグナルを遮断したところ、自己反応性ヘルパーT細胞の第5腰椎への浸潤が抑制された。さらに、第5腰椎の背側の血管内皮細胞では、ほかの脊椎の血管と比べて、STAT3およびNF- $\kappa$ Bの活性化が生じていることもわかった。これまでの研究でTh17細胞はCCL20に引き寄せられることがわかっていたので、この部位の炎症回路の活性化の標的となるケモカインとしてCCL20に注目した。実際に、CCL20は第5腰椎の背側の血管内皮細胞において炎症回路に依存的に発現していた。さらに、CCL20の受容体であるCCR6をもたない自己反応性のTh17細胞は第5腰椎に浸潤することができなかった。中和抗体により全身においてCCL20が機能しないようにすると疾患の発症も抑制された。重要なことに、第5腰椎の背側の血管では定常状態においてCCL20以外の多くのケモカインも発現していることがわかった。つまり、第5腰椎の背側の血管は定常状態においてさまざまなケモカインを発現し、自己反応性T細胞を含む免疫細胞や血液細胞の血管から中枢神経系へのゲートとなっていることがわかった。血管内皮細胞や線維芽細胞にサイトカインによる刺激などが生じてNF- $\kappa$ BとSTAT3の活性化が同時に起こると、大量のケモカインやインターロイキン6 (IL-6) が発現し、局所的に細胞の浸潤を誘導して炎症を生じ疾患となる。

## 4. 感覚神経の刺激とゲートの形成

つぎの疑問は、どうして第5腰椎の背側の血管がそのようなゲートとなっているかであった。いい換えると、なぜこの部位で炎症回路が特異的に活性化してい

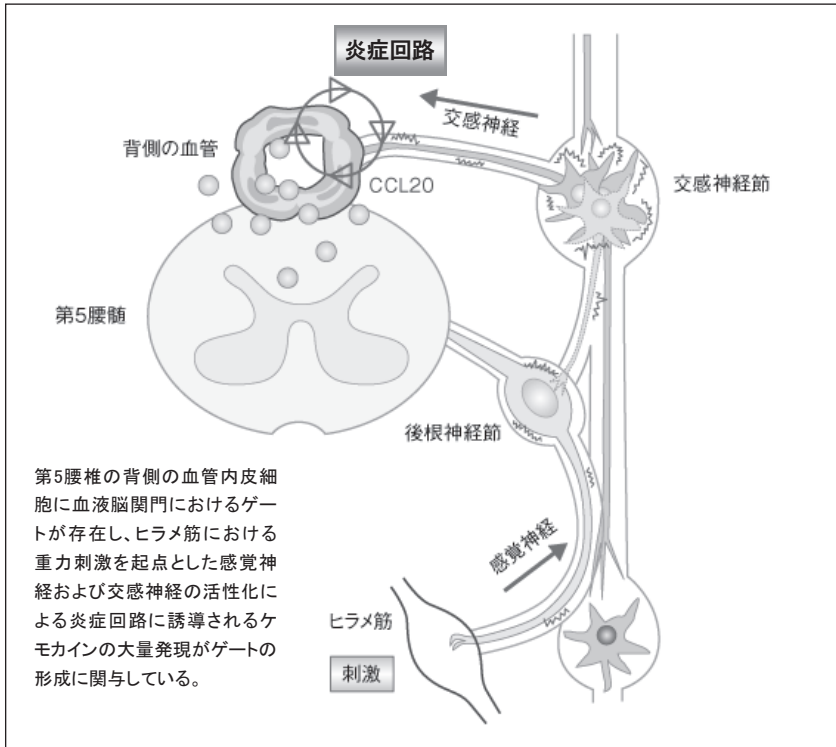


図2 血液脳関門における免疫細胞の中樞神経系へのゲート

るのであろうか？ そこで、ヒラメ筋からの感覚神経の神経節が第5腰椎の背側に位置することに着目した。体の感覚や運動を制御する体性神経系には感覚神経と運動神経がある。そして、ヒラメ筋はふくらはぎの付近に存在して大きな重力を受け止める抗重力筋として知られている。絶え間のない重力刺激に対抗するヒラメ筋の応答が感覚神経の過剰な活性化を誘導し、これが原因で第5腰椎の背側の血管において炎症回路を活性化しているのではないかという仮説をたてた。この仮説を実証するのに、NASA（米国航空宇宙局）で行われていた実験法に注目した<sup>10) 11)</sup>。つまり、マウスのしっぽを天井からつるし（後肢懸垂法）、ヒラメ筋への重力刺激をなくし感覚神経への刺激を排除したときの第5腰椎の状態を調べた。その結果、この後肢懸垂法を適用すると第5腰椎の背側の血管におけるCCL20の発現および病原性T細胞の集積はみられず、実験的自己免疫性脳脊髄炎の発症も有意に抑制された。また、後肢懸垂法を適用したマウスのヒラメ筋に電気刺激をあたえるとその時間に比例してCCL20の発現量が增加することもわかった。

後肢懸垂法は非常に不自然な体の姿勢を1週間以上も保持させるので、この方法が体全体の神経系や骨格筋系などの恒常性を乱していないことを証明する必要があった。後肢懸垂法を適用したマウスに対し大腿四頭筋あるいは上腕三頭筋を電気刺激すると、それぞ

れ、第3腰椎あるいは頸椎から胸椎の背側の血管においてCCL20が発現すること、そして、その近傍の後根神経節も活性化することがわかった。これらの結果は、後肢懸垂法を適用したマウスにおいても、局所的な感覚神経の活性化が生じると、その神経の細胞体が存在する後根神経節の近傍の血管の状態が変化することを示していた。さらに、後肢懸垂法を適用しても脳、内臓、前肢、後肢、体表などにおける血流速度は変化しなかった。また、関節をギブスにより固定して屈曲させると、短期的には筋肉の収縮刺激が感覚神経を經由して後根神経節を活性化させることが知られている。実際、後肢懸垂法を適用したのちのギブス固定によるヒラメ筋の収縮刺激により第5腰椎の背側の血管におけるCCL20の発現は上昇した。また、後根神経節から脊椎に延びる感覚神経のみを遮断する手術を行

