

平成 21年 5月 11日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007-2008
 課題番号：19591715
 研究課題名（和文） cAMP の大脳皮質運動野への投与と NT-3 分泌骨髄間質細胞移植による
 脊髄損傷再生
 研究課題名（英文） cAMP administration on motor cortex with NT-3 secreted BMSC
 transplantation after spinal cord injury
 研究代表者
 氏名（ローマ字）：村田 淳（Atsushi Murata）
 所属機関・部局・職：千葉大学・医学部附属病院・准教授
 研究者番号：20344997

研究成果の概要：

脊髄損傷の臨床応用を考え、cAMP の濃度を保つことによるフォスホジエステラーゼ阻害薬のシロスタゾール投与による治療法を考えた。ラット脊髄損傷急性期、慢性期、予防的投与の 3 実験を行ったが、いずれも有意差が得られなかった。これは薬剤単独では脊髄損傷の治癒は困難であることを示唆した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医学薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学

キーワード：脊髄損傷、cAMP、BMSC、BBB score、シロスタゾール、phosphodiesterase III、CREB、大脳皮質

1. 研究開始当初の背景

脊髄損傷による治療の困難さは、損傷周辺部の炎症反応の波及による組織壊死と、その後起こる二次損傷としての Waller 変性を防止できないことによると考える。

これらを同時に解決する方法として組織壊死を細胞移植で、Waller 変性を薬剤により防止することを考えた。

また同時に軸索伸展を促進する方法を考慮した。当初は皮質脊髄路の細胞核のある大脳皮質運動野に cAMP を投入、軸索を伸展し、損傷部には骨髄間質細胞移植、Waller 変性部には cAMP を投入する計画とした。

当初より困難が予想されたが、大脳皮質への cAMP の注入はテクニカルな面で困難さを極めたためこれを中止した。骨髄間質細胞はこれが細胞ソースとして使われた当教室国府田の発表より、そのまま細胞ソースとして使用することの難しさを考え中止した。

2. 研究の目的

背景より、第一に既存のもので臨床応用可能な薬剤の投与を考慮した。cAMP は神経の保護、軸索の伸展に重要な役割を担う。

フォスホジエステラーゼ (PGE) 阻害薬は cAMP 濃度を上昇させ、細胞内の CREB

のリン酸化を介して軸索伸展、細胞保護作用を発揮する。

PGE 阻害薬であるローリプラムはシュワン細胞との移植と併用し、脊髄損傷治療に効果が報告されている(Pearce 2004)。

今回我々は細胞内の cAMP の維持、増加させる目的で PGE 阻害薬のシロスタゾールを使用しその効果を判定した。シロスタゾールは 20 年前に開発され脳出血後の血管れん縮を防止する目的で臨床治療に用いられている薬であり、安全性が確立されている。

脊髄損傷に一定の効果が得られれば、市販薬のため迅速に臨床応用に移行できるという利点がある。

今回我々はシロスタゾールを脊髄損傷後早期、慢性期、予防的投与の3つのタイムウィンドーを設定して3つの実験を行った。

3. 研究の方法

損傷後早期投与：ラット脊髄損傷後直後よりシロスタゾールを投与、7 日間は径管栄養にて強制投与を行い7週間はシロスタゾール入り餌を与えた。

術後8週間 BBB score にて下肢運動機能を評価、8 週時点で斜面台、フットプリント、ロータロッドを行った。

組織学的所見として白質残存面積、残存オリゴデンドロサイトのカウント、p-CREB 陽性細胞のカウントを行った。

慢性期投与：脊髄損傷後シロスタゾール入り餌を1か月後から灌流固定まで投与した。

BBB score, 斜面台を行った。出血傾向をみるために出血時間の計測を行った。

予防的投与：投与時期を損傷3日前とする。

1 週間径管栄養で強制投与を行い、以後はシロスタゾール入り餌を与えた。

下肢運動機能評価を BBB score を用いて行い、その後組織学的評価は空洞面積の計測を行った。

4. 研究成果

損傷後早期投与：脊髄損傷後8週時点での BBB score に有意差はなかった。

ロータロッド、フットプリントに有意差はなかった。

斜面台ではシロスタゾール群で有意に回復が悪かった。

組織学的所見では有意差が得られなかった。

慢性期投与：BBB score、斜面台に有意差はなかった。出血時間の計測においては有意差が得られなかった。

予防的投与：シロスタゾール投与は BBB

score を有意に悪化させた。

しかしながら組織学的所見では有意差が得られなかった。

このことよりシロスタゾール単独投与では脊髄損傷治療の効果が判定できず、むしろ予防的投与においては BBB score の回復を遅らせた。

以上より薬剤投与だけでは脊髄損傷治療は困難であり、細胞移植その他のコンビネーションを考えるべきと考えた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計8件)

1. Koda M, Okawa A (5th), Yamazaki M (10th). Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) mobilizes bone marrow-derived cells into injured spinal cord and promotes functional recovery after compression-induced spinal cord injury in mice. Brain Research、無、2007年 1149:223-31.