うと、体のバランスは保たれるが後根神経節の活性化は抑制されることがわかっている<sup>11)</sup>。この手術を行ったマウスでは第5腰椎の背側の血管におけるCCL20の発現および病原性T細胞の集積はみられなかった。これらの実験結果から、後肢懸垂法は体全体の恒常性の変化は誘導せず、主として後肢への重力刺激を欠損させた状態を反映していることが証明された。

## 5. 感覚神経と交感神経との相互作用とゲートの形成

つづく疑問は、感覚神経の活性化がどのように血管の状態の変化をひき起こすかであった。この疑問のヒントは、血流速度の測定から得られた。後肢懸垂法を適用すると第5腰椎の背側の血管の血流速度が有意に低下し、ヒラメ筋に電気刺激を行うとその血流速度が上昇した。通常、血管の状態は自律神経系により制御されている。内臓や血管などを自動的に制御する自律神経系には交感神経と副交感神経とがあり、血流速度は交感神経の活性化により上昇する。これらの結果から、重力に対抗するため緊張するヒラメ筋から脊髄に伝えられる感覚神経の活性化は、近傍の交感神経の活性化をひき起こしていることが推測された。試験管内での実験から、炎症回路の活性化をノルアドレナリンが濃度に依存的に増強することがわかり、交感神経の末端から放出されるノルアドレナリンに対し、ノルアドレナリ



ン受容体の阻害剤を全身性に投与すると、第5腰椎の背側の血管内皮細胞からのCCL20の発現や病原性T細胞の集積、また、疾患の発症もすべて有意に抑制された。

これらの結果から、第5腰椎の背側の血管内皮細胞に血液細胞の中樞神経系へのゲートが存在すること、このゲートの形成機構は、重力刺激を起点とした感覚神経および交感神経の活性化が近傍の血管内皮細胞に炎症回路の過剰な活性化を誘導しケモカインの大量発現をひき起こすことであることが明らかにされた(図2)。第5腰椎の背側の血管内皮細胞に血液脳関門におけるゲートが存在し、ヒラメ筋における重力刺激を起点とした感覚神経および交感神経の活性化による炎症回路に誘導されるケモカインの大量発現がゲートの形成に関与している。

## おわりに

今回の研究結果から、中樞神経系の血液脳関門に存在する免疫細胞の通過するゲートが局所的な神経刺激により形成されることが明らかになった。定常状態では重力刺激にとまなうヒラメ筋の活性化が第5腰椎の背側の血管内皮細胞に交感神経を経由するノルアドレナリンの発現を誘導し、炎症回路の活性化を亢進させ多くのケモカインを誘導していることがわかった。今回の実験では、病原性T細胞としてTh17細胞を静脈に投与したためその遊走因子であるCCL20の発現に注目したが、ほかの免疫細胞、たとえば、キラーT細胞、ナチュラルキラー細胞、マクロファージ、好中球などを遊走させることが知られているケモカインもこの部位で過剰に発現していたことから、この部位が中樞神経系における免疫監視系の入り口である可能性が高いものと思われる。さらに、ミクログリアのように血球細胞に由来する脳の構成細胞の前駆体も、このゲートを介して中樞神経系に浸潤している可能性もある。今後、局所の感覚神経あるいは交感神経の活性化を抑制または刺激することで、人為的にこのゲートを閉じたり、別の部位に形成したり、より強く開いたりすることが可能になり、中樞神経系における免疫細胞の存在数を制御できるようになれば、中樞神経系における感染、がん、難病などの予防や治療につながることを期待される。

神経の活性化は、今回の実験で明らかにされた重力ばかりでなく、現代生活につきまとうストレスなどさまざまな外的な刺激でも生じる。さらに、慢性の疼痛

と疾患との関連も示唆されている。そのため、今回の成果から、さまざまな疾患が精神的なストレスなどで増悪するしくみ、あるいは、適度な運動が疾患や病態を改善する分子機構、さらに、針治療によりなぜ疾患や病態が改善するのかなど、これまで不明であった神経や精神と免疫系との相互作用の分子基盤が解明されることが期待される。さらに、中樞神経系ばかりでなくさまざまな臓器においても、免疫細胞は特定の血管から流入する。この血管の制御も神経刺激により大きな影響をうけている可能性がある。関連する交感神経や副交感神経が活性化あるいは不活性化することで、血管の活性化の状態が制御されている可能性も考えられる。このことは、臓器に特異的な自己免疫疾患や慢性の炎症性の疾患の発症機構も、特定の神経の活性化による特定の血管へのゲートの形成により説明できる可能性を示唆し、その制御により新たな治療法の開発に結びつくことが期待される。

## ●文献

- 1) Galea, I., Bechmann, I. & Perry, V. H.: What is immune privilege (not)? *Trends Immunol.*, 28, 12-18 (2007)
- 2) Wilson, E. H., Weninger, W. & Hunter, C. A.: Trafficking of immune cells in the central nervous system. *J. Clin. Invest.*, 120, 1368-1379 (2010)
- 3) Salinas, S., Schiavo, G. & Kremer, E. J.: A hitchhiker's guide to the nervous system: the complex journey of viruses and toxins. *Nat. Rev. Microbiol.*, 8, 645-655 (2010)
- 4) McGavern, D. B. & Kang, S. S.: Illuminating viral infections in the nervous system. *Nat. Rev. Immunol.*, 11, 318-329 (2011)
- 5) Reboldi, A., Coisne, C., Baumjohann, D. et al.: C-C chemokine receptor 6-regulated entry of TH-17 cells into the CNS through the choroid plexus is required for the initiation of EAE. *Nat. Immunol.*, 10, 514-523 (2009)
- 6) Hirano, T.: Interleukin 6 in autoimmune and inflammatory diseases: a personal memoir. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B.*, 86, 717-730 (2010)
- 7) Murakami, M. & Hirano, T.: A four step model for the IL-6 amplifier, a critical regulator of chronic inflammations in tissue specific MHC class II-associated autoimmune diseases. *Front. Immunol.*, 2, 22 (2011)
- 8) Ogura, H., Murakami, M., Okuyama, Y. et al.: Interleukin-17 promotes autoimmunity by triggering a positive-feedback loop via interleukin-6 induction. *Immunity*, 29, 628-636 (2008)
- 9) Murakami, M., Okuyama, Y., Ogura, H. et al.: Local microbleeding facilitates IL-6- and IL-17-dependent arthritis in the absence of tissue antigen recognition by activated T cells. *J. Exp. Med.*, 208, 103-114 (2011)
- 10) De-Doncker, L., Kasri, M., Picquet, F. et al.: Physiologically adaptive changes of the L5 afferent neurogram and of the rat soleus EMG activity during 14 days of hindlimb unloading and recovery. *J. Exp. Biol.*, 208, 4585-4592 (2005)
- 11) Kawano, F., Matsuoka, Y., Oke, Y. et al.: Role(s) of nucleoli and phosphorylation of ribosomal protein S6 and/or HSP27 in the regulation of muscle mass. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 293, C35-44 (2006)

## 資料 5

日本耳鼻咽喉科学会会報116:pp.53-59, 2013

([https://www.jstage.jst.go.jp/article/jibiinkoka/116/2/116\\_53/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jibiinkoka/116/2/116_53/_pdf))より抜粋、改変

# 脊髄損傷に対する再生医療

堀桂子(慶應義塾大学医学部整形外科)ら

## 1. 細胞移植療法

脊髄損傷部へ細胞を移植することで、失われた細胞の補填、軸索伸長の促進を介する神経回路の再生や、脱髄した軸索の再髄鞘化、移植細胞由来液性因子による組織の保護などを図る治療法である。移植細胞の種類として、神経幹/前駆細胞<sup>1)~4)</sup>や嗅神経鞘細胞<sup>5)6)</sup>、骨髄間質細胞<sup>7)8)</sup>などが検討されている。

### 1) 神経幹/前駆細胞(NS/PC)

性質の異なる複数の神経系細胞に分化できる「多分化能」および、未分化な神経幹細胞を再生産できる「自己複製能」を併せ持つ細胞である。神経系の発達を終えた成体においても、側脳室に面する脳室下帯、脊髄中心管周囲などに存在する。移植治療における供給元としては、胎児脳組織、胚性幹細胞(ES細胞)、人工多能性幹細胞(iPS細胞)などが考えられる。

脊髄損傷に対するNS/PC移植の場合は、移植細胞からニューロン、アストロサイト、オリゴデンドロサイトなど多様な細胞が分化誘導されることが神経機能の回復につながると考えられている<sup>1)</sup>。また、移植時期は、脊髄損傷後亜急性期が望ましいと考えられている。このタイミングは急性炎症が沈静化した後、かつグリア瘢痕が形成される前に相当し<sup>9)</sup>、移植細胞の生着率がよく、多系統の細胞への分化にも適しているためである。

●**胎児由来NS/PC**…胎児由来のNS/PCを脊髄損傷部に移植することで、運動機能の有意な回復が得られることがマウス、ラットや霊長類を用いた動物実験で報告されてきた<sup>1)2)</sup>。しかし、中絶胎児からの細胞採取が必要であり、わが国においては倫理的観点から臨床応用を認められていない。

●**ES細胞由来NS/PC**…ES細胞は、発生初期の胚盤胞期に、胚の一部に属する内細胞塊から得られる多能性幹細胞である。1998年にヒトES細胞が樹立されて以来、ES細胞をさまざまな細胞に分化・樹立する研究が盛んになり<sup>10)</sup>、損傷脊髄に対するES細胞由来NS/PC移植療法の有効性も明らかになった<sup>3)11)12)</sup>。しかし、ES細胞も不妊治療の余剰胚から作製されるため倫理的問題を避けられず、本邦では基礎研究以外では使用を認められていない。とはいえ、厚生労働省は数年後をめどに臨床研究指針を作成する方針を立てており、将来的には臨床応用可能となる可能性もある。

●**iPS細胞由来NS/PC**…先述のように、胎児由来NS/PC、ES細胞由来NS/PCは共に脊髄損傷の治療において有用な細胞となり得るが、臨床応用に際し倫理的問題を避けられない。このような問題点を解決するのが、2006年、2007年に京都大学の山中教授らにより、マウスおよびヒト線維芽細胞から樹立されたiPS細胞である<sup>13)14)</sup>。iPS細胞は、マウスおよびヒト線維芽細胞にOct3/4、Sox2、Klf4、c-Mycの4つの転写因子を導入し体細胞を初期化することで、ES細胞に類似した増殖能・分化能をもたせた人工多能性幹細胞である。自家組織、もしくはドナーの同意を得て採取された組織が細胞の供給源となり得るため、胎児細胞あるいは初期胚由来細胞に固有の倫理的問題を回避できる。

当研究室ではES細胞で培った技術を応用し、マウス脊髄損傷モデルに対しマウスiPS細胞由来NS/PC<sup>15)</sup>移植を行い、マウスES細胞由来NS/PCと同様の治療効果が得られることを確認した。さらに免疫不全マウス脊髄損傷モデルに対するヒトiPS細胞由来NS/PCの移植実験でも同様に後肢機能の改善が確認され<sup>4)</sup>、今後の臨床応用を期待されている。

しかし、iPS細胞由来NS/PCは腫瘍化のリスクを避けられない<sup>16)</sup>。これには、iPS細胞樹立時の外来遺伝子の染色体への挿入や、不完全なリプログラミング、分化誘導後の未分化細胞の残存などが関与していると考えられる。そのため現在、染色体に取り込まれないようにウイルスを用いずに遺伝子を導入する方法や<sup>17)</sup><sup>18)</sup>、腫瘍化した場合に備えてあらかじめ自殺遺伝子を組み込む手法<sup>19)</sup>など、移植細胞の安全性を高めるための研究が進められている。今後は移植細胞の安全性の評価が重要な課題である。