2. Masaki Y, Yamazaki M, Okawa A, Aramomi M, Hashimoto M, Koda M, Mochizuki M, Moriya H: An analysis of factors causing poor surgical outcome in patients with cervical myelopathy due to ossification of the posterior longitudinal ligament: anterior decompression with spinal fusion versus laminoplasty. J Spinal Disord Tech、2007年 20: 7-13.

3. Yamazaki M, Akazawa T, Okawa A, Koda M: Usefulness of three-dimensional full-scale modeling of surgery for a giant cell tumor of the cervical spine. Spinal Cord、2007年 45: 250-253.

4. Yamazaki M, Koshi T, Mannoji C, Okawa A, Koda M. Traumatic C6-7 sUBLuxation with anomalous course of vertebral arteries treated with pedicle screw/rod fixation. Case report. J Neurosurg Spine. 2007年、7(1):65-70.

5. Yamazaki M, Okawa A, Akazawa T, Koda M. Usefulness of 3-dimensional full-scale modeling for preoperative simulation of surgery in a patient with old unilateral cervical fracture-dislocation. Spine、2007年、32(18):E532-6.

6. Nishio Y, Koda M, Kamada T, Someya Y,

Kadota R, Mannoji C, Miyashita T, Okada S, Okawa A, Moriya H, Yamazaki M. Granulocyte colony-stimulating factor attenuates neuronal death and promotes functional recovery after spinal cord injury in mice. J Neuropathol Exp Neurol 2007 年、66(8):724-31.

7. Koda M, Kamada T, Hashimoto M, Murakami M, Shirasawa H, Sakao S, Ino H, Yoshinaga K, Koshizuka S, Moriya H, Yamazaki M. Adenovirus vector-mediated ex vivo gene transfer of brain-derived neurotrophic factor to bone marrow stromal cells promotes axonal regeneration after transplantation in completely transected adult rat spinal cord. Eur Spine J、2007 年、Sep 21; [Epub ahead of print]

[学会発表] (計 7 件)

1. 山崎正志、ラット脊髄損傷に対するシロスタゾール投与の有効性の検討、脊髄障害学会、2008 年 11 月 6 日、札幌

2. 古矢丈雄、橋本将行、国府田正雄、大河昭彦、山崎正志、松瀬大、ラット脊髄圧挫損傷モデルにおける bFGF 徐放ゼラチンハイドロゲル移植の検討、2008 年 11 月 6 日、札幌

3. 古矢丈雄、橋本将行、国府田正雄、村田淳、大河昭彦、山崎正志、高橋和久、ラット脊髄圧挫損傷モデルにおけるグリア前駆細胞由来アストロサイト移植の検討、2008 年 10 月 23 日、京都

4. 古矢丈雄、橋本将行、国府田正雄、村田淳、大河昭彦、山崎正志、出澤真理、松瀬大、田畑泰彦、高橋和久、ラット脊髄圧挫損傷モデルにおける bFGF 徐放ゼラチンハイドロゲル移植の検討、2008 年 10 月 23 日、京都

5. 萬納寺誓人、国府田正雄、出沢真理、大河昭彦、山崎正志、マウス脊髄圧挫損傷モデルにおけるヒト骨髄間質細胞由来神経幹細胞移植の検討、2007 年 10 月 25 日、浜松

6. 古矢丈雄、橋本将行、国府田正雄、山崎正志、山下俊英、守屋秀繁、ラット脊髄圧挫モデルにおける骨髄間質細胞移植と Rho キナーゼ阻害薬の併用による治療効果、2007 年 10 月 25 日、浜松

7. 川辺純子、国府田正雄、橋本将行、門田領、大河昭彦、山崎正志、ラット脊髄圧挫損傷モデルにおける顆粒球コロニー刺激因子

(Granulocyte Colony stimulating Factor: G-CSF) の血管系における効果、2007 年 10 月 25 日、浜松

[図書] (計 0 件)

該当なし

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

該当なし

○取得状況 (計 0 件)

該当なし

[その他]

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

村田 淳 (Atsushi Murata)

千葉大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号: 20344997

(2) 研究分担者

國吉 一樹 (Kazuki Kuniyoshi)

千葉大学・医学部附属病院・助教

研究者番号: 40375788

山崎 正志 (Masashi Yamazaki)
千葉大学・大学院医学研究院・准教授
研究者番号：50281712

大河 昭彦 (Akihiko Okawa)
千葉大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：30312945

(3) 連携研究者

該当なし