### 2) 嗅神経鞘細胞(OEG/OEC)

OECは嗅球および嗅上皮に存在する細胞である。嗅上皮では生涯を通じて神経細胞が新生されており、OECにはその軸索を嗅球へ誘導し神経投射を促す働きがあると考えられている。OECをラット脊髄損傷モデルに移植すると、軸索再生を促し運動機能の改善が得られるとの報告があり<sup>5)</sup>、注目されるようになった。OECは患者自身から採取できるため、移植治療に際しては倫理的問題や免疫拒絶の観点でも有用である。またOECと嗅神経細胞の両方を含む、嗅粘膜を移植する方法も注目されている。嗅粘膜を用いた場合は瘢痕除

去後の脊髄欠損部を充填することも可能とされ、各国で臨床試験が始まっている。

### 3) 骨髄間質細胞

骨髄間質細胞は患者自身の骨髄穿刺液から容易に採取でき、培養技術が確立していること、免疫拒絶や倫理的問題がないなどのメリットがある。最近の研究により、骨細胞、心筋細胞、脂肪細胞など種々の細胞に分化する能力を有することが明らかになってきた。ラット脊髄損傷モデルに対し、この細胞を損傷部へ移植もしくは脳脊髄液中に投与すると、移植細胞が脊髄損傷部に到達し有意な運動機能回復が得られることが報告された<sup>7)8)</sup>。この場合移植細胞は神経系の細胞に分化しないことから、脊髄修復と運動機能回復の機序は液性因子によると考えられている<sup>8)</sup>。すでにインド、イラン、韓国、エジプトなどで臨床試験が行われ、本邦でも開始されている。

## 2. 細胞移植以外

### 1) HGF(肝細胞増殖因子)

HGFは成熟肝細胞の増殖因子として同定・クローニングされた。その後の研究により、肝臓をはじめ肺、腎臓などのさまざまな実質臓器の障害により著明な発現上昇を示し、臓器損傷後24時間以内にピークを迎えることが明らかになっている。さらに、損傷臓器だけでなく、損傷を受けていない遠隔臓器においてもHGFの発現が上昇し、血流を介して損傷臓器へHGFが供給されるというメカニズムが存在する。

当研究室の北村らの報告によると、成体ラットの損傷脊髄内でもHGFは上昇するが、他の臓器と比べて発現は緩徐であり、損傷直後からHGFを損傷部に投与すると運動機能の有意な回復を認めた<sup>20)</sup>。その後、霊長類コモンマーモセットを用いて脊髄損傷後にヒト組み換えHGF蛋白(rhHGF)を髄腔内投与することでも有意な運動機能回復を得られた<sup>21)</sup>。現在、rhHGFを用いた筋萎縮性側索硬化症(ALS)に対する第I相臨床試験が東北大学で行われている。数年以内には脊髄損傷に対する臨床試験も慶應義塾大学病院を中心に開始される予定である。

### 2) 神経栄養因子

これまで、NGF<sup>22)</sup>、BDNF<sup>23)</sup>、NT-3<sup>24)</sup>などさまざまな神経栄養因子の存在が明らかとなっている。脊髄損傷においては、微小環境の変化に伴う内在性神経栄養因子の欠乏が損傷を助長していると考えられている。損傷脊髄へ神経栄養因子を補充することで神経保護効果が得られるとの報告もあり、今後の研究の発展が待たれる。

## 臨床試験の現状

これまで述べた基礎研究の進歩と並行し、すでに世界各国で多くの脊髄再生に関する臨床試験が行われてきた。以下に現在行われている主なものを紹介する。

### 1. 胎児由来NS/PC

わが国では臨床応用が禁止されているが、米国などではすでに臨床応用可能である。2011年から米国のStemcell社により胎児由来神経幹細胞「HuCNS-SC<sup>®</sup>」<sup>25)</sup>を用いた第I/II相臨床試験がスイスのBalgrist Hospitalにて開始された。慢性期脊髄損傷患者を対象とし、計12例の患者への移植が予定されている。

### 2. ES細胞由来NS/PC

胎児由来NS/PCと同様にわが国では臨床研究の指針の対象外であるが、2010年10月、Geron社でヒトES細胞を用いた世界初の臨床試験が開始された。急性期脊髄損傷患者に対する第I/II相臨床試験として「GRNOPC 1<sup>®</sup>」(ヒトES細胞由来オリゴデンドロサイト前駆細胞)<sup>26)</sup>が計4例に移植された。いずれも重篤な副作用は認められなかったとのことであるが、2011年11月に経済的理由で中止された。

### 3. OEC

ポルトガルで2001年から、損傷脊髄のグリア瘢痕を外科的に切除したうえで自家嗅粘膜を移植する臨床試験が行われ、運動機能や感覚、自律神経系の改善が報告されている<sup>6)</sup>。また、オーストラリアでは慢性期脊髄損傷患者に対し、自家嗅粘膜から分離培養したOECを移植する臨床試験が行われた。本邦でも大阪大学を中心に慢性期脊髄損傷患者を対象とした自家嗅粘膜移植の臨床試験が行われた。2007年から2010年4月までに計4例に実施され、一部症状の改善が報告された。なお、この治療法は2011年12月に厚生労働省の先進医療専門家会議において、「先進医療」に指定された。

### 4. 骨髄間質細胞

2006年から京都大学と関西医科大学が共同で、急性期脊髄損傷に対する培養自家骨髄間質細胞移植の臨床試験が行われた。これは脊椎固定手術に際し、骨移植のために採取した腸骨から骨髄液を採取、培養し、10日～2週間後に腰椎穿刺によりクモ膜下に注入する方法である。

計5例に移植され、一部で症状の改善を認めたと中途報告された。今後も経過観察したうえで、有効性と安全性について発表される見込みである。

ほかに、亜急性期の脊髄損傷患者に対し、骨髄から単核球のみを採取しそのまま髄腔内投与する方法を用いて、2012年3月から大阪の北野病院で第I/II相臨床

試験が開始されている。

## 5. 低体温療法

脊髄損傷では、炎症・血流不全などに伴う2次損傷により、組織壊死や麻痺の悪化が起これると考えられる。マイアミ大学を中心に第I相臨床試験が行われ、急性期脊髄損傷患者を対象に、大血管にカテーテルを入れて体温を33℃まで冷やし48時間維持する方法の安全性が確認された。今後、第II/III相臨床試験が行われる予定である<sup>27)</sup>。

## 6. G-CSF(顆粒球コロニー刺激因子; granulocyte-colony stimulating factor)

好中球減少症などですでに保険適応となっている薬剤である。脳卒中の動物モデルに対する神経保護作用が報告され、海外で臨床研究が行われてきた。脊髄損傷にも有効とされ、千葉大学にて2008年～2011年に急性脊髄損傷患者および急性増悪した圧迫性脊髄症の患者にG-CSFを投与する第I/IIa相臨床試験が行われた。中途報告では、有害事象は認めず、すべての患者で運動・知覚ともある程度の改善が得られたとされている。脊髄損傷に対する作用メカニズムとしては、G-CSFにより動員された骨髄由来細胞が脊髄損傷部に動員され<sup>28)</sup>、直接的に細胞死を抑制する<sup>29)</sup>、神経線維を覆うオリゴデンドロサイトの細胞死を抑制し髄鞘を保護する、炎症性サイトカイン発現を抑制する、などが想定されている。

## 7. Cethrin®(BA-210)

Cethrin®は細胞内シグナル因子(低分子量G蛋白質) Rhoの阻害剤である。Rhoは軸索伸展の制御に関与し、動物実験レベルではRhoを阻害することで脊髄損傷後の神経再生が促進すると報告されてきた。2005年～2007年にかけて、米国とカナダの多施設で行われた第I/II相臨床試験では、急性期の完全麻痺患者48人に対しCethrin®を直接硬膜外に投与したところ、37人に運動機能の回復が得られ、Cethrin®が脊損治療に有望と示された<sup>30)</sup>。今後第IIb相臨床試験が予定されている。

## 8. Riluzole

ALSにおいて進行を遅らせる作用が報告され、現在唯一の治療薬として承認されている薬である。ナトリウムチャンネル阻害作用を持ち、ナトリウムチャンネルの持続的活性化による神経毒性を抑制することで神経保護作用を示すとされている。また、グルタミン酸による神経伝達を拮抗することで神経保護作用を示す可能性も考えられている<sup>31)</sup>。脊髄損傷においても動物実験レベルで運動機能の改善が報告され、米国とカナダで

臨床試験が開始された。すでに第I/II相臨床試験が終了しており、今後第III相臨床試験が行われる予定である。

◆この抜粋の情報は執筆当時(2013年)の最新のものです。

## ●参考文献

- 1)Iwanami A, Kaneko S, Nakamura M, et al: J Neurosci Res 2005; 80: 182-190.
- 2)Ogawa Y, Sawamoto K, Miyata T, et al: J Neurosci Res 2002; 69: 925-933.
- 3)Kumagai G, Okada Y, Yamane J, et al: PLoS One 2009; 4: e7706.
- 4)Nori S, Okada Y, Yasuda A, et al: Proc Natl Acad Sci USA 2011; 108: 16825-16830.
- 5)Li Y, Field PM, Raisman G: Science 1997; 277: 2000-2002.
- 6)Lima C, Pratas-Vital J, Escada P, et al: J Spinal Cord Med 2006; 29: 191-203, discussion 204-206.
- 7)Wu S, Suzuki Y, Ejiri Y, et al: J Neurosci Res 2003; 72: 343-351.
- 8)Ohta M, Suzuki Y, Noda T, et al: Experimental neurology 2004; 187: 266-278.
- 9)Okano H: J Neurosci Res 2002; 69: 698-707.
- 10)Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al: Science 1998; 282: 1145-1147.
- 11)McDonald JW, Liu XZ, Qu Y, et al: Nat Med 1999; 5: 1410-1412.
- 12)Faulkner J, Keirstead HS: Transpl Immunol 2005; 15: 131-142.
- 13)Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al: Cell 2007; 131: 861-872.
- 14)Takahashi K, Yamanaka S: Cell 2006; 126: 663-676.
- 15)Miura K, Okada Y, Aoi T, et al: Nat Biotechnol 2009; 27: 743-745.
- 16)Tsuji O, Miura K, Okada Y, et al: Proc Natl Acad Sci USA 2010; 107: 12704-12709.
- 17)Okita K, Nakagawa M, Hyenjong H, et al: Science 2008; 322: 949-953.
- 18)Yu J, Hu K, Smuga-Otto K, et al: Science 2009; 324: 797-801.
- 19)Cheng F, Ke Q, Chen F, et al: Biomaterials 2012; 33: 3195-3204.
- 20)Kitamura K, Iwanami A, Nakamura M, et al: J Neurosci Res 2007; 85: 2332-2342.
- 21)Kitamura K, Fujiyoshi K, Yamane J, et al: PLoS One 2011; 6: e27706.
- 22)Gu YL, Yin LW, Zhang Z, et al: Cell Mol Neurobiol 2012.
- 23)Lee DH, Geyer E, Flach AC, et al: Acta Neuropathol 2012; 123: 247-258.
- 24)Boyce VS, Park J, Gage FH: Eur J Neurosci 2012; 35: 221-232.
- 25)Taupin P: Curr Opin Mol Ther 2006; 8: 156-163.
- 26)Keirstead HS, Nistor G, Bernal G, et al: J Neurosci 2005; 25: 4694-4705.
- 27)Neuroprotection-therapeutic hypothermia. 2012. (Accessed at <http://www.themiamiproject.org/page.aspx?pid=844>.)
- 28)Koda M, Nishio Y, Kamada T, et al: Brain Res 2007; 1149: 223-231.
- 29)Nishio Y, Koda M, Kamada T, et al: J Neuropathol Exp Neurol 2007; 66: 724-731.
- 30)Fehlings MG, Theodore N, Harrop J, et al: J Neurotrauma 2011; 28: 787-796.
- 31)Cadotte DW, Fehlings MG: Clin Orthop Relat Res 2011; 469: 732-741.

## 資料 6

### 用語解説 (JSCF事務局編)

<b>ASIAスコア</b>	米国脊髄損傷協会 (ASIA) が作成した感覚・運動機能の評価尺度。各脊髄レベルの神経支配を受ける一つの筋肉群に対して0 (完全麻痺)から5(最大抵抗時の動作)のスコアを割り当てることにより計算する。A;完全麻痺、B;不全麻痺(S4～S5を含む神経学的レベルより下位に知覚機能のみ残存)、C;不全麻痺(神経学的レベルより下位に運動機能は残存しているが、主要筋群の半分以上が筋力3未満)、D;歩行可能、E;正常。
<b>BBBスケール</b>	慢性脊損の機能回復を評価するためのマウスやラットの下肢運動機能評価スコア。21点満点で、20点以下が麻痺発生、シッポが挙げられないと19点、跛行の出現が13点、両下肢麻痺が出現すると7点となる。前臨床研究で機能回復レベルの評価に用いる。
<b>Cethrin®(BA-210)</b>	細胞内シグナル因子Rhoの阻害剤。神経阻害分子の産生に重要な役割を果たすRhoタンパク質を阻害することで脊髄再生効果が得られると期待されている。2005～2007年に第I/IIa相治験が北米の研究グループによって行われ、急性脊髄損傷の完全麻痺者48名 に硬膜外投与し37名に運動機能の回復が見られたと報告された。今後、第IIb相治験を予定。
<b>ES細胞</b>	→胚性幹細胞
<b>G-CSF</b>	顆粒球コロニー刺激因子。元々は造血因子として発見されたタンパク質であり、白血球の一種である顆粒球の分化・増殖・生存促進などの作用を有する。その後、中枢神経に対して保護作用を有することが発見され、中枢神経系損傷に対する治療薬として注目されている。国内では千葉大学で急性期脊髄損傷患者および 圧迫性脊髄症急性増悪患者の臨床試験が2008年から行われ、一定の効果を示した。
<b>HGF</b>	肝細胞増殖因子(hepatocyte growth factor)。肝細胞の増殖因子として阪大で発見され、その後、多種多様な臓器、細胞に対して非常に強力な再生治癒能力を有することがわかり、国内では2014年に脊髄損傷急性期の患者への第 I / II 相臨床試験が開始された。
<b>integration-free</b>	「ゲノムへの外来遺伝子の挿入がない」という意味。iPS細胞の作製では体細胞にリプログラミング遺伝子を発現させる必要があるが、それら遺伝子の導入法によってはゲノムに挿入してしまう恐れがあり、挿入された箇所での遺伝子が壊されて結果的に癌等の有害事象を引き起こす原因になると考えられている。
<b>in vitro</b>	(読み)イン・ビトロ:試験管内の、という意味のラテン語。試験管や培養細胞レベルの研究に対して使われる。
<b>In vivo</b>	(読み)イン・ビボ:生体内で、という意味のラテン語。ヒトや動物を用いた研究に対して使われる。
<b>iPS細胞</b>	人工多能性幹細胞(induced pluripotent stem cell)。幹細胞と同様に増殖して各種の細胞へと分化することが可能な細胞。2006年、山中伸弥らがマウスの体細胞に初期化因子と呼ばれる数種類の遺伝子を導入することで、初めて作製に成功した。
<b>Riluzole</b>	ナトリウムチャンネルの持続的活性化による神経毒性を抑制することで神経保護作用を示す。北米で第 I / II 相治験を終了。今後フェーズIIIを予定。
<b>Sema3A阻害薬</b>	セマフォリン3A阻害薬:神経線維の伸長を阻害するセマフォリン3Aという物質を阻害(活性を低下または消失)する薬剤。
<b>アストロサイト</b>	中枢神経系に存在するグリア(ニカワ)細胞の1つ。アストログリアともいう。神経系の構築、細胞外液の恒常性維持、血液脳関門の形成などの重要な役割を果たしている。
<b>アポトーシス</b>	個体を正常な状態に保つために不要な細胞が自らを死滅させる機構のこと。プログラム細胞死とも呼ばれる。
<b>インターフェロン</b>	体内で病原体や腫瘍細胞などの異物の侵入に反応して細胞が分泌するタンパク質。ウイルス増殖の阻止や細胞増殖の抑制等の作用があり、医薬品として用いられている。
<b>インターロイキン6 (IL-6)</b>	インターロイキンはリンパ球や単球から分泌される免疫応答の調節に関与するタンパク質で、サイトカインの一種。30種類以上が知られているうちIL-6は液性免疫を制御し、これに対する抗体はIL-6と受容体(膜結合型と分泌型の両方が存在する)との結合を阻害する。リウマチ治療薬としてアクテムラがある。
<b>エフリン</b>	軸索成長を制御する分子の1つ。軸索伸長を反発する効果を持つ。レセプターとしてEphファミリーがある。
<b>オリゴデンドロサイト</b>	小型で比較的突起の少ないグリア細胞であり、中枢神経系内での髄鞘形成および巻きついている神経細胞の維持と栄養補給の機能を有する。
<b>核移植</b>	あらかじめ核を取り除くか核を不活化した細胞に、別の細胞の核を移植する方法。
<b>幹細胞</b>	自己複製能とさまざまな細胞に分化する能力(多分化能)を持つ特殊な細胞で、胚性幹細胞(ES細胞)、成体幹細胞、iPS細胞などが挙げられる。
<b>間葉系幹細胞</b>	間葉(読み:カンヨウ)は3つの胚葉から派生した胚内の未分化の疎性結合組織の一種。間葉系幹細胞は骨芽細胞、脂肪細胞、筋細胞、軟骨細胞など、間葉系に属する細胞への分化能をもつとされる細胞で、骨や血管、心筋の再構築などの再生医療への応用が期待されている。

<b>機能的電気刺激 (FES)</b>	脊髄損傷や脳卒中などにより麻痺した手足の動作を補助・再建する技術。筋を活動させて関節を動かし、運動を発生させるので、筋力増加や廃用症候群の予防や末梢循環系の改善に有効とされる。
<b>嗅粘膜移植</b>	嗅粘膜は鼻の奥にある粘膜で、中枢神経系で唯一神経再生が認められる部位。神経幹細胞や嗅神経鞘細胞が含まれており、これを採取して脊髄の損傷部に移植し、脊髄機能の回復を促す治療法。
<b>嗅神経鞘細胞</b>	olfactory ensheathing glia(OEG)またはolfactory ensheathing cell (OEC)と呼ばれる。OEC は嗅球および嗅上皮に存在し、神経細胞の新生に際して軸索を嗅球へ誘導し神経投射(神経的なつながり)を促す働きがあると考えられている。大阪大学脳神経外科で2007年から2010年4月にかけて、OECの脊髄損傷部への移植術が4例実施され、うち2例で症状の部分的な改善が報告された。現在「先進医療」として実施されている。
<b>グリア細胞</b>	神経系を構成するニューロン以外の細胞の総称。主にアストロサイト、オリゴデンドロサイトおよびミクログリアの3種に分類される。
<b>グリア瘢痕</b>	中枢神経系の損傷周囲部に形成される高密度の瘢痕組織。軸索伸長を阻害するコンドロイチン硫酸プロテオグリカンを含み、軸索再生を妨げる物理的な障害にもなっている。
<b>血液脳関門</b>	中枢神経系の血管に備わる、血液と中枢神経系の組織液との間の物質交換を制限する機構。
<b>ケモカイン</b>	インターロイキン-8など特定の白血球に作用し、その物質の濃度勾配の方向に白血球を遊走させる活性(走化性)を持つサイトカインの総称。ケモカインは炎症部で大量に産生され、血管内から炎症組織内への白血球の遊走をもたらす。
<b>抗ノゴA抗体</b>	ノゴ(Nogo)は脊椎動物の中枢神経細胞に対して軸索伸長の阻害効果をもち、髄鞘に含まれる軸索損傷後の再生を阻害する分子。抗ノゴA抗体はノゴの軸索伸長阻害効果を中和し、軸索伸張を促進する。
<b>骨髄間質細胞</b>	骨髄の実質を構成する細胞群のこと。骨細胞、心筋細胞、脂肪細胞などに分化する能力を有する。2006年から急性期脊髄損傷に対する培養自家骨髄間質細胞移植の臨床試験が行われた。大阪・北野病院ではこの骨髄間質細胞中から単核球細胞を採取して同様の臨床試験が2012年から行われた。また、札幌医大では骨髄間質細胞中に存在する間葉系幹細胞を用いて亜急性期に対する臨床試験を2014年から実施している。
<b>コンドロイチン</b>	正式名称はコンドロイチン硫酸で、動物体内にみられるグリコサミノグリカンの一種。通常、コアタンパク質と呼ばれる核となるタンパク質に共有結合したプロテオグリカンとして存在する。
<b>コンドロイチン硫酸プロテオグリカン (CSPG)</b>	神経突起伸長阻害因子。コンドロイチン硫酸がタンパクと結合して作る糖タンパク複合体で、軟骨などの結合組織を構成する。脊髄損傷後の軸索の伸長および再生を抑制する。
<b>コンドロイチナーゼ分解酵素</b>	コンドロイチナーゼとも呼ばれる細菌由来の酵素。脊髄損傷後の軸索の伸長および再生を抑制するCSPGを分解する酵素。現在、アイオワ州立大学で受傷後6週間以上経過した脊損のイヌに対してコンドロイチナーゼを投与する臨床研究が行われている。
<b>再生医療実現拠点ネットワークプログラム</b>	科学技術振興機構(JST)が中心になり推進する研究プロジェクト。iPS細胞等を使った再生医療・創薬について、世界に先駆けて臨床応用するべく研究開発を加速するため、2013年から2022年までの10年間で1,100億円の公的支援が見込まれている。
<b>サイトカイン</b>	細胞から放出され、種々の細胞間情報伝達分子となる 微量生理活性タンパク質。
<b>細胞外マトリックス</b>	コラーゲンなど動物細胞の外側にある安定な物質で、細胞外基質ともいう。
<b>軸索</b>	ニューロンの構成要素で、神経細胞より発する長い突起。末端は分枝して、次のニューロンまたは効果器にシナプス結合し、神経細胞の興奮を伝導する。
<b>シグナル伝達タンパク質</b>	情報発信細胞から分泌された特定のシグナル分子を標的細胞が検出し、その信号を細胞内へ伝達させる為のタンパク質の総称。
<b>次世代シーケンサー</b>	(DNA)シーケンサーとは遺伝子を構成する4つの塩基(A、G、T、C)の配列(シーケンス)を解読する装置。次世代シーケンサーは近年の技術進歩や情報科学の発展によって開発された新型のDNAシーケンサーであり、1回の分析で数十億塩基の配列を解読することが可能である。
<b>シナプス結合</b>	シナプスは神経細胞の接合部。神経と神経、または神経と筋肉などの器官との連結部分にはシナプス間隙[読み:カンゲキ]というすき間があり、信号伝達物質を介して信号が伝えられる。
<b>シナプスネットワーク</b>	シナプスを介した神経ネットワーク。
<b>上皮間葉転換</b>	上皮細胞がその細胞極性や周囲細胞との細胞接着機能を失い、遊走、浸潤能を得ることで間葉系様の細胞へと変化する現象のこと。
<b>神経可塑性</b>	神経系は外界の刺激などによって常に機能的、構造的に変化しており、この性質を一般に“可塑性”と呼ぶ。
<b>神経系マーカー</b>	神経系細胞に特異的に発現するタンパク質。神経系幹細胞に発現するタンパク質であるnestin、musashi、NotchI受容体などを組み合わせることで神経系幹細胞を同定できる。特に細胞表面に発現するマーカー(表面マーカー)は、複数種類の細胞が混ざった集団からそのマーカータンパク質を発現する細胞のみを生きのまま選別し、純度を上げることができるため、重要である。

神経栄養因子	nerve growth factor (NGF)、brain-derived neurotrophic factor (BDNF)、neurotrophin-3 (NT-3) など。脊髄損傷においては、微小環境の変化に伴う内在性神経栄養因子の欠乏が損傷を助長していると考えられている。
神経幹/前駆細胞	neural stem/precursor cell (NS/PC) と呼ばれる。神経幹細胞は神経前駆細胞を経てニューロン、アストロサイトやオリゴデンドロサイトのような最終分化細胞へと分化する。
人工多能性幹細胞	→ iPS細胞
錐体路障害	脳の運動野から脊髄の運動ニューロンに至る伝導路の障害。運動神経線維(ニューロン)の遠心性経路で延髄の錐体を通る随意運動の指令を伝える経路のことを錐体路(読み: スイタイロ)という。脊髄損傷やHAM (HTLV-1関連脊髄症)による痙性対麻痺症など。
セマフォリン	神経細胞の軸索を伸ばす方向を決めるタンパク質。
線維芽細胞	皮膚の機能を保つ上で最も重要な細胞。損傷が加わると損傷部に遊走し、コラーゲンなどの細胞外マトリックスの産生を始める結合組織の固有細胞。
第I/IIa相臨床試験	第I相(フェーズI)は最初の段階の臨床試験で安全性を確認する。第II相(フェーズII)は安全性と有効性、薬物動態、投与法を確認するもので、早期試験(IIa)と後期試験(IIb)とに分けて探索的臨床試験、実証臨床試験を実施することもある。さらに第III相(フェーズIII)は実際の使用に近い形で評価検証し、OKとなれば臨床治療が可能となる。第IV相(フェーズIV)は市販後試験。
体性神経系	自律神経系とともに末梢神経系をなし、感覚神経と運動神経とがある。
ニューロン	神経細胞で、その機能は情報処理と情報伝達に特化している。細胞体とその突起(軸索)からなる。
ノルアドレナリン	副腎髄質や交感神経の末端から分泌される神経伝達物質。アドレナリンの前駆体であり、神経を興奮させ、意欲の向上、ストレスへの適応や心拍数・血圧の上昇などの作用がある。
胚性幹細胞	ES細胞(万能細胞)。動物の発生初期段階である胚盤胞期の胚の一部に属する内部細胞塊より作られる幹細胞株。ほぼすべての組織に分化する分化多能性を持ち、ほぼ無限に増殖させることができる。
反応性アストロサイト	アストロサイトは、組織障害においては反応性アストロサイトとして線維成分が増加し、やがてグリオシス(グリア瘢痕)を形成する。中枢神経の外傷などのさまざまな病態で、アストロサイトは、突起が伸長し、かつ細胞体が肥大した反応性アストロサイトとよばれる細胞へと変化する。
ヒアルロン酸	細胞外マトリックスの骨格分子。
皮質脊髄路	大脳皮質から脊髄にかけて走行する軸索(神経線維)の大きな束(伝導路)のこと。錐体路ともいう。
ヒラメ筋	ふくらはぎの付近に存在して大きな重力を受け止める抗重力筋。
封入体筋炎	炎症性ミオパチー(筋炎)の3つの主要なグループのひとつ。50歳以上においては最も頻度が高い。
プロテオグリカン	糖とタンパク質の複合体で、糖タンパク質の一種。もっとも重要な生体成分であり、体全体の組織中の細胞外マトリックスや細胞表面、関節軟骨の主成分としても存在している。
ヘルパーT細胞	T細胞はリンパ球の一種で、骨髄で前駆細胞が作られ胸腺で分化する免疫担当細胞の一種。ヘルパーT細胞は細胞膜表面にT細胞受容体とCD4分子を持ち、マクロファージ等の抗原提示細胞からこれら受容体を介して異物の情報を受け取り、貪食細胞の貪食能を上げ、B細胞の抗体産生を促す。
マーカー遺伝子	遺伝子組み換え生物の作成において組み換えに成功した生物のスクリーニングの目印に導入する遺伝子。
マクローム	均一な切片を作る標本作製器。
ミエリン化	神経細胞の軸索を包む円筒状の層(髄鞘[読み: ズイショウ]、ミエリン鞘)が形成されること。
ミエリン鞘	髄鞘ともいう。ニューロンの軸索の周りに存在する絶縁性のリン脂質の層。神経パルスの電導を高速にする。グリア細胞の一種で、末梢神経の髄鞘を形成するシュワン細胞と中枢神経系の髄鞘を形成するオリゴデンドロサイトからなっている。
ミエリン関連糖タンパク質(MAG)	神経突起伸張を阻害する多量のミエリンタンパク質で、髄鞘構成糖タンパク質ともいう。
ミエリン形成不全症	遺伝子変異などが原因で最初からミエリン(髄鞘)形成が不完全になるもので、白質ジストロフィーなど。
ランダム化二重盲検プラセボ対照比較試験	対象を無作為に選び、介入(薬・検査・看護など)を行うグループ(実験群)と介入を行わない群(対照群)に分け、評価を行う方法。プラセボ法は、医者と患者のどちらも薬効のある薬かわからないようにして、治験を進める方法。「二重盲検」とは、各被験者に割り付けられた治療を、被験者と治験実施医師だけでなく、治験依頼者や、治療や臨床評価に関与するスタッフも知らないことを意味する。
肋間神経移行術	腕を動かす末梢神経をつなぎ、肘関節の屈曲機能を再建する。

**本シンポジウムを御後援いただいた皆様**

**文部科学省**

**厚生労働省**

**日本医療研究開発機構**

**日本再生医療学会**

**日本脊髄障害医学会**

**日本難病・疾病団体協議会**

**難病のこども支援全国ネットワーク**

**全国脊髄損傷者連合会**

**全国頸髄損傷者連絡会**

**全国多発性硬化症友の会**

**日本ALS協会**

**日本筋ジストロフィー協会**

[順不同]

温かいご支援に感謝いたします